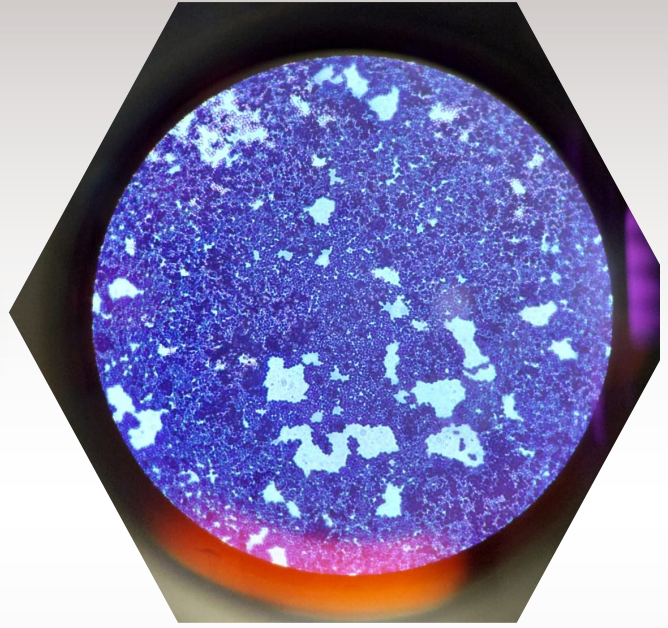


ISSN: 2448-7503

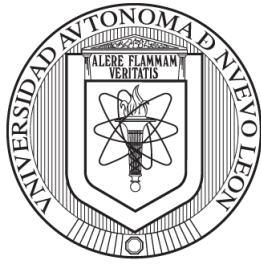
# Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos



**Vol.8 No.1**

**Publicado en junio de 2023**

**Publicación anual**



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN®

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

Dr. En Med. Santos Guzmán López  
**Rector**

Dr. Juan Paura García  
**Secretario General**

Dr. Jaime Arturo Castillo Elizondo  
**Secretaria Académica**

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

Lic. Antonio Ramos Revillas  
**Dirección de Editorial Universitaria**

Dr. José Ignacio González Rojas  
**Director 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. 8, junio 2023, es una publicación anual 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](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* en trámite.

ISSN 2448-7503.

Fecha de la última modificación, junio de 2023.

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

Queda Prohibida la reproducción total o parcial, en cualquier forma o medio, del contenido de la publicación sin previa autorización.



## ÍNDICE

Artículo	página
Producción de Harina de Camote y su uso en Pan de caja L. Vázquez-Chávez, C. Hernández-López	1-6
Detección de los alérgenos principales de la soya en diferentes matrices alimentarias S. Reyes-Farfán , M.R. Santellán-Olea, S. Luna-Suárez	7-15
Elaboración de un pan tipo Danés complementado con harina de amaranto E. Martínez-Manrique, S. N. Ramírez-Zárate , V. Jiménez –Vera	16-23
Características fisicoquímicas y sensoriales de productos extruidos y expandidos por microondas elaborados de maíz azul, espinacas y frijol negro D. Neder-Suárez, J.A. Vázquez Rodríguez , M.J. Rodríguez-Roque , L.R. Hernández-Ochoa, M.A. Sánchez-Madrigal, C.A. Amaya-Guerra , A. Quintero-Ramos	24-30
Elaboración de conchas con harina de trigo y chícharo O. X. López Méndez, M.C. Calvo Carrillo, F. Coronel Flores	31-37
Efecto del tratamiento térmico sobre las características tecno-funcionales de concentrados proteínicos de dos especies de frijol del género <i>Vigna</i> P. Mancera-Castro, L. González-Cruz, L.B. Hernández-Acevedo, G. Teniente-Martínez, J.M.S. Juárez-Goiz, A. Bernardino-Nicanor	38-46
Efecto de hidrocoloides en textura de masa de maíz-quínoa como propuesta para mejoramiento de calidad proteica N. Hernández-Hernández, J.G. Báez-González, K.G. García-Alanís, M. Bautista-Villarreal, R Durán-Lugo	47-52
Efecto del microencapsulamiento del aceite de nuez pecanera <i>Carya illinoensis</i> (Wangenh) C. Koch en alginato de calcio sobre algunos parámetros de calidad L. Reyes-Cano, N.del C. Reyes-Vázquez	53-61
Características Físicas y Sensoriales de Pastel elaborado con Margarina, Aceite y su mezcla L. Vázquez-Chávez , C. Hernández -López	62-67
Evaluación Física y Sensorial de Pastas hechas con mezclas de harinas de trigo y Huitlacoche ( <i>Ustilago maydis</i> ) L. Vázquez-Chávez, Z. Zarazúa-Sánchez	68-72

Optimización de métodos de extracción de R-Ficoeritrina a partir de <i>Porphyridium cruentum</i> E. Garza-Valverde, S.A. Cortez-Guardiola, M.F. Guzmán-Rodríguez, J.A. Vidales-Contreras, C. García-Gómez	73-83
Extracción de ficocianina para uso como colorante natural: optimización por metodología de superficie de respuesta Y.A. Ruiz-Hernández, E. Garza-Valverde, J.R. Márquez-Reyes, C. García-Gómez	84-91
Comparación de la recuperación de células de <i>Salmonella</i> adheridas al tomate Roma con el uso de ultrasonido y vortex G. Ocampo-Mariscal, R. García-Frutos, A.L. Rojas-Banda, L. Martínez-Chávez, N.E. Martínez-González	100-106
Actividad antimicrobiana de extractos oleosos de <i>Flaveria trinervia</i> (Spreng.) C. Mohr N.E. Maldonado-Sierra, L. González-Cruz, E.A. Vargas-León, H. Cortes-López, A. Bernardino-Nicanor	107-112
Identificación molecular de <i>Contraecaecum rudolphii</i> (Nematoda: Anisakidae) en peces de importancia comercial de tres localidades en Nuevo León, México A.C. González-Morales, Z.J. Molina-Garza, L. Galaviz-Silva, A.K. Olvera-Leal, J.A. Delgado-Garduño	113-121
Intensidad de helmintos parásitos de <i>Astyanax mexicanus</i> (DE FILIPPI, 1853) colectados en la presa Rodrigo Gómez, Santiago, Nuevo León A.K. Leal-Olvera, L. Galaviz-Silva, Z.J. Molina-Garza, A.C. González-Morales González-Morales, J. A. Delgado-Garduño	122-131
Efecto del aceite esencial de orégano y sus fracciones concentradas en el crecimiento de <i>Aspergillus brasiliensis</i> (niger) A.G. Cazares-Rodríguez, J. Rodríguez-Rodríguez, E. Sánchez-García, J. De Lara-Novella, K. García-Alanís, C. Leos-Rivas, S. Castillo-Hernández	132-139
Desarrollo de un recubrimiento comestible a base de quinoa y quitosano reforzado con aceites esenciales de hierba limón y canela encapsulados en partículas de sílice mesoporosa	140-150

P.I. Bautista-Espinoza, P. Di Pierro, S.L. Amaya-Llano, E. Mares-Mares, B.E. García-Almendarez, G. De la Cruz-Velázquez, C. Regalado-González	151-156
Estabilidad térmica de las bacterias ácido-lácticas bajo la influencia de un emulsificante a base de monoacilglicerolos L. Huerta-González, F. López-Valdez, S. Luna-Suárez	158-169
Evaluación en campo del baculovirus PxNPV y sinergismo con cepas de <i>Bacillus thuringiensis</i> hacia larvas de <i>Plutella xylostella</i> en cultivos de <i>Brassica oleracea</i> V.M. Carrasco-Baeza, L. Pérez-Moreno, C. García-Munguía, J. Ibarra-Rendón, M.C. Del Rincón-Castro	170-179
Obtención y caracterización de un hidrolizado de proteína de <i>Vigna radiata</i> L. (frijol mungo) con potencial Bioestimulante F.C. Arámbula-Castillo, M. Zegbe-Rodríguez, C. Rivas-Morales, D.G. García-Hernández, E.D. Cabello-Ruiz	180-188
Caracterización química de un fermentado a base de moringa y sábila E.C. Morales-González, J.P. Hernández-Rodríguez, G. Méndez-Zamora, C. García-Gómez, J.M. Márquez-Reyes	189-195
Evaluación de microbiota de las costas de Sonora y Baja California contra cepas patógenas de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> y <i>Vibrio harveyi</i> , agentes causales de la necrosis hepatopancreática en camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) K.A. Soto-Marfileñ, L. Galaviz-Silva, Z.J. Molina-Garza	201-207
Caracterización fisicoquímica, polifenoles totales y capacidad antioxidante en tres variedades de guayaba de la región de Santiago el Chique, Zacatecas A. Ávila-Palma, C.S. Contreras-Martínez, R. Gutiérrez-Hernández, L.G. Ramos-Muñoz, J.M. García-González, J. Carranza-Téllez, J. Carranza-Concha	208-213
El fruto de <i>Opuntia oligacantha</i> var. Ulapa, fuente potencial de fitoquímicos C.U. López-Palestina, Y.O. Santiago-Saenz, J. Gutiérrez-Tlahque, A.D. Hernández-Fuentes, J.M. Alatorre-Cruz, J.M. Pinedo-Espinoza	214-221
Obtención experimental y análisis del subenfriamiento en la cinética de congelación del nopal ( <i>Opuntia</i> spp) R. Román-Aguilar, J. De Santiago-Herrera, W.M. Delgadillo-Ávila, J.E. Aparicio-Burgos, J. Valle-Hernández	



Evaluación fisicoquímica de harina de col morada ( <i>Brassica oleracea</i> var. capitata f. rubra) para usos alternos J.A. Vázquez-García, J. Piloni-Martini, A. Quintero-Lira, S. Soto-Simental, J. Ocampo-López	222-229
Variación de parámetros fisicoquímicos del jugo de manzana en una vida de anaquel de tres meses S.G. García-Espitia, K.K. García-Aguirre, H. Inchaurregui-Méndez, P.S. Alcalá-González	230-237
Efecto del aceite esencial de orégano sobre el fruto de aguacate <i>Persea americana</i> J. Martínez-Rojas, S.R. Sinagawa-García, P. Preciado-González, J.C. López-Puga, D.S. Rico-Costilla, A.I. Luna-Maldonado, J.R. Kawas, G. Méndez-Zamora	238-248
Carotenoides en ate de vegetales M.C. Calvo-Carrillo, F. Coronel, O.X. López	249-256
Aplicaciones de ozono como tecnología postcosecha en fresa ( <i>Fragaria x ananassa</i> Duch.): impacto en la calidad microbiológica del fruto C.M. Tinajero-Castro, E.P. Trejo-Nava, C.G.M. Barajas-Díaz, C. Ozuna	257-265
Obtención de un sazónador de xoconostle ( <i>Opuntia joconostle</i> ) con inclusión de su cáscara A.S. Ramírez-Contreras, V.L. Negrete-Villafaña, A. López-Zepeda, E. Mares-Mares, M.E. Sosa-Morales, M.R. Abraham-Juárez	266-272
Obtención de tacos de adobo a base de zanahoria ( <i>Daucus carota</i> ) J.A. Caudillo-Corona, C.S. Chávez-Gaytán, C.P. Núñez, C. Ortiz-Canchola, E. Díaz-Cervantes, M.R. Abraham-Juárez	273-280
Efecto del tratamiento de extracción en las características de fucoidan de <i>Sargassum sinicola</i> del Golfo de California G. Vargas González, P. A. Ibarra González, G. Sandoval Larios, A.M Guzmán Partida, Montfort G. Ramos Clamont	281-289
Potencial nutricio y capacidad antioxidante de harinas de <i>Ceratonia siliqua</i> cultivada en Coahuila L. Carrillo-Vargas, V. Caraveo Enríquez, Z. Galván Calamaco, G Vargas González, A. Ramírez Moreno, A.M. Guzmán Partida, G. Ramos Clamont Montfort	290-297

Revisión sobre las características biológicas y estructurales de fucoidan y la posibilidad de extraerlo a partir de <i>Sargassum sinicola</i> Ailin Robles López Cuéllar, Gabriela Ramos Clamont Montfort	298-308
Potencial nutricional y bioactivo de frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) en la salud humana María Stephanie Cid-Gallegos, Yolanda de las Mercedes Gómez y Gómez, Luis Jorge Corzo-Ríos Corzo-Ríos, Xariss M. Sanchez-Chino, Deyanira Moguel-Concha, Eduardo Borges-Martínez, Cristian Jiménez-Martínez	309-318
Obtención y evaluación de propiedades antioxidantes de extractos de orégano ( <i>Lippia graveolens</i> ), eucalipto ( <i>Eucalyptus cinerea</i> ) y chile jalapeño ( <i>Capsicum annum cv.</i> ) G. Villagomez Zaldivar, L. González Victoriano, J. Chanona Pérez, B. Ferrer González, M. Gutiérrez Martínez	319-325
Efecto de tratamientos domésticos de cocción sobre la capacidad antioxidante de quintonil ( <i>Amaranthus hybridus</i> ), un cultivo poco valorado N. Campos-González , M.A Sosa-Morales , L.X. Lopez-Martínez	326-330
Análisis de compresión uniaxial para diferentes formulaciones lácteas sólidas A.R. Rodríguez-Damián Rodríguez-Damián, J.E. Botello-Álvarez, R. Miranda-López, A. Guzmán-López, M.G. Bravo-Sánchez Bravo-Sánchez	331-338
Aprovechamiento de suero de leche para producción de celulosa microbiana M. Salazar-Manzanares, J. Márquez-Reyes, B. Rodríguez-Romero, G. Méndez-Zamora, A. Luna-Maldonado , M. Treviño-Garza	339-348
Evaluación de la absorción de humedad de leche en polvo envasada en diferentes materiales y almacenada a diferentes condiciones de humedad relativa S.C. Soto-Flores, L.F. Amador-López, J.J. Martínez-García, M.G. Candelas-Cadillo, J.R. Minjares-Fuentes	349-355
Caracterización proximal, microbiológica y sensorial de diversos tipos de quesos tipo Chihuahua, elaborados en la Zona Norte de Zacatecas J. Morales-Cruz, F.J. Cruz-Guillen , M.A. González-Arellano, V.M. Esparza-García	356-362
Caracterización fisicoquímica y sensorial del pulque producido en la zona sur del estado de Guanajuato	363-368

E. Flores-Rodríguez , R. Miranda-López

Adaptación de la metodología sensorial, a causa de la COVID-19, para el desarrollo de una galleta rellena 369-378

L.I. Sánchez - Albarrán, S.G. Romo-Calderón, V.D. Barrera-García, M.C. Calvo-Carrillo

Pan gourmet a base de harina de trigo, linaza y chapulín (*Sphenarium purpurascens*) como alimento funcional 379-386

P.F Gomez- Galicia, I. Parola-Contreras, Juan Gabriel Báez- González, R. Durán-Lugo

Comparación sensorial de una bebida fermentada de Maíz (Tejuino) y una bebida fermentada de sorgo rojo 387-391

M. de L. Cuevas-Guevara, H. Mendoza-Gamiño, F.J. Espitia-Orozco , I.N. Ramos-Del Villar

Análisis Sensorial del Desarrollo una Nieve de Tamarindo con Mermelada de Chile Morrón y Habanero 392-399

S.L. Juárez-Valtierra, D. Campos-Arroyo, S. Estrada-García, L.A. Garibay-Rodríguez, S. González-Flores, P.A. Padilla-Vega, M. Rodríguez-Vázquez, S.C. Sombredero-Niño

Uso de extracto acuoso de buganvilia (*Bougainvillea spectabilis*) en la elaboración de jamón de carne de conejo 400-407

E. Jiménez Vázquez, S. Soto Simental, R. González Tenorio, M. Ayala Martínez

Efecto del aceite de orégano en la carne de bovino 408-417

H. Reynoso-Escobedo, A. I. Luna-Maldonado, N.E. García-Treviño, S.R. Sinagawa-García, D.S. Rico-Costilla, E. Flores-Girón, G. Méndez-Zamora

Efecto de hidrolato de *Cosmos bipinnatus* sobre características de textura, color y actividad de agua de chorizo de conejo 418-423

F.S. García Gutiérrez, S. Soto Simental, R. González Tenorio, M. Ayala Martínez

Evaluación de la estabilidad lipídica en hamburguesas de pollo adicionadas con extractos de guayaba (*Psidium guajava* L.) como antioxidantes 424-434

C.H. Herrera Méndez, A. Miranda Roque, A.D. Trujillo Santoyo, G. Arroyo Figueroa, J.G. Dzul Cauich, T. Medina Saavedra

Desarrollo de una bebida aromática funcional a partir de polvos de mentol y luteolina obtenidos mediante Spray-Drying 435-444



L. S. Mora Flórez, D. Cabrera Rodríguez, M. Hernández Carrión

Desarrollo de snacks a base de fruta, fortificados con calcio mediante impregnación a vacío 445-452

C.O. Morales, J.C. Sánchez, M. Hernández-Carrión

Desarrollo de encapsulados de aceite de semilla de *Sacha Inchi* para la formulación de alimentos funcionales 453-463

J.A. Meneses-Gelves, D.F. Mendoza-Gamboa, A. Rodríguez-Cortina, M. Hernández-Carrión

Análisis de la estabilidad fisicoquímica de una bebida de cacahuete con jengibre 464-470

D. Díaz-Cruz, D.M. Hernández-Martínez, T. Gallardo-Velázquez

Elaboración de una bebida de nuez de macadamia 471-476

J.L. Serrano Zavala, D.M. Hernández-Martínez, G. Osorio-Revilla

Uso de goma guar para el desarrollo de un bizcocho para personas con sensibilidad al gluten 477-484

M. Palacios del Río Palacios del Río, F. Coronel Flores, O.X. López-Méndez, M.C. Calvo – Carrillo

Caracterización proximal, sensorial y microbiológica de un chorizo elaborado en el Instituto Tecnológico Superior Zacatecas Norte y un Chorizo comercial, para su comparación 485-490

J. Morales Cruz, M.A. González Arellano, F.J. Cruz Guillen, V.M. Esparza García , E. Santos Agüero

Potencial del nopal (*Opuntia ficus-indica*) para su incursión en la industria de la confitería: Una breve revisión 491-500

A. Ponce-Luna, E. Pérez-Escalante, L. García-Curiel, A. A. Hernández-Hernández, E. Contreras-López, J. G. Pérez-Flores

Análisis de mercado y sensorial de pasta con harina de amaranto fortificada con suero de leche 501-508

Andrea Natasha Mata Ramírez , Fernanda Nayeli Balandrán Guardado, Dulce Liliana Juárez Magno, Blanca Patricia Lozano Pedraza, Sabdy Arely Martínez Solís , Elianne Paola Trejo Nava , María Elena Sosa Morales

Desarrollo de nuggets de pollo con camote 509-518

J.F. Muñoz-Roa, E.G. Cabrera-Álvarez, V. García-Vázquez, J.L. Guerrero-González, J.E. Manríquez-Martínez, C. Ortiz-Canchola , M.E. Sosa-Morales

Concentrado de proteína vegetal en polvo saborizado con cacao natural y Stevia: Un suplemento apto para veganos C. M. Tinajero-Castro, M. E. Sosa-Morales	519-525
Desarrollo de un bioproceso: kéfir vegano de arroz-avena con propiedades antioxidantes A. García-Hernández, G. Hernández-Guzmán, J.E. Barboza-Corona, G. Rodríguez-Hernández	526-531
Desarrollo de un yogurt de kiwi con posible potencial nutrínune empleando un diseño de superficie de respuesta y evaluación sensorial A. A. Muñoz-Muñoz, Ma. Del R Abraham-Juárez, M. A. Rocha-Mendoza, E. Mares-Mares	532-539
Elaboración de un dulce a base de leche deslactosada tipo cajeta y aditivos alimentarios K. I. Martínez-González, F.R. Ramos-Vargas, C.A. Campos-Álvarez, R.L. Mendoza-Ramos, E. Mares-Mares	540-546
Evaluación sensorial de salsa de xoconostle, un producto endémico del Noreste de Guanajuato C. Flores Pérez, D.L. Hernández Méndez, G. del C. Martínez Salgado, V.C. Padrón Vázquez, M.E. Sosa Morales	547-551
Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de Nuggets de conejo usando harina de Okara de garbanzo D. Carbajal-Padilla, L.P. Escobar-Escobar, G. Fernández-Villanueva, D.A. Ochoa-Montes, M.E. Sosa-Morales, J.A. Gómez-Salazar	552-558
Evaluación sensorial de una bebida de orégano adicionada con glutamina S.O. Téllez-Girón, L.A. García Mendoza, Y. Hernández Miranda, E. L. Rodríguez Castillo, M.E. Sosa Morales	559-563
Métodos para evaluar la biodisponibilidad, la bioaccesibilidad y el valor nutricional de suplementos alimenticios S.A. Hernández-Esquivel, I. Martínez-Arellano, M.S. Córdova-Aguilar	564-571
Mejoramiento de propiedades nutricionales, fisicoquímicas y estructurales de un pan sin gluten adicionado con microalga a base de pre-fermento M.F. Guzmán-Rodríguez, S.A. Cortez-Guardiola, E. Garza-Valverde, M.C.J. García, C. García-Gómez	572-579
Análisis fitoquímico y evaluación antidiabética de los palmitos de <i>Chamaedorea tepejilote</i>	580-587

S. Fernández-Avalos, A. Bernardino-Nicanor, G. Teniente-Martínez, M.S. Juárez-Goiz, L. González-Cruz	
Obtención de fermentados de chía con actividad antihipertensiva H. Atonal-Sánchez, S. Luna-Suárez	588-593
Evaluación de metabolitos de interés en barra de chocolate ( <i>Theobroma cacao</i> ) adicionada con jengibre Y.I.S. López-Haro, R. Cruz-Muñoz, T.J. Ariza-Ortega, N.R. Román-Cortés	600-607
Obtención de aislados e hidrolizados proteicos de grillo ( <i>Acheta domestica</i> ) y evaluación de su actividad antioxidante M.L. Sosa-Flores, D.G. García-Hernández, C.A. Amaya-Guerra, M. Bautista-Villarreal, A.R. González-Luna	608-618
Obtención de aislados e hidrolizados proteicos de Teff ( <i>Eragrostis tef</i> (Zuccagni) Trotter) y evaluación de su actividad antioxidante V.G. Ruiz-Camacho, C.A. Amaya-Guerra, M. Bautista-Villarreal, A.R. González-Luna	619-628
Componentes funcionales aplicados a bebidas C.K. Ruiz-Mata, J.G. Báez-González, E. García-Márquez	636-642
Determinación de actividad antioxidante en alimentos funcionales E.L. Dorantes-Salazar, J.G. Báez-González, É. Gastelúm-Martínez, J.L. Morales-Landa, E. García-Marquez	643-649
Cambios estructurales de las lipoproteínas de la pacaya por el efecto de diferentes tratamientos térmicos I. Simental-Astudillo, L. González-Cruz, J.A. Hernández-Hernández, G. Teniente-Martínez, A. Bernardino-Nicanor	650-656
Elaboración de una microencapsulación por gelación iónica a base de Kale ( <i>Brassica oleracea</i> var. <i>Sabellica</i> ) M. Villanueva-Castañeda, A.I Barrera-Molina, M. Antúnez-Mojica, S.E. García-Solís	657-666
Aplicación de un Diseño de Experimentos Box-Behnken para la determinación de las condiciones de extracción de compuestos antioxidantes de <i>Decatropis bicolor</i> E. Contreras, T. Hernández, J. Jaimez, J.G. Pérez, J.F. Gutiérrez, J. Ramírez	667-675
Extracción de pectina a partir de bagazo de manzana y su análisis L. Vázquez-Chávez, Z. Zarazúa-Sánchez	680-685



Desarrollo de un producto de panificación con harinas de leguminosas y cereales complementado con trüb	686-696
P.J. Hernández Pérez, A. Reyo Herrera, M.S. Córdova Aguilar	
Formulación de un producto lácteo a partir de pitahaya amarilla y sus subproductos	697-707
M.P. Díaz-Trujillo, D.S. Villa-Fonseca, O. Álvarez-Solano, I. Hernando Hernando, V. Larrea, M. Hernández-Carrión	
Estudio de la composición química de semillas de Apote negro	708-713
F.A. Palacios-Pérez, S. Luna-Suárez	
Obtención de fibra soluble a partir de desechos agroindustriales y su aplicación en alimentos	724-731
R.C. Martínez-Yañez, M.E. Rodríguez-Huezo	
Estabilización de antocianinas extraídas de jugo de granada usando arabinosilanos extraídos de un subproducto de la industria cervecera	732-740
Y. Jaguey-Hernández, A. Castañeda-Ovando, E.P. Castañeda-Ovando, C. Tapia-Ignacio, E. Contreras-López, L.G. Gonzalez-Olivares	
Obtención y caracterización de polvos de flor de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L) gastada	741-749
K.F. Romo-Zamarrón, X.C. García-Muñoz, G. Ávila-Ruvalcaba, L.E. Pérez-Cabrera, R.E. Ramírez-Carrillo	
Efecto de los pretratamientos físico, químico y biológico, en la hidrólisis enzimática de la cáscara de piña ( <i>Ananas comosus</i> )	750-758
M.R. González-González, R. Miranda-López, J.E. Botello-Alvarez	
Evaluación de las propiedades tecno-funcionales del almidón de camote ( <i>Ipomoea batatas</i> )	759-767
N.S. Muñiz-Acuña, J.G. Báez-González, S.L. Castillo-Hernández, E. García-Márquez, M. Bautista-Villarreal	
Caracterización bioquímica de lipasas presentes en vísceras del mero rojo ( <i>Epinephelus morio</i> )	768-773
J.C. Arceo-Cabrera, S.M. Gallegos-Tintoré, M.N. Sánchez-González	
Extracción de arabinosilanos de subproductos agroindustriales adaptada a la estrategia universal de recuperación de compuestos bioactivos	774-784
N. Rodríguez-Viveros, R. Paz-Samaniego, A.A. Hernández-Hernández, L. García-Curiel, E. Pérez-Escalante, E. Contreras-López, J.G. Pérez-Flores	

- Extracción de compuestos bioactivos a partir de los subproductos de la tuna (*Opuntia ficus-indica* spp.): Tendencias y aplicaciones recientes en alimentos 785-794  
C.Y. Lazcano-Hernández, A.A. Hernández-Hernández, L. García-Curiel, E. Pérez-Escalante, E. Contreras-López, J.G. Pérez-Flores
- Caracterización de vinazas de la industria tequilera para su uso como medios nutritivos económicos en fermentaciones con bacterias lácticas 795-801  
L.M. Martínez-Castillo, M.G. Bustos-Vázquez, D. Trujillo-Ramírez, G.C. Rodríguez Castillejos, O. Castillo-Ruiz
- Empaque bioplástico para alimentos con propiedades antifúngicas elaborado a partir de residuos agroindustriales 802-807  
D.I. Sandoval-Cárdenas, D.E. Camarillo-Gómez, A. Amaro-Reyes, M.T. García-Gasca, R. Campos-Vega, C. Regalado-González
- Propiedades tecnofuncionales de la cáscara de tuna cardona (*Opuntia streptacantha*) y su aplicación en un chorizo mexicano 808-815  
J.G. Acosta-Morales, A.J. Sánchez- Hernández, J.J. Martínez-García, M.A. Sáenz Esqueda, M.G. Candelas-Cadillo, J.R. Minjares-Fuentes
- Evaluación de la actividad antioxidante de compuestos fenólicos extraídos con microondas de residuos de cáscara de nuez pecanera 816-824  
K. Cortés-Marín, O. Gaspar-Ramírez, E. Salas-Espinoza, N. Reyes-Vázquez
- Diseño de pretratamientos antioxidantes para el secado de cascara de plátano con infrarrojo y aire caliente 825-833  
Y. Gutiérrez-Aguirre, C. Ozuna-López, Ma. Del R. Abraham-Juárez, M.G.L. Acosta-Castillo, M.A. Rocha-Mendoza, E. Mares-Mares
- Optimización para la extracción de ficocianina de la *cianobacteria Spirulina maxima* 834-840  
Carlos Sada-Borrego , Celestino García-Gómez, Claudio Guajardo-Barbosa , Julia Márquez-Reyes, Juan Nápoles-Armenta, Julio Beltrán-Rocha
- Análisis del perfil de aminoácidos de mieles de México por CLAR/F como estrategia para la determinación del origen geográfico 841-850  
Samantha Armijo Martínez, David Paniagua Vega, Juan Ricard Lucio Gutiérrez , Alma L. Saucedo Yáñez, Noemí Waksman de Torres , Norma Cavazos Rocha
- Revisión sobre el orégano mexicano *Lippia graveolens* HBK. (Sinonimia *Lippia berlandieri* Schauer) y su aceite esencial 861-871

Zuleyma Galván Calamaco, Gabriela Ramos Clamont Montfort, Jolanta E. Marszalek , Gabriela Vargas González

Desarrollo de un método de extracción por la técnica de MEPS para polifenoles en miel 872-881

Paola Cobos Cervantes, Samantha Armijo Martínez , Norma Cavazos Rocha , David Paniagua Vega , Omar J. Portillo Castillo

Aplicación de Ultrasonido en el Desarrollo de Nanoemulsiones de Alginato de Sodio. Efecto en el tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial-Z 882-888

A. A. Pérez-Alba, D. Carrillo-Ortiz , M. A. Sáenz -Esqueda, K. A. Becerra-Becerra , R. Minjares-Fuentes

Estudio de los atributos fisicoquímicos de calidad que influyen en la vida útil de muffins de vainilla 889-898

D. K Gálvez-Toledo , E. Contreras-López, J. Jaimez-Ordaz, L. G. González-Olivares , J. G. Pérez-Flores

Implementación de un diseño de Layout para planta de tortillas de harina de trigo 899-903

José Emilio Pérez-Quemada, Magdalena Diaz-Cruz, Isela Contreras-Hernandez, Brenda Ruiz- Lopez, Mariela Casas-Aguilar, María Elena Sosa-Morales

Estudio computacional de la capacidad antioxidante de tuna (*Opuntia Streptacantha*) 904-908

Diana Hernández-Méndez, Lucero Fuentes-Ocampo, Erik Diaz-Cervantes

Evaluación de la toxicidad de pigmentos de *Helianthus annuus* y *Comarostaphylis polifolia*: una perspectiva al etiquetado de alimentos 909-914

Magdalena Díaz-Cruz, Jorge Emmanuel Mejía-Benavides, Carlos J. Cortés-García, Erik Díaz-Cervantes

Evaluación in silico de la interacción de fitoquímicos de la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) con un blanco involucrado en estrés oxidativo 915-919

María de los Ángeles Pérez-Sánchez , García-Revilla Marco Antonio , Erik Diaz-Cervantes

Evaluación de los compuestos bioactivos del aceite de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) como conservador alternativo 920-925

Isela Contreras-Hernández, Marco A. Castillo-Campohermoso, Erik Díaz-Cervantes



- Nanomateriales transportadores de capsinoides como alternativa para inhibir *Fusarium oxysporum* 926-932  
Verónica Padrón-Vázquez, Vicente González-Rodríguez, Ana Isabel Mireles-Arriaga, Jorge Emmanuel Mejía-Benavides, Erik Díaz-Cervantes
- Análisis de compuestos fluorescentes como perspectiva en cuantificación de albúmina 933-937  
Brenda Ruiz- Lopez, Daniel Jauregui-Vazquez, Ma. del Rosario Abraham-Juárez, Erik Díaz-Cervantes
- Elaboración de galleta con prebióticos rellena con mermelada ligera de higo (*Ficus carica*). Evaluación del efecto en personas con estreñimiento 938-956  
I. Santiago-Jerez, N.P. Alvarado-Villamizar, C.J. Mora, Z. Ostojich-Cuevas, I. Arraiz-Budovalchew , S.M. Zerpa
- Actividad citotóxica, antioxidante y antihemolítica del extracto metanólico de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf 957-964  
Ramiro Quintanilla-Licea , Nancy Edith Rodríguez-Garza, Ángel David Torres-Hernández, María Julia Verde-Star , Joel Horacio Elizondo-Luévano

## Producción de Harina de Camote y su uso en Pan de caja

L Vázquez-Chávez y C. Hernández-López\*

División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento Biotecnología, Área Alimentos Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. Av. Michoacán y La Purísima Col. Vicentina Ciudad de México [lvch@xanum.uam.mx](mailto:lvch@xanum.uam.mx)

### RESUMEN

Se determinaron las propiedades químicas de camote fresco amarillo (*Ipomoea batatas* L.). Los tubérculos de camote fueron seleccionados, lavados, pelados, rebanados, blanqueados, escurridos, secados y molidos para obtener harina. La harina de camote presentó menos cantidad de proteínas, que la harina de trigo, aunque es rico en contenido de fibra dietética carbohidratos y  $\beta$  carotenos, siendo buena combinación para el pan. La harina de trigo se mezcló con harina de camote; 100:0, 90:10, 85:15, 80:20. Se hicieron evaluaciones de las diferentes mezclas de harinas trigo–camote y de los panes obtenidos con las diferentes mezclas y se realizó la evaluación sensorial. El análisis sensorial incluyó textura, color, sabor, gusto y aceptabilidad general. El tratamiento preferido por los panelistas fue el tratamiento con hasta 15% de harina de camote. Los resultados revelaron que a medida que se añadió más harina de camote a la harina de trigo, hubo cambios significativos en las propiedades funcionales.

**Palabras clave:** Harina de camote; camote; análisis; evaluación sensorial

### ABSTRACT

The chemical properties of fresh yellow sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) were determined. The sweet potato tubers were selected washed, peeled, sliced, blanched, drained, dried and ground to obtain flour. Sweet potato flour presented less amount of protein than wheat flour, although it is rich in dietary fiber content, carbohydrates and  $\beta$  carotenes, being a good combination for bread. The wheat flour was mixed with sweet potato flour; 100:0, 90:10, 85:15, 80:20. Evaluations were made of the different mixtures of wheat-sweet potato flours and of the breads obtained with the different mixtures and the sensory evaluation was carried out. Sensory analysis included texture, color, flavor, taste, and general acceptability. The panelists preferred treatment was treatment with up to 15% sweet potato flour. The results revealed that as more sweet potato flour was added to the wheat flour, there were significant changes in functional properties.

**Keywords:** Sweet potato flour; sweet potato; analysis; sensory evaluation

## INTRODUCCIÓN

Los tubérculos de los camotes (*Ipomoea batatas Lam*) se caracterizan por tener un alto contenido de humedad y ser metabólicamente activos después de la cosecha con pérdidas poscosecha que alcanzan hasta un 30 % (20). El camote es una verdura altamente nutritiva puede servir como fuente de energía, de fibra dietética, potasio, hierro,  $\beta$ -caroteno, tiamina, vitamina C y en menor proporción proteínas, siendo bajo en grasa y colesterol. El contenido de carbohidratos varía del 25% al 30%, y el resto está compuesto de agua (58% -72%). Los tubérculos de camote son voluminosos difíciles de almacenar y perecederos. El camote se puede procesar en harina, que es menos voluminosa y más estable que la raíz fresca. Los camotes se pueden cortar, secar y moler para producir harina que permanece en buen estado durante más tiempo. El camote deshidratado se podría usar para reemplazar parcialmente la harina de trigo en productos horneados como, panes.

El objetivo del presente estudio fue reemplazar la harina de trigo en panes con harina de camote para aumentar la fibra y  $\beta$  carotenos y evaluar la aceptabilidad y preferencia de panes preparados con harina de camote (*Ipomoea batatas L.*).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los tubérculos de camote (*Ipomoea batatas Lam*), anaranjado, se compraron en el mercado local. El camote se clasificó se eliminaron los tubérculos dañados se lavó con agua se quitó tierra, con un pelador manual se eliminó la piel. Las muestras peladas se cortaron manualmente en rodajas finas y se blanquearon en agua con bisulfito de sodio ( $\text{NaHSO}_3$ ) 0.5% durante 20 minutos para prevenir el oscurecimiento enzimático. Las rodajas se escurrieron, se colocaron en una sola capa en unas bandejas y se deshidrataron a 70°C por 8 h hasta alcanzar entre 8-5% de humedad. Las rodajas secas de camote se molieron en un molino. La harina obtenida se envasó y se almacenó. El camote fresco y la harina obtenida fueron analizados en su composición química según métodos descritos por (AOAC, 2005). Al camote se le determinó porcentaje de sólidos totales = 100 – porcentaje de humedad de la parte comestible.

El contenido total de caroteno se determinó pesando harina de camote deshidratada (0.5 g) haciendo una extracción con una mezcla de hexano y acetona (7: 3, 25 ml) los extractos se filtraron en un embudo Buchner con papel filtro Whatman No1. El residuo se volvió a extraer hasta que se volvió incoloro. Los filtrados se combinaron en un embudo separación y se lavaron con 50 ml de agua destilada. La fase de agua se descartó y se añadió una pizca de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  como desecante. La fase del hexano acetona se transfirió a un matraz volumétrico. La concentración de caroteno en la solución se determinó a partir de la absorbancia a 450 nm (UV-1201, Shimadzu, Kyoto, Japón). El contenido de  $\beta$ -caroteno se determinó a partir de la curva estándar.

Se realizaron mezclas de harina trigo: harina de camote: A= 100% harina trigo, B= 90% harina trigo 10%, harina camote C= 85% harina trigo 15% harina camote, D= 80% harina trigo 20% harina camote, F= 100% harina camote. A las mezclas de harinas se les evaluó; humedad, pH, con potenciómetro, método de la AOAC (2005).

Capacidad de absorción de agua: se añadieron 15 ml de agua destilada a 1 g de harina en un tubo de centrifuga pesado de 25 ml. El tubo se agitó en un mezclador de vértice durante 2 minutos. Se centrifugó a 4000 rpm durante 20 min. El sobrenadante claro se decantó y se desechó. Se retiraron las gotas de agua adheridas y se volvió a pesar. La capacidad de absorción se expresa como el peso del agua unida por 100 g de harina seca.

Densidad aparente: 50 g de muestra de harina en una probeta de 100 ml se golpeó varias veces. Se registra el volumen de la muestra. Densidad ( $\text{g/cm}^3$ ) = Peso/ Volumen.

Poder de hinchamiento: se pesó 1 g de la muestra en un matraz. Se hidrató con 15 ml de agua destilada, se agitó durante 5 minutos con agitador mecánico a baja velocidad. El calentamiento se realizó durante 40 minutos a 80-85 °C con agitación constante en un baño de agua. El contenido se transfirió a un tubo de centrifuga limpio, seco y pesado previamente. Se añadieron 7,5 ml de agua destilada y

se centrifugaron a 2200 rpm durante 20 min. El sobrenadante se decantó en una charola previamente pesada y se secó a 100 °C hasta un peso constante. El sedimento del tubo se pesó.

El poder de hinchamiento y la solubilidad se calcularon  $\text{solubilidad} = \% \text{ de almidón disuelto en el sedimento}$ .

Propiedades reológicas de la harina. - Las propiedades reológicas de las masas se evaluaron con el farinógrafo de Brabender de acuerdo al método del AACC.

Prueba de panificación según AACC. - harinas de trigo, harina de camote, agua, sal, azúcar, manteca vegetal, levadura. Se mezclaron ingredientes por 20 a 30 min la masa se cortó en porciones de 150g se dejaron fermentar por 30 a 60 min la masa fue moldeada en moldes se dejó media hora más y se coció en el horno a 280°C por 30 min los panes se almacenaron. Se determinó peso, densidad y el volumen de los panes (AACC 1983). Los atributos del pan que se evaluaron sensorialmente por 20 panelistas no entrenados midiendo, textura, dureza y miga, color, olor, sabor, apariencia y aceptación general. Se usó una escala de 0 a 5 (0 = desagradada; 5= me agrada mucho). A los resultados se les determinó el análisis de varianza y el análisis múltiple de medias por la prueba de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los sólidos totales resultaron de 256.0 %, del tubérculo. Los valores de humedad del fueron altos por el agua que contiene el tubérculo 75%. El contenido de cenizas (tabla i) está por debajo del 5 % que representa trazas de elementos minerales y sales inorgánicas. El contenido de proteínas fue del 5% menor comparado al contenido de proteínas de harinas de trigo.

Se obtuvieron harina de camote con y sin bisulfito de sodio y se evaluó la composición química (tabla I). El contenido de grasa cruda en la harina es relativamente bajo si se compara harina de trigo. La fibra presente en la harina tiene un efecto benéfico en la salud. Se determinó que el camote contiene una cantidad limitada de proteína. El contenido de carbohidratos totales fue de 82%, valor en que se incluye el contenido de almidón, y otros carbohidratos presentes en la harina. En general los tubérculos aportan más calorías por carbohidratos que por proteínas.

No hubo efecto significativo sobre las características de la harina de camote de muestras tratadas y sin tratar con NaHSO<sub>3</sub> En general estos parámetros pueden variar según la variedad del camote y la cosecha.

Parámetros	Sin bisulfito	Con bisulfito	Camote fresco
Humedad (%)	5.18 a	5.7 b	75
Cenizas (%)	2.41 a	2.53a	2.8
Proteína	3.47a	3.9a	5.4
Grasa	0.52a	0.59a	2.1
Carbohidratos	82.0a	83.06a	9.0
Fibra total	6.38 a	6.45b	6.0

Los valores promedio con la misma letra en una fila no son significativamente diferentes. Análisis de Varianza y de rango múltiple ( $p \geq 0,05$ );  $n = 3$ .

El oscurecimiento de la harina de camote a una coloración marrón causada por el oscurecimiento enzimático de las peroxidases y por el pardeamiento no enzimático por la reducción de azúcares con grupos amino a alta temperatura fue controlada por el uso de bisulfito de sodio Los  $\beta$ -carotenos en el tubérculo fresco se encontraron entre 5.6- 15.6 mg/100g. El contenido de  $\beta$ -caroteno en las harinas de camote reportado fue de 7.68 a 10.79 mg /100 g. Este valor está dentro de los límites con mediciones previas. El contenido de  $\beta$ -caroteno en el camote puede variar dependiendo de los cultivares, condiciones de cosecha y madurez. Se ha reportado que, para las harinas, el contenido de

□-caroteno disminuye con la temperatura de secado. No obstante, la conservación de las betas carotenos se conservan por la reducción de la humedad en la harina.

Muestra	(%) H	pH	AA (%)	D (g/cm <sup>3</sup> )	PI	SS
A= 100% HC	4.07	6.01	2.45	7.47	12.7	8.63
B= 90% HT-10% HC	2.75	5.70	1.83	6.75	7.40	6.85
C= 85% HT 15% HC	2.60	5.70	1.55	5.80	6.85	6.75
D= 80% HT 20% HC	3.24	5.63	1.24	5.73	6.50	6.40
F= 100% HC	4.68	5.50	1.27	6.83	5.73	6.01

HT= harina trigo HC= harina camote AA= Absorción agua (g) D= densidad (g/cm<sup>3</sup>)  
PI= poder de hinchamiento SS= solubilidad

En las harinas el contenido de humedad (tabla II) aumentó a medida que se agregaba más harina de camote a harina de trigo. Todos los valores de la muestra mezclada caen dentro del límite aceptable. Aumento el contenido de □ caroteno en las mezclas de harina, mientras que disminuyo su contenido de proteínas principalmente gluten. Los valores de pH (tabla II) para las mezclas de harina a medida que se agregaba más harina de camote a harina trigo, el valor del pH tendió hacia una ligera acidez estos valores están dentro del rango aceptado NOM para harinas. Según las especificaciones de la norma mexicana NMX-F-159-s-1983 el pH mínimo para pan es de 4.5 y el máximo es de 5.8. A pH mayores de 5.9 se presenta la proliferación microbiana.

El Índice de absorción de agua (tabla II) indica la capacidad de unión de los grupos hidroxilo para formar enlaces covalentes entre cadenas de almidón. El índice de absorción se ha asociado con la pérdida de la estructura cristalina del almidón (amilosa-amilopectina) y temperatura de secado. Cuando el almidón se gelatiniza, la organización de las moléculas de almidón dentro de los gránulos se altera y las interacciones almidón-agua aumentan, lo que resulta en un aumento sustancial en la capacidad de hinchamiento. Pero se produce una baja capacidad de hinchamiento por la presencia de cristales, que aumentan la estabilidad granular. La capacidad de absorción de agua de la harina de trigo fue mayor que la capacidad de la harina de camote. Indicando que la harina de trigo presento una mayor afinidad por el agua, debido a su composición química principalmente al gluten y almidón. La capacidad de absorción de agua de las diferentes mezclas de harina fue disminuyendo a medida que se agrega más harina de camote.

La densidad (tabla II) disminuyo en relación directa a la sustitución de harina de camote influyendo el peso y el volumen de las harinas que están relacionados con los componentes químicos de cada harina. A medida que se sustituyó más harina de trigo por harina de camote, la densidad disminuyo. La densidad se ve afectada por el tamaño de partícula. La densidad para las harinas es importante para determinar los requisitos de empaque, el manejo del material durante el transporte y almacenamiento y de su procesamiento.

El poder de hinchamiento (tabla II) es una indicación del índice de absorción de agua de los gránulos durante el calentamiento mostró la misma tendencia de hinchamiento y de la solubilidad, los valores disminuyeron en las mezclas de harinas a medida que más harina de camote contenía las mezclas de harinas.

La prueba realizada a las mezclas de harina de trigo y camote con el farinógrafo mostro que entre más harina de camote contenía la mezcla con el trigo se presentaron variaciones en la absorción de agua de las harinas. Con mayor harina de camote en las mezclas disminuyo el tiempo de desarrollo y de

mezclado, así como la elasticidad y la estabilidad de la masa, así como el valor valorimétrico. Lo cual es debido a que las diferentes mezclas de harina presentaron menor contenido de gluten de trigo.

En cuanto al proceso de panificación el peso del pan aumento y el volumen disminuyo en proporción directa al porcentaje de harina de camote en las mezclas de harina usadas para elaborar pan. El volumen de pan que se utiliza como criterio para medir la calidad osciló entre 999 para pan con sustitución de 20% HC para 15% HC fue de 1100, para 10% HC 1120 y para el pan control 100% HT1135. Mientras que la densidad de los diferentes panes aumento al disminuir el volumen y al aumentar el peso de los diferentes panes. La acción de las enzimas amilolíticas responsables de la descomposición del almidón de camote, producen azúcares y más sustrato para la levadura, pudiendo haber contribuido con el volumen del pan. Sin embargo, el Gluten es la principal proteína formadora de estructura responsable de la elasticidad y extensibles necesarias para producir atrapar gas y producir pan de buena calidad. El gluten presente en la harina de trigo disminuyo conforme aumento la harina de camote afectando así el volumen y la estructura de la miga del pan. No obstante, la harina de camote le dio más suavidad y sabor dulce del camote dado por la degradación del almidón a azúcares como sacarosa, siendo este el mayor componente, seguido de la fructosa y glucosa al pan. Al aumentar el nivel de harina de camote en el pan, el contenido de  $\beta$  caroteno aumentó.

El análisis sensorial mostro que el pan hecho con harina de camote con 5, 10 y hasta 15% de sustitución resultó con buena aceptación hasta el tercer día cuando se modificó la estructura de la miga del pan cambiado las características de textura. El análisis sensorial mostro que el pan preparado con hasta 15% de la harina de camote presentó una buena aceptabilidad sin presentar diferencia significativa con respecto al pan control. Los atributos sensoriales, de textura, sabor, olor de los panes suplementados con 5, 10 y 15 % de harina de camote mejoraron. La harina de camote puede proporcionar, color y sabor agradable al pan fermentado. El sabor del pan es un indicador muy importante en la aceptación general de este tipo de pan. El color amarillo-naranja del pan aumento en cuanto más harina de camote contenían en comparación con el pan control. Se presentó una correlación positiva entre el aumento de la dureza de la miga y la disminución del volumen del pan. A medida que aumentaron los días de almacenamiento aumento la dureza y la pérdida de humedad del pan no obstante la harina de camote redujo la tasa de envejecimiento en comparación con pan control hasta por tres días. El pan es un alimento que puede ser mejorado con la adición de harinas como la de camote.

### BIBLIOGRAFÍA

- AACC., 1993. Cereal Laboratory Methods. The American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, USA
- AOAC., 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International (14th ed.). Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemistry. Methods, 950.46, 938.08, 960.39, and 955.04.
- Ahmed, M., Akter, S., Jong-Bang E. 2010. Peeling, drying temperatures, and sulphite treatment affect physicochemical properties and nutritional quality of sweet potato flour Food Chemistry 121 112–118
- Idolo Ifie., 2011. Sensory and Nutritional Quality Of Madiga produced from composite flour of wheat and sweet potato Pakistan Journal of Nutrition 10 (11): 1004-1007,
- Pérez y Pacheco de Delahaye., 2005. Características químicas, físicas y reológicas de la harina y el almidón nativo aislado de *Ipomoea batatas lam* acta científica venezolana, 56(1): 9-15,
- Renee Vidal A., Zaucedo-ZuñigaA, Ramos-García M., 2018. Propiedades nutrimentales del camote (*Ipomoea batatas* L.) y sus beneficios en la salud humana Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, vol. 19, núm. 2,
- Sacón-Vera, E; Bernal-Bailón, I; Dueñas-Rivadeneira, A; Cobeña-Ruíz, G; López-Bello, N., 2016. Reología de mezclas de harinas de camote y trigo para elaborar pan Tecnología Química, vol. XXXVI, núm. 3, pp. 457-467 Universidad de Oriente Santiago de Cuba, Cuba

- Utomo, J. S., Cheman, Y. B., Rahman, R. A., & Saad, M. S., 2005. The effect of shape, blanching methods and flour on characteristics of restructured sweet potato stick. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 1896–1900.
- Van Hal M. 2000. Quality of sweet potato flour during processing and storage. *Food Rev Int* 16:1-37

## **Detección de los alérgenos principales de la soya en diferentes matrices alimentarias.**

Reyes-Farfán S.<sup>1</sup>, Santellán-Olea M.R.<sup>2</sup>, Luna-Suárez S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Tlaxcala, México. Ex Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5 Tlaxcala. C.P. 90700, México, Centro. 90700 Tlax. \* [silvials2004@yahoo.com.mx](mailto:silvials2004@yahoo.com.mx).

<sup>2</sup>Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias de la Universidad Autónoma de Puebla. Edificio IC 10. Ciudad Universitaria, Colonia San Manuel, C.P. 72570. Puebla, Puebla México

### **RESUMEN**

Los alimentos son esenciales para el desarrollo de los humanos ya que provee de los nutrimentos necesarios para el desarrollo, entre ellos las proteínas cobran especial interés debido a sus variadas funciones, una de ellas es que funcionan como moléculas de reconocimiento, en este sentido, el sistema inmunológico tiene la capacidad de reconocer algunas proteínas de algunos alimentos y montar una respuesta alérgica, conocida como hipersensibilidad. La hipersensibilidad es una reacción exacerbada del sistema inmunológico ante un agente que en condiciones generales es inocuo. La soya es un alimento ampliamente utilizado en diferentes alimentos gracias a sus propiedades fisicoquímicas, consta de 4 fracciones, que se clasifican según sus propiedades de sedimentación: 2S, 7S, 11S y 15S, de las cuales 2S y 11S se consideran los alérgenos principales debido a las propiedades moleculares de sus componentes proteicos. En este trabajo se hizo la producción de anticuerpos policlonales [anti-glicinina (11S) y anti-albumina 2S de soya] y se evaluó la detección de las proteínas provenientes de la soya por medio de los métodos ELISA y Western Blot en diferentes alimentos. Se logró la detección de los alérgenos en la semilla de soya, la soya texturizada, chorizo y en menor medida en atún.

**Palabras clave:** Alérgeno, anticuerpo, soya, albumina 2S, glicinina

### **ABSTRACT**

Food is essential for the development of humans since they provide the necessary nutrients for development, among them, proteins are of special interest due to their various functions, one of them is that they function as recognition molecules, in this sense, the immune system has the ability to recognize some proteins in some foods and mount an allergic response, known as hypersensitivity. Hypersensitivity is an exacerbated reaction of the immune system to an agent that is generally harmless. Soybean is a food widely used completely or partially in different foods thanks to its physicochemical properties, it consists of 4 fractions, which are classified according to their sedimentation properties: 2S, 7S, 11S and 15S, of which 2S and 11S are considered the allergens due to the molecular properties of its protein components. In this work, the production of polyclonal antibodies [anti-glycinin (11S) and anti-2S soy albumin] was carried out and the detection of proteins from soy was evaluated by means of ELISA and Western Blot methods in different foods. The detection of allergens in soybeans, textured soybeans, chorizo and to a lesser extent in tuna was found.

**Keywords:** Allergen, antibody, soy, albumin 2S, glycinin



### INTRODUCCIÓN

En los últimos años la alergia por alimentos ha cobrado especial interés ya que se considera un problema de salud sustancial en países desarrollados, estando en seguida de problemas de salud como la rinitis alérgica y el asma, ya que han aumentado su prevalencia a partir de los últimos años del siglo XX<sup>1</sup>, afectando alrededor de mil millones de personas en todo el mundo y se pronostica que su prevalencia esté alrededor de los 4 millones para el año 2050<sup>2</sup>. El sistema inmunológico distingue en el cuerpo lo que es propio de lo que es extraño a él, y representa protección al cuerpo frente a organismos patógenos, esto mediante la activación de una respuesta inmunológica que coordina la actuación de los componentes humorales y celulares del sistema inmunológico. Una reacción alérgica o hipersensibilidad es considerada como una respuesta inapropiada del sistema inmunológico ante un agente que es inocuo y que no debería representar un peligro para el cuerpo humano, y éste producirá lesiones en diversos tejidos. La hipersensibilidad se puede clasificar en cuatro tipos, diferenciados específicamente por sus mecanismos de reacción, donde; la hipersensibilidad tipo I se considera como inmediata en la que se producen anticuerpos IgE que provocaran dilatación vascular, edema, contracción del musculo liso, producción de moco, lesión tisular e inflamación<sup>3</sup>.

La comida es esencial para la vida y es importante para la identidad cultural<sup>4</sup>, 170 alimentos representan una importante fuente de antígeno para desencadenar una reacción alérgica<sup>5</sup>. Dentro de estos alimentos resaltan algunos de mayor importancia y de los cuales la aparición de las reacciones alérgicas varía con la edad, en este sentido resulta importante destacar a la soya, debido a que en la actualidad la soya es ocupada en diferentes alimentos gracias a su versatilidad y propiedades funcionales, entre las cuales encontramos la capacidad de retención de agua que da viscosidad a los alimentos, las interacciones entre proteína y proteína mediante la cual es posible hacer geles, así como la capacidad espumante y emulsificante<sup>4</sup>. La soya principalmente consta de 4 fracciones de globulinas, que se clasifican según sus propiedades de sedimentación: 2S, 7S, 11S y 15S. Aproximadamente el 70-80% de la proteína de almacenamiento está constituida por 2 fracciones de proteína:  $\beta$ -conglucina y la glicina, la primera tiene un coeficiente de sedimentación de 7S, mientras que la segunda tiene un coeficiente de sedimentación es de 11S, es un hexámero con una masa molecular de entre 300 y 380 kDa, la proteína está compuesta por seis subunidades de las cuales cada una tiene una cadena ácida con pesos moleculares entre los 35 kDa y cadenas básicas de pesos moleculares entre los 20 kDa que se encuentran unidos mediante un único puente disulfuro<sup>6,7</sup>. Fukushima *et al.*, (2011) mencionan que uno de los principales alérgenos de este alimento es la subunidad Gly m BD 30 K, así como la albumina 2S que es una proteína de bajo peso molecular, ha sido investigada por sus estructuras y propiedades. Se encontró que la fracción 2S de proteína de soya exhibe una alta hidrofobicidad superficial y una buena flexibilidad de cadena, lo que le proporciona mejores propiedades de formación de espuma y emulsificación en comparación a las otras dos fracciones moleculares<sup>8</sup>. La fracción 2S también ha sido reportado como inhibidor de tripsina, que se usa en biomedicina<sup>9</sup>, industrias biológicas, y alimentarias<sup>10,11</sup>. Sin embargo, la investigación sobre 2S, no es tan extensa como el de las otras dos fracciones (7S, 11S). Esta proteína está formada por dos subunidades una entre 3 y 5 kDa y la otra entre 8 y 12 kDa, estas dos subunidades son codificadas de un ARN mensajero del cual se produce un péptido bioactivo<sup>12</sup>.

Es por ello que este trabajo se desarrolló con el objetivo de evaluar las fracciones 11S y 2S, la subunidad Gly m BD 30 K de la fracción 11S y la albúmina 2S como principales alérgenos de la soya, en diferentes matrices alimentarias, mediante técnicas inmunológicas, debido a que actualmente existen pocas investigaciones en México referentes a la evaluación de estos alérgenos en matrices alimentarias en el contexto cultural del país.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de inmunógeno.

Se prepararon anticuerpos contra las dos proteínas de interés, la glicinina obtenida de la semilla de soya, y la albúmina 2S de soya recombinante purificada en el grupo de trabajo Jara *et al.*, (2017)<sup>13</sup>.

Esquema de inmunización

Se inmunizó a conejos machos de la raza New Zeland de 6 semanas de edad, bajo el siguiente esquema de inmunización que consistió en cinco inoculaciones con siete días de intervalo cada una. La inmunización se realizó por vía intradérmica en distintos lugares del dorso del huésped e intramuscular en la pata inferior derecha con 0.5 mL del extracto crudo de proteínas (1 mg/mL) y 0.5 mL de adyuvante completo de Freund (ACF) en la primera inoculación; las cuatro inoculaciones posteriores se hicieron con adyuvante incompleto de Freund (AIF), a la misma proporción con un volumen final de 0.5 mL de emulsión.

Sacrificio del huésped y recolección de anticuerpos

Al finalizar el programa de inmunización se realizó el sangrado completo del huésped y la sangre se recolectó en tubos de ensayo; posteriormente, se incubó a 37°C durante 45 minutos para permitir la formación del coágulo y se centrifugó durante 10 minutos a 4.000 rpm a 4°C. El suero se dividió en alícuotas de 1.5 ml cada una y se guardó a 4°C hasta su uso.

Extracción de proteínas de interés de matrices alimentarias

Se prepararon las muestras de matrices alimentarias, para esto se pesaron 250 mg de las diferentes matrices alimentarias y se añadieron 500 µL de buffer Tris 20 mM, NaCl 150 mM, EDTA 5 mM, se agitó en vortex, se centrifugó, se separó el sobrenadante en un nuevo tubo, y se congeló hasta su uso. Posteriormente se verificó la presencia de las proteínas mediante el método de Bradford, se llevó a cabo la separación de proteínas por electroforesis SDS-PAGE con un gel de poliacrilamida al 12% y se compararon con un marcador molecular.

Detección de las proteínas mediante Western blot.

Se realizó la separación electroforética, posteriormente se hizo la transferencia a 50 V por una hora utilizando el método húmedo, Se utilizó el primer anticuerpo en una dilución 1:5000 en buffer TTBS, el anticuerpo secundario fue anti-conejo unido a la fosfatasa alcalina (1:3000). Se reveló la membrana utilizando BCIP y NBT, se detuvo la reacción con agua, se dejó secar la membrana y se fotodocumentó.

Detección de las proteínas por el método ELISA

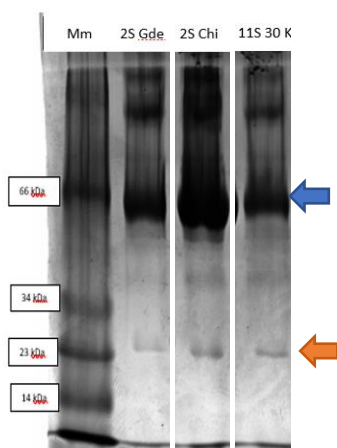
Se agregaron 100 µl de la extracción de proteínas en los pocillos de la placa de ELISA, cada muestra por triplicado. Se incubaron las muestras en los pocillos a 4°C durante toda la noche, se lavó tres veces con buffer TPBS, se bloqueó la placa con 200 µL por pocillo con leche descremada al 5% en buffer TPBS durante una hora a temperatura ambiente. Se repitió el procedimiento de lavado tres veces. Posteriormente se añadió 100 µl de anticuerpo primario, se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación suave, se repitió el procedimiento de lavado tres veces. Se añadieron 100 µl de anticuerpo secundario se incubó durante dos horas a temperatura ambiente con agitación suave, se lavó con TPBS y PBS. Por último, se agregaron 100 µl de sustrato p-NPP, se incubó durante 30 minutos en oscuridad, transcurrido este tiempo se realizó la lectura a 405 nm.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis de los anticuerpos

Se cuantificó la proteína de los inmunosueros de anti-albúmina 2S y anti-glicinina, mediante el método de Bradford (los resultados se muestran en la tabla 1). Se sometieron a SDS-PAGE usando un gel de concentración de acrilamida al 10%, se mostró la presencia de las inmunoglobulinas, con base a la conformación de la IgG, ya que ésta se compone de dos cadenas pesadas unidas mediante puentes disulfuro entre sí, y dos cadenas ligeras unidas también mediante puentes disulfuro a cada una de las cadenas pesadas, y gracias al  $\beta$ -mercaptoetanol presente en el buffer, que reduce estos enlaces, se observa una banda correspondiente a las cadenas pesadas (flecha azul figura 1) y una banda más correspondiente a las cadenas ligeras (flecha naranja figura 1).

Tabla 1 concentración de proteínas en los inmunosueros.



Muestra	Proteína mg/ml
Anti-albúmina 2S	2.74
Anti-glicinina	2.76

Figura 1 SDS-PAGE de los inmunosueros utilizados.

### Extracción de proteínas de interés de matrices alimentarias

En la tabla 2 se muestran las muestras que se utilizaron, y el contenido de proteína extraída de cada una de ellas. Se muestran las abreviaturas de las muestras, para su identificación a lo largo del documento.

También se utilizaron como controles la subunidad chica de la albúmina 2S de soya recombinante, la subunidad grande de la albúmina 2S de soya recombinante y la albúmina 2S de soya recombinante, obtenidas por el grupo de trabajo.

Las diferentes muestras se analizaron mediante SDS-PAGE, en la figura 2 se muestran los resultados.

Se puede observar a la subunidad ácida de la glicinina (Gly 30 k) en los carriles con las muestras Tex, Sem y Cho indicado con líneas amarillas. Para el caso de la fracción 2S, observamos las recombinantes en los carriles correspondientes a Chi-gde, Chi y Gde indicada círculo amarillo, en el caso de las matrices alimentarias es posible observar bandas alrededor de los 15 a los 30 kDa (zona de interés) en los carriles de las muestras Tex, Sem y Cho, indicado con círculo azul. Dicho esfuerzo de ubicar las bandas de interés funcionó como un primer acercamiento del reconocimiento de dichas bandas, pero, cabe mencionar que según Jedrychowski y Wichers (2010) mencionan que algunas familias proteicas específicamente de origen vegetal comparten la tendencia a formar grandes agregados inducidos térmicamente<sup>14</sup>, asociado a ello, cada matriz alimentaria exhibe procesos únicos

en su fabricación que influyen en esta y otras propiedades moleculares que podrían influir en su alergenicidad y al observar bandas por arriba del peso molecular esperado.

Tabla 2 Muestras de soya.

Muestra (matriz alimentaria)	Marca u observaciones	Abreviación	[ ] mg/ml proteína
Recombinante albúmina 2S de soya	29 kDa	Ch-gde	0.45
Recombinante subunidad chica de la albúmina 2S.	18 kDa	Chi	0.51
Recombinante subunidad grande de la albúmina 2S.	24 kDa	Gde	0.52
Soya texturizada.	Rancho Santa Angela	Tex	7.21
Frijol de soya.	Centro naturista soya vida	Sem	3.40
Chorizo.	Diferentes procedencias	Cho	1.23
Atún.	Ancla 20% soya	Atn	4.12

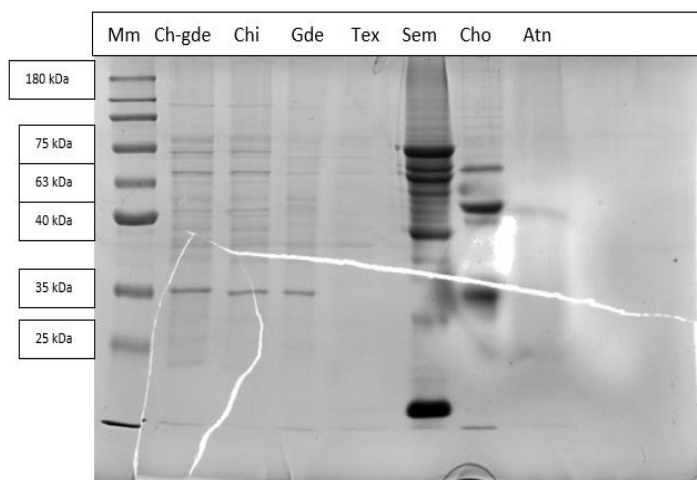


Figura 2 SDS-PAGE de muestras de soya.

Detección de las proteínas de la soya mediante Western blot.

El western blot de las muestras de soya, utilizando el anticuerpo anti-glicinina se muestra en la figura 3, podemos observar bandas alrededor de los 30 kDa, correspondiente a la subunidad ácida de la glicinina, en los carriles de la soya texturizada (Tex), proteína extraída de la semilla (Sem) y el chorizo (Cho) (denotadas con líneas azules). La importancia de Gly 30 K como alérgeno recae en sus características bioquímicas y biológicas entre las cuales se encuentra que poseen una estructura de barril beta, que es una característica común de las proteínas de la familia de las cupinas que exhiben

una notable estabilidad térmica y poseen una tendencia a formar grandes agregados inducidos térmicamente, tal vez, es por esto que se pueden observar bandas en pesos moleculares superiores<sup>14</sup> en la muestra de chorizo. En la muestra de atún se observa una banda tenue alrededor de los 35kDa y los 60kDa, la bandade 60kDa puede corresponder a la glicinina de soya y la de 35 a algún hidrolizado de la misma, por el tratamiento térmico del atún.

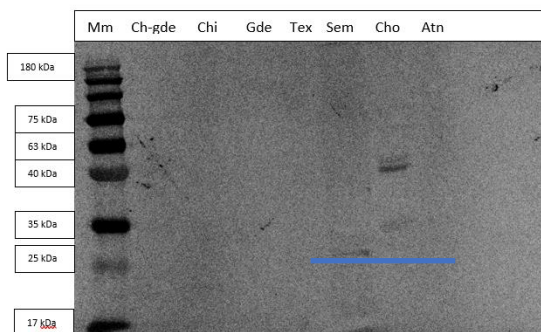


Figura 3 Análisis western blot. Detección de proteínas de la soya utilizando el anticuerpo anti-glicinina.

En la figura 4 se muestra el western blot de las muestras, utilizando el anticuerpo anti-albúmina 2S, se observan bandas de alrededor de 18 kDa y de alrededor de los 25 kDa (líneas azules) relacionadas a la albúmina 2S, pero, también observamos bandas con mayor peso molecular. Se ha demostrado que las albúminas 2S se unen o se asocian con los lípidos<sup>17</sup>, muchos alérgenos de alimentos vegetales también pueden asociarse con membranas celulares y otros tipos de estructuras lipídicas en los alimentos. Este es un método de acción comúnmente observado en las proteínas para proteger a las plantas contra microorganismos patógenos, a través de la desestabilización de membranas de bacterias u hongos que dan lugar a fugas<sup>15</sup>, tal vez es por esto que observamos bandas en pesos moleculares superiores. Las interacciones electrostáticas, además de la presencia de enlaces disulfuro, parecen desempeñar un papel importante en la estabilización de la estructura molecular de los alérgenos 2S<sup>16</sup>. A través del tracto gastrointestinal se sensibiliza la albúmina 2S de soya, esto sugiere que estas proteínas son capaces de resistir y mantenerse, a los duros escenarios como, pH ácido, efectos desnaturizantes de los tensioactivos y actividades proteolíticas de las enzimas digestivas dentro del tracto gastrointestinal. Consecutivamente, estas proteínas podrían ser absorbidas en formas inmunológicamente activas por el intestino, lo que facilitaría la exhibición de estos alérgenos al sistema inmunitario para sensibilizar a un individuo y provocar una respuesta alérgica<sup>17</sup>.

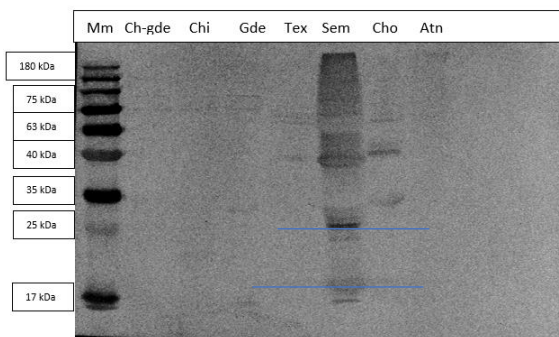


Figura 4 Análisis western blot. Detección de proteínas de la soya utilizando el anticuerpo anti-albúmina 2S.

#### Detección mediante el método ELISA

En la figura 6 se observa la identificación de las proteínas de soya utilizando el anticuerpo anti-albúmina 2S de soya.

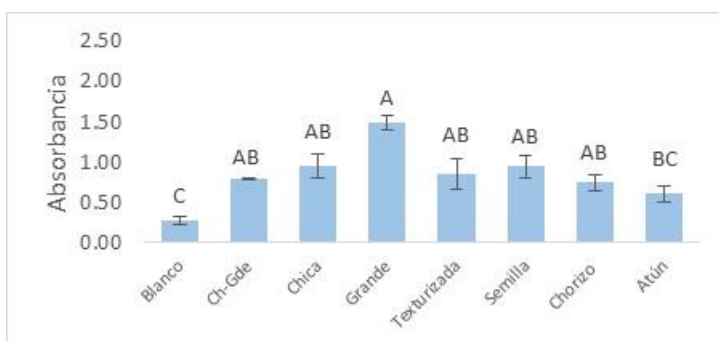


Figura 6. Identificación de proteínas de soya mediante la técnica de ELISA utilizando el anticuerpo anti-albúmina 2S de soya.

Se puede observar que con el anticuerpo se pueden identificar las diferentes proteínas de la soya, así se detectaron las proteínas recombinantes Ch-Gde que corresponde a la subunidad chica unida a la subunidad grande de la lunasina, péptido de la albúmina 2S de soya; la subunidad chica de la albúmina 2S y la subunidad grande de la albúmina 2S; se detectó también la albúmina 2S en la soya texturizada, la proteína extraída de la semilla, y también se detectó esta proteína en muestra de chorizo; aunque en atún también se obtuvo señal, al comparar con el blanco, no hubo diferencia significativa, por lo que no podemos decir que se haya detectado esta proteína en atún mediante esta técnica.

También se trabajó con el anticuerpo anti glicinina de soya, que es también un alérgeno.

En la figura 7 se muestran los resultados obtenidos.

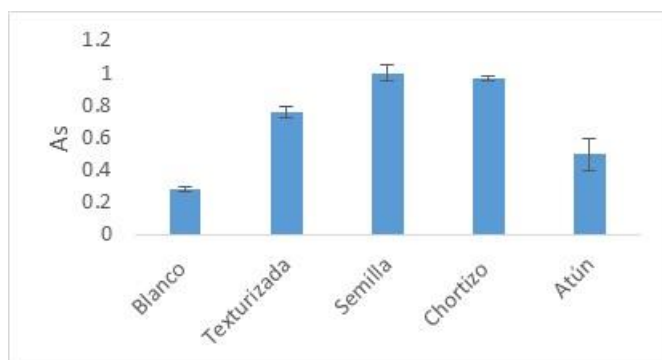


Figura 7. Identificación de proteínas de soya mediante la técnica de ELISA utilizando el anticuerpo anti glicinina de soya.

Se puede observar que se pudo identificar claramente la glicinina de soya en la semilla, en la soya texturizada, en chorizo y en atún. En este último alimento no se pudo identificar la albúmina 2S de la soya.

Anteriormente los esfuerzos por detectar estas proteínas alergénicas en diferentes matrices alimentarias han sido diversos, Planque M. *et al.*, (2016)<sup>18</sup> desarrollaron un método sensible de detección de alérgenos cualitativos mediante el análisis de péptidos de alérgenos alimentarios por espectrometría de masas en tándem de cromatografía líquida de ultra alto rendimiento, de las siguientes matrices alimentarias: salsa de tomate, galletas, chocolate y helado. En ese estudio pudieron detectar los siguientes alérgenos en dichas matrices: 0.5 mg/kg de proteínas de la leche para las caseínas, 5 mg/kg de proteínas de la leche para el suero, 3.4 mg/kg de proteínas de huevo para la clara de huevo, 30.8 mg/kg de proteínas de huevo para la yema de huevo, 2.5 mg/kg de proteínas de cacahuate y 5 mg/kg de proteínas de soya. Específicamente para la soya el alérgeno reportado es la glicina, mientras que para la yema de huevo el alérgeno reportado es la apovitellenina y para la clara fue la ovoalbúmina<sup>20</sup>. El trabajo realizado también contribuye al conocimiento y una manera se poder detectar tanto alérgenos de la soya, así como posibles fraudes en alimentos, donde tal vez no reporten que se agregó soya al alimento procesado.

## CONCLUSIÓN

Con los dos anticuerpos obtenidos se pudieron identificar proteínas alergénicas de la soya en la semilla, en soya texturizada y en el chorizo; en atún, sólo se pudo identificar la glicinina de soya.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Renz H, Allen KJ, Sicherer SH, et al. Food allergy. *Nat Rev Dis Prim.* 2018;4. doi:10.1038/nrdp.2017.98
2. Medina-hernández A, Huerta-hernández RE, Góngora-meléndez MA, Domínguez-silva MG, Mendoza-hernández DA, Romero-tapia SDJ. Perfil clínico-epidemiológico de pacientes con sospecha de alergia alimentaria en México . Estudio Clinical-epidemiological profile of patients with suspicion of alimentary allergy in Mexico . Mexipreval Study. Published online 2015:28-40.
3. Murphy K, Travers P, Walport M. *Inmunobiología de Janeway.* 7°. McGrawHill; 2009.
4. Sánchez J, Sánchez A. Epidemiology of food allergy in Latin America. *Allergol Immunopathol*

- (Madr). 2015;43(2):185-195. doi:10.1016/j.aller.2013.07.001
5. Aguilar-Jasso D, Valdez-López F, Valle-Leal JG, Aguilar-Jasso J, Hierro-Yepo JC Del, Lizola-Arvizu N. Clinical profile of pediatric patients diagnosed with food allergy in Northwestern Mexico. *Rev Alerg Mex*. 2018;65(3):153-161. doi:10.29262/ram.v65i3.355
  6. Amigo-Benavent M. Efecto de la desglucosilación enzimática en la antigenicidad del alérgeno beta-conglicina (7S globulina) de soja. Published online 2010. <https://digital.csic.es/handle/10261/21710>
  7. Barac M, Stanojevic S, Jovanovic S, Pesic M. Soy protein modification: A review. *Acta Period Technol*. 2004;280(35):3-16. doi:10.2298/apt0435003b
  8. Fukushima D. Soy proteins. *Handb Food Proteins*. Published online 2011:210-232. doi:10.1533/9780857093639.210
  9. Velarde-Salcedo AJ, Barrera-Pacheco A, Lara-González S, et al. In vitro inhibition of dipeptidyl peptidase IV by peptides derived from the hydrolysis of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) proteins. *Food Chem*. 2013;136(2):758-764. doi:10.1016/j.foodchem.2012.08.032
  10. Odintsova T, Rogozhin E, Sklyar I, et al. Antifungal Activity of Storage 2S Albumins from Seeds of the Invasive Weed Dandelion *Taraxacum officinale* Wigg. *Protein Pept Lett*. 2010;17(4):522-529. doi:10.2174/092986610790963591
  11. Tomar PPS, Nikhil K, Singh A, Selvakumar P, Roy P, Sharma AK. Characterization of anticancer, DNase and antifungal activity of pumpkin 2S albumin. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014;448(4):349-354. doi:10.1016/j.bbrc.2014.04.158
  12. Nava Cabrera AM. Análisis del gen que codifica para el péptido lunasina. Published online 2016.
  13. Jara Romero GJ. Expresión de los fragmentos que componen a la albúmina 2S en *Escherichia coli* y búsqueda de ortólogos del mismo gen en vegetales. *Occup Med (Chic Ill)*. 2017;(4).
  14. Jedrychowski L, Wichers HJ. *Chemical and Biological Properties of Food Allergens*. 2nd ed. CRC Press; 2010. doi:<https://doi.org/10.1201/9781420058574>
  15. Moreno FJ, Clemente A. 2S Albumin Storage Proteins: What Makes them Food Allergens? *Open Biochem J*. 2008;2:16-28. doi:10.2174/1874091x00802010016
  16. Breiteneder H, Radauer C. A classification of plant food allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(5):821-830. doi:10.1016/j.jaci.2004.01.779
  17. Breiteneder H, Mills ENC. Molecular properties of food allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115(1):14-23. doi:10.1016/j.jaci.2004.10.022
  18. Planque M, Arnould T, Dieu M, Delahaut P, Renard P, Gillard N. Advances in ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for sensitive detection of several food allergens in complex and processed foodstuffs. *J Chromatogr A*. 2016;1464:115-123. doi:10.1016/j.chroma.2016.08.033



## Elaboración de un pan tipo Danés complementado con harina de amaranto

Martínez-Manrique E\*, Ramírez-Zárate S. N., Jiménez –Vera V.

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Laboratorio de Bioquímica y Fisiología de Granos, Campo 4. Km 2.5 Carretera Cuautitlán-Teoloyucan, San Sebastián Xhala, 54714 Cuautitlán Izcalli, México, México.  
[\\*tallerdecereales.fesc@yahoo.com.mx](mailto:tallerdecereales.fesc@yahoo.com.mx)

### RESUMEN

El pan danés es uno de los 25 panes más consumidos en México, sin embargo, se elabora con harina de trigo, la cual tiene un valor nutrimental limitado. Investigaciones recientes pretenden mejorar el valor nutritivo de panes de trigo usando harinas integrales de granos altamente nutritivos y funcionales como el amaranto. En este trabajo se propusieron tres formulaciones, para elaborar pan danés, variando la cantidad de harina de trigo, harina de amaranto y gluten vital y se seleccionó la mejor formulación mediante una prueba sensorial de preferencia. A la formulación seleccionada se le realizaron pruebas químicas, nutrimentales y funcionales, además de una prueba sensorial de nivel de agrado. Los resultados mostraron que la mejor formulación fue; 50-40-10% amaranto-trigo-gluten respectivamente, la cual presentó mejor composición química que la formulación tradicional con 100% harina de trigo, al obtener un mayor contenido de proteínas, fibra, grasa y cenizas, también mejoró su calidad funcional pues tuvo una mayor capacidad antioxidante, fenoles y fibra dietética. Su calidad nutrimental también fue mejor pues su relación de eficiencia proteica (PER) y digestibilidad fueron altas. Finalmente, el pan danés tuvo un 82% de aceptación y una calificación de 8 en la prueba sensorial de nivel de agrado.

**Palabras clave:** Amaranto, pan danés, calidad nutrimental, calidad funcional.

### ABSTRACT

Danish bread is one of the 25 most consumed breads in Mexico, however, it is made with wheat flour, which has limited nutritional value. Recent research aims to improve the nutritional value of wheat breads using whole meal flours from highly nutritious and functional grains such as amaranth. In this work, three formulations were proposed to make Danish bread, varying the amount of wheat flour, amaranth flour and vital gluten, and the best formulation was selected through a sensory preference test. Chemical, nutritional and functional tests were carried out on the selected formulation, in addition to a sensory test for the level of liking. The results showed that the best formulation was; 50-40-10% amaranth-wheat-gluten respectively, which presented a better chemical composition than the traditional formulation with 100% wheat flour, by obtaining a higher content of protein, fiber, fat and ashes, it also improved its functional quality since had a higher antioxidant capacity, phenols and dietary fiber. Its nutritional quality was also better because its protein efficiency ratio (PER) and digestibility were high. Finally, the Danish bread had an 82% acceptance rate and a rating of 8 in the sensory liking level test.

**Keywords:** Amaranth, Danish bread, nutrimental quality, functional quality.

### INTRODUCCIÓN

El grano de trigo es la materia prima utilizada para hacer harina, harina integral, sémola y malta, a su vez sirve para hacer una gran variedad de productos alimenticios que derivan de estos como por ejemplo el pan (León *et al.*, 1997). En México, el consumo de pan per cápita, según la Cámara Nacional de la Industria Panificadora (CANAINPA), es de 33.5 kg, del cual entre el 25 al 30% es pan dulce, galletas y pasteles. Dentro de una encuesta realizada por PROFECO en 2017, se obtiene que el pan danés tipo almohada o jabón es uno de los primeros 25 panes caseros recién hechos más consumidos durante el desayuno en México. La Organización Panamericana de la Salud advierte que los panes industrializados, tanto dulces como salados, tienen exceso de todos los nutrientes críticos: grasas totales, grasas saturadas, azúcares y particularmente sodio, el cual puede traer consigo padecimientos cardiovasculares, siendo estos la primera causa de muerte en el país, sin contar el coronavirus (INEGI, 2019). Por otro lado, los panes hechos a base de harina de trigo refinada, se caracteriza por un limitado valor nutricional (Isserliyska *et al.*, 2001). En los últimos años las investigaciones persiguen mejorar el valor nutritivo del pan de trigo con otros cereales y pseudocereales en grano y harinas integrales con un elevado aporte nutrimental y funcional (Montero *et al.*, 2015). El amaranto es un pseudocereal, cuya planta pertenece a la familia *Amarantaceae*, género *Amaranthus*, distribuida en zonas tropicales y subtropicales (Olivares & Peña, 2009), este grano ha sido ampliamente estudiado, y se ha comprobado su excelente composición nutricional, debido a una alta concentración de proteínas y minerales; especialmente Ca, Mg y Fe (Montero *et al.*, 2015), presenta un alto contenido de fibra (Arellano *et al.*, 2004), así como compuestos bioactivos tales como fitoesteroles, escualeno y polifenoles (Acevedo *et al.*, 2007). Con base en lo antes expuesto, el objetivo del presente trabajo es desarrollar una formulación para la elaboración de un pan tipo danés complementado con harina de Amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) mediante la variación de las proporciones de harina de amaranto y trigo para obtener un producto con mayor calidad nutrimental y funcional.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Material biológico

Para el desarrollo de este proyecto se utilizó la semilla de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) variedad Tulyehualco cosecha 2015 y harina refinada de trigo marca Tres estrellas®, la cual fue adquirida en un centro comercial.

#### Preparación de la muestra

Para la obtención de la harina de amaranto se llevó a cabo su molienda utilizando un molino para café, posteriormente el producto obtenido se tamizó con una malla #40 serie Tyler, la harina se mantuvo guardada en un frasco con tapa cerrado a 4°C hasta su uso.

#### Elaboración de un pan dulce tipo danés

Con base en la formulación original se propusieron las formulaciones de la tabla I.

**Tabla I.** Formulaciones propuestas para la elaboración de un pan dulce tipo danés con harina de amaranto, trigo y gluten vital.

Formulación	Harina de Amaranto%	Harina de trigo%	Gluten Vital%
1	30	60	10
2	50	40	10
3	70	20	10

### Prueba sensorial de preferencia

Esta prueba se realizó usando las tres formulaciones propuestas y se aplicó a 100 jueces no entrenados, las muestras fueron codificadas y las instrucciones estaban por escrito claramente explicando el procedimiento (Ramírez, 2012).

### Análisis químico proximal

Se realizó el análisis químico proximal al producto control y producto seleccionado realizando las pruebas de humedad (Secado por estufa), proteína (Método Micro-kjeldhal), grasa (Método Soxhlet), cenizas (kleem), fibra cruda (Wendee) siguiendo los métodos del A.O.A.C. (2005) y carbohidratos por diferencia.

### Evaluación de la calidad nutrimentales

Para el análisis de factores nutrimentales al producto control y producto seleccionado se realizaron las pruebas de cuantificación de triptófano (Rama *et al.*, 1974), digestibilidad *in vitro* (Hsu *et al.*, 1977), almidón total (Goñi *et al.* 1997) almidón digerible por diferencia, relación de eficiencia proteica (A.O.A.C, 1990) y digestibilidad *in vivo* (A.O.A.C., 2005).

### Evaluación de la calidad funcional

Las pruebas para evaluar la calidad funcional hechas al producto control y producto seleccionado fueron fibra dietética (Cunnif *et al.*, 1994), compuestos fenólicos (Valadez *et al.*, 1990), capacidad antioxidante (Da Silva y Selma, 2012) y almidón resistente (Goñi *et al.*, 1996).

### Prueba sensorial de nivel de agrado

Se realizó a la formulación seleccionada aplicándose a 100 jueces no entrenados elegidos al azar, las instrucciones estaban por escrito claramente explicando el procedimiento (Ramírez, 2012).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las tres formulaciones propuestas, con 30%, 50% y 70% de harina integral de amaranto, tuvieron buena calidad sensorial (tamaño, sabor y color), además, los resultados de la prueba sensorial de preferencia (tabla II) indicaron que no tuvieron diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ ), pero como el pan con 50% de amaranto fue el que obtuvo el mayor puntaje y los comentarios de los jueces fueron los más favorables, se eligió la formulación del pan danés con 50 % de harina de amaranto como la mejor.

**Tabla II.** Resultados de la prueba de preferencia de las diferentes formulaciones de pan danés

Muestras			
	3021	2150	2701
Puntaje	201 <sup>a*</sup>	219 <sup>a</sup>	192 <sup>a</sup>

\*Letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ )

### Análisis químico Proximal

Los resultados del análisis químico proximal del producto control, pan elaborado con 100% harían de trigo, y el seleccionado, pan con 50% harina integral de amaranto, se muestran en la tabla III.

**Tabla III.** Análisis químico proximal de pan danés control y seleccionado

Muestra	Humedad %	Proteínas %	Grasa %	Cenizas %	Fibra %	CHOS %
Control	2.45 ± 0.01 <sup>a*</sup>	7.19 ± 0.07 <sup>a</sup>	22.66 ± 0.19 <sup>a</sup>	1.18 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.32 ± 0.17 <sup>a</sup>	63.2 <sup>a</sup>
Formulación seleccionada	3.88 ± 0.06 <sup>b</sup>	15.17 ± 0.06 <sup>b</sup>	25.27 ± 0.44 <sup>a</sup>	1.69 ± 0.01 <sup>b</sup>	5.32 ± 0.05 <sup>b</sup>	48.67 <sup>b</sup>

\*Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ )

Todos los componentes, a excepción de las grasas, tienen diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre la muestra control y la seleccionada. Las proteínas son más del doble en la formulación seleccionada, algo esperado debido al amaranto, pues sabemos que este pseudocereal contiene gran cantidad de proteína con aminoácidos esenciales en mayor cantidad que el trigo principalmente lisina, triptófano y treonina (Shewry *et al.*, 2009). Por otro lado, las cenizas y la fibra son mayores en la formulación seleccionada, seguramente debido a la harina integral de amaranto, ya que en nuestro laboratorio se analizó esta harina y se tuvo 2.36% de ceniza y 5.28% de fibra cruda. La fibra cruda contribuye de manera esencial al controlar el tránsito intestinal, las deposiciones y reducir niveles de colesterol, con una ingesta suficiente de fibra, una serie de enfermedades intestinales como el estreñimiento, diverticulosis, hemorroides, cáncer de colon o colitis ulcerosa tienen una incidencia mucho menor (Vilaplana, 2001); además, en el amaranto tenemos principalmente minerales como Ca y Fe (Mapes, 2015).

La grasa no tuvo diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ ), pero la muestra seleccionada tuvo mayor porcentaje, probablemente por el mayor contenido de grasa en el amaranto, estos aceites se consideran como una fuente rica en escualeno, que se aproxima a los contenidos reportados para el aceite de tiburón (Rodas y Bressani, 2009). El escualeno es importante en la reducción del daño oxidativo por radicales libres en la piel, además de otros órganos (Ronco, 2009).

**Evaluación de la calidad nutrimental**

Los resultados de los factores nutrimentales de los productos (pan control y el pan de la formulación seleccionada) se muestran en la tabla IV.

**Tabla IV.** Evaluación de los factores nutrimentales del pan danés control y el seleccionado

Muestra	Digestibilidad <i>in vitro</i> %	Triptófano g Trp/ 100 g Proteína	Almidón Total %	Almidón Digerible %
Control	85.18± 1.16 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.29 <sup>a</sup>	44.68 ± 0.09 <sup>a</sup>	42.02 <sup>a</sup>
Formulación seleccionada	87.44± 1.3 <sup>a</sup>	0.57 ± 0.01 <sup>a</sup>	47.2 ± 0.9 <sup>a</sup>	44.9 <sup>a</sup>

\*Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa (P≤ 0.05)

En la evaluación nutrimental se pudo observar que no hubo diferencia estadísticamente significativa (P≤0.05) en los diferentes parámetros evaluados entre la muestra control y la seleccionada, sin embargo, se observan valores ligeramente mayores en la formulación seleccionada (digestibilidad *in vitro*, triptófano, almidón total y almidón digerible). La digestibilidad fue buena, pues se considera que valores mayores al 80% son valores adecuados para alimentos elaborados a base de cereales (FAO/OMS/ONU, 1985); el almidón digerible es bajo en ambos productos evaluados, esto es benéfico porque el aumento en el índice glucémico por el consumo de estos productos es bajo.

Por otro lado, los resultados de la digestibilidad *in vivo* y de la relación de eficiencia proteica (PER) del pan danés seleccionado se muestran en la tabla V.

**Tabla V.** Evaluación de la digestibilidad *in vivo* y la relación de eficiencia proteica (PER) del pan danés control y seleccionado

Muestra	Digestibilidad <i>in vivo</i> %	PER ajustado
Formulación seleccionada	92.94 ±1.61	1.93

Según Friedman (1996) al obtener un valor de PER de 1.5 - 2 se considera una proteína de buena calidad nutrimental, por otro lado, según López (2021) el PER ajustado de la harina de trigo fue de 0.83, es decir, la proteína del pan seleccionado fue de buena calidad, con un valor de PER de más del doble que la harina de trigo del pan control.

La FAO ha establecido que una baja digestibilidad se considera a un valor de 75% o menor; la digestibilidad de la formulación seleccionada fue de 92.94% lo que permite considerarla como alta digestibilidad (Quesada & Gómez, 2019).

### Evaluación de la calidad funcional

Los parámetros evaluados para determinar la calidad funcional de los productos (pan control y el pan de la formulación seleccionada) se muestran en la tabla VI.

**Tabla VI.** Evaluación de los factores funcionales del pan danés control y seleccionado

<b>Muestra</b>	<b>Capacidad antioxidante</b> %	<b>Fenoles</b> mg EAG/g muestra	<b>Almidón Resistente</b> %	<b>Fibra Dietética</b> %
<b>Control</b>	39.94±0.34 <sup>a</sup>	1.46±0.07 <sup>a</sup>	2.64±0.11 <sup>a</sup>	7.86±0.48 <sup>a</sup>
<b>Formulación seleccionada</b>	77.75±1.08 <sup>b</sup>	3.25±0.08 <sup>b</sup>	2.3±0.1 <sup>a</sup>	13.69±0.5 <sup>b</sup>

\*Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ )

En los valores obtenidos de capacidad antioxidante hubo diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre el pan control y el seleccionado, siendo el doble en la formulación seleccionada; esto podría deberse a que en el amaranto se ha reportado la presencia de componentes antioxidantes como el escualeno y la Rutina, siendo ambos, potentes antioxidantes, y este último también antimicrobiano y fungicida (Algara *et al.*, 2013).

Los fenoles también tuvieron diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ ), siendo el doble en la formulación seleccionada. En el amaranto se encuentran fenoles en forma libre y unidos a proteínas (Rodríguez, 2016). Su posible presencia en el producto seleccionado es buena porque, se les atribuyen efectos como antioxidantes, antiestrogénicos, antiproliferación celular, así como su posible utilidad como antibiótica, antialérgico, antidiarreico, antiúlceras y como agentes antiinflamatorios (Vinson *et al.*, 1998).

La fibra dietética tuvo una diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ ), debido a que la formulación seleccionada fue casi 2 veces mayor que el control; En general, la fibra dietética de amaranto está compuesta por xiloglucanos y polisacáridos pécticos (Sisti, 2020), además tiene abundantes beneficios a nuestra salud como controlar el tránsito intestinal, las deposiciones y reducir niveles de colesterol, con una ingesta suficiente de fibra, una serie de enfermedades intestinales como el estreñimiento, diverticulosis, hemorroides, cáncer de colon o colitis ulcerosa tienen una incidencia mucho menor. Asimismo, algunas enfermedades metabólicas como la diabetes o la hiperlipidemia pueden prevenirse y regularse (Vilaplana, 2001).

### Prueba sensorial de nivel de agrado

En una prueba de aceptabilidad se consideran resultados buenos a una calificación mayor o igual a 8 y una aceptabilidad mayor o igual al 80% (Chambers & Baker, 1996). La calificación promedio obtenida en la prueba de nivel de agrado fue de 8, considerado un muy buen resultado, además de los comentarios positivos que obtuvo la muestra cómo; la presentación, color y sabor que en general fueron agradables. Por otro lado, la aceptación fue alta, de un 82% por lo que se pudiera esperar una buena reacción del consumidor si el producto se llegara a comercializar.

## CONCLUSIONES

La adición de un 50% de harina integral de amaranto al pan dulce tipo danés logro un producto con una mejor calidad nutrimental y funcional que la formulación control, elaborada solo con harina de trigo, porque tuvo mayor contenido de proteínas, ceniza y fibra, una alta digestibilidad *in vivo* y valor de PER; además tuvo mayor capacidad antioxidante, fenoles totales y fibra dietética. Por último, se logró obtener un producto con una muy buena calificación y aceptación por parte del consumidor con lo que se puede considerar su posible comercialización.

## AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado con el apoyo del proyecto PAPIME-200522 de la DGAPA, UNAM.

## BIBLIOGRAFÍA

- A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edition, Association of Official Analytical Chemist, Washington DC.
- A.O.A.C., 2005. Official Methods AOAC 925.09, 920.39, 954.01, 923.03, 989.03 y 960.48. In: Official Methods of Analysis, International Gaithersburg, 18th Ed.
- Acevedo I., García O., Acevedo I. & Perdomo C. 2007. Valor nutritivo de bleado (*Amaranthus spp.*) identificado en el municipio Morán, estado Lara. *Agrollanía*, 4, 77-93.
- Algara Suaréz Paola, Gallegos Martínez Josefina & Reyes Hernández Jaime (2013). Amaranto: efectos en la nutrición y la salud. *Revista Académica de Investigación*, 12(1), 1-21.
- Arellano Mirta L., Albarracín, G., Fernández, S., Arce, S. & Mucciarelli, S. 2004. Estudio comparativo agronómico y nutricional de dos especies de amarantos. *Phyton*, 73, 199-203.
- Chambers V, E. & Baker, M. 1996. Sensory Testing Methods. Conshohoken, Pensilvannya, EEUU: ASTM International.
- Cunniff, P. M. Fossey, S. A., Auerbach, M. A., & Song, J. W. 1994. Mechanical properties of major ampulate gland silk fibers extracted from *Nephila clavipes* spiders. In ACS symposium series, 544, 234-251.
- Da Silva M.C. & Selma R.P. 2012. Antioxidant activity and flavonoid content of *Clusia fluminensis*. Planch & Triana. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* 85(3), 609-616.
- FAO/OMS/UNU. 1985. Necesidades de energía y proteínas. OMS., Ginebra. Serie de informes técnicos No. 724.
- Friedman, M. 1996. Nutritional value of proteins from different food sources. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1), 6-29
- Goñi I., L. García E., Mañas & F. Saura-Calixto. 1996. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. *Food chemistry*. 56(4), 445-449.
- Goñi I., L. García E. & F. Saura-Calixto. 1997. Starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*, 17(3), 427-437.
- Hsu H. W., Vavak D.L., Satterlee L.D. & Miller G.A. 1977. A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *Journal of Food Science*, 42, 1269-1275.
- INEGI. 2019. Características de las defunciones registradas en México en 2019. Recuperado: diciembre 2021. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2020/EstSociodemo/DefuncionesRegistradas2019.pdf>
- Isserlyska, D., Karadjov, G. y Angelov, A. 2001. Mineral compositions of Bulgarian wheat bread. *European Food Research and Tecnology*, 213(3), 244-245.

- León, A., Duran, E. & Benedito De Barber, C. 1997. A new approach to study changes occurring in the dough-baking process and during bread storage. *Zeitschrift fur Lebensmitteluntersuchung und Forschung A.*, 204(4), 316-320.
- López Sánchez Diana, 2021. Elaboración de un dulce tradicional “muégano” con harinas de trigo y amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*). Tesis de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos, UNAM, México; 73.
- Mapes Sánchez C.E. (2015). El amaranto. *Revista Ciencia*, 66(3), 9-15.
- Montero Quintero Keyla Carolina, Moreno Rojas Rafael, Molina Edgar Alí, Segundo Colina Máximo & Sánchez Urdaneta Adriana Beatriz. 2015. Evaluación de panes enriquecidos con amaranto para regímenes dietéticos. *Interciencia*, 40(7), 473-478.
- Olivares, E. & Peña, E. 2009. Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela y utilizado en alimentación. *Interciencia*, 34(9), 604-611.
- Quesada D. & Gómez G., 2019. ¿Proteínas de origen vegetal o de origen animal?: Una mirada a su impacto sobre la salud y el medio ambiente. *Revista de Nutrición Clínica y Metabolismo*, 2(1), 79-86.
- Rama, M., Tara, R. & Krishnan, C., 1974. Colorimetric estimation of tryptophan content of pulses. *Journal Food Science and Technology*. 11, 213-216.
- Ramírez Navas, J.S. 2012. Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. *Revista ReCiTeIA*, 12(1), 89-90.
- Rodas Brenda & Bressaani Ricardo. 2009. Contenido de aceite, ácidos grasos y escualeno en variedades crudas y procesadas de grano de amaranto. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59(1), 82-87.
- Rodriguez Mariela. 2016. Polifenoles de amaranto: Efecto de la digestión gastrointestinal. III Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología, 278.
- Ronco L. Alvaro. 2009. Usos potenciales del escualeno. *Tendencias en Medicina*. 1(1), 95-100.
- Shewry, P. R., D'Ovidio, R., Lafiandra, D., Jenkins, J. A., Mills, E. N. C., & Békés, F. 2009. Wheat grain proteins. In K. Khan and P. R. Shewry (Eds.), *Wheat Chemistry and Technology*, 2, 223-249.
- Sisiti Sebastian Martín. 2020. Proteínas y fibra de amaranto: Actividad sobre el metabolismo de colesterol. Tesis doctoral. Universidad Nacional de la planta, Argentina, 29.
- Valadez M., E. M.L. Ortega, A. Carballo & L. Fucikovsky. 1990. Flavonoides de la testa del frijol como inhibidores de dos bacterias fitopatógenas. *Agrociencia, Serie Protección Vegetal*, 1 (2), 75-91.
- Vilaplana Montse. 2001. Aspectos nutricionales y terapéuticos de la fibra dietética. *ELSEVIER*, 20(2), 96-101.
- Vinson JA, Hao Y, Su X, Zubik L. 1998. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46 (9), 3630-3634.



## Características fisicoquímicas y sensoriales de productos extruidos y expandidos por microondas elaborados de maíz azul, espinacas y frijol negro

Neder-Suárez D<sup>1\*</sup>, Vázquez Rodríguez J.A<sup>2</sup>, Rodríguez-Roque M.J.<sup>3</sup>, Hernández-Ochoa L.R<sup>1</sup>, Sánchez-Madrigal M.A, Amaya-Guerra C.A<sup>4</sup>, Quintero-Ramos A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Circuito Universitario S/N Campus Universitario 2, Chihuahua, Chihuahua 31125, México.

<sup>2</sup>Facultad de Salud Pública y Nutrición, Universidad Autónoma de Nuevo León, Dr. Eduardo Aguirre Pequeño 905, Mitras Centro, Monterrey, N.L. 64460, México

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Av. Universidad S/N Sede 1, Chihuahua, 31310 México.

<sup>4</sup>Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L. 66450 México. \*dneder@uach.mx.

### RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar las características fisicoquímicas y sensoriales de una botana de tercera generación (3G) elaborada a base de maíz azul, frijol negro y espinacas. Esta botana se elaboró mediante proceso de extrusión-cocción y posteriormente una expansión utilizando calentamiento por microondas. Para el experimento se utilizó una mezcla base de maíz azul, espinacas y proporciones de frijol negro (33, 22 y 11%), se utilizó una condición de procesamiento de extrusión a 122°C, 29% de humedad y una velocidad de tornillo de 111 rpm. Los extruidos obtenidos se les determinó el índice de expansión (IE), densidad aparente (DA), dureza y contenido de antocianinas totales (AT) antes y después de la expansión con microondas además de una evaluación sensorial de los tratamientos. Los resultados mostraron que IE, DA y dureza se disminuyeron con la adición de frijol negro antes y después de la expansión con microondas. A pesar del proceso de extrusión el contenido de antocianinas se conserva en un 58.9% en las tres formulaciones a base de frijol negro. El análisis sensorial no mostro diferencia significativa en aceptabilidad entre las formulaciones y una botana elaborada de maíz azul.

**Palabras clave:** Maíz azul, frijol negro, extrusión-cocción, calentamiento por microondas, antocianinas, botanas de tercera generación.

### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the physicochemical and sensory characteristics of a third-generation (3G) snack made from blue corn, black beans, and spinach. 3G snack was elaborated by extrusion-cooking process and microwave expansion. A mixture of blue corn and spinach and different levels of black beans (33, 22, and 11%) were used, and processing by extrusion at 122 °C, with 29% moisture content and a screw speed of 111 rpm. The expansion index (EI), bulk density (BD), hardness, and total anthocyanin content (TAC) were determined in extruded and expanded products, in addition, a sensory evaluation was carried out. The results showed that EI, BD, and hardness decreased with the addition of black beans during the extrusion process and after microwave expansion. Despite undergoing thermal processes, anthocyanin retention was high at 58.9% in black bean-based formulations. The sensory analysis showed no significant difference in acceptability between the formulations and a snack made from blue corn.

## INTRODUCCIÓN

El consumo de botanas ha experimentado un aumento ya que proporciona la sensación de que el apetito del consumidor está satisfecho de manera rápida y económica. Muchas botanas se clasifican como comida chatarra debido a su bajo contenido de nutrientes, alto contenido de conservantes y la presencia de otros ingredientes que se sabe que son dañinos para la salud del consumidor. Las botanas tradicionales se caracterizan por ser alimentos ligeros, pequeños y listos para comer. Sin embargo, existen desventajas en el consumo y producción de este tipo de botanas, como alta degradación de compuestos presentes en las materias primas, altos contenidos de grasas y sodio y bajo contenido de nutrientes. Sin embargo, algunos bocadillos están formulados con ingredientes saludables y nutritivos.

Una alternativa a las botanas tradicionales son las botanas de tercera generación (3G), conocidas así debido a que no están listas para su consumo directo ya que deben pasar por proceso de expansión o cocción antes de que puedan consumir (Delgado-Nieblas et al., 2019, Camacho et al., 2014). La ventaja que tienen las botanas 3G sobre las botanas tradicionales directamente expandidas, son menor espacio de almacenamiento y una mejor conservación de la calidad del compuesto activos (Camacho et al., 2014; Ruiz-Armenta et al., 2019). Las botanas comerciales tradicionales se producen principalmente a partir de almidones de maíz, trigo, y papa, sin ofrecer una calidad nutricional adecuada o beneficios para la salud. La incorporación de frijol como ingrediente es un área de oportunidad por su alto contenido en proteínas, fibra y carbohidratos complejos. El frijol es una leguminosa que aporta una cantidad importante de lisina y su incorporación a las mezclas con cereales ha mejorado el perfil de aminoácidos (Estrada-Girón et al., 2014; Messina, 2014) ayudando a una mejor nutrición. Algunas variedades de frijoles y maíces pigmentados, como los negros y morados, tienen una gran cantidad de fitoquímicos, entre los cuales se encuentran las antocianinas. Las antocianinas son un grupo importante de pigmentos fenólicos y el grupo más importante de pigmentos solubles en agua que son responsables de los colores naranja / rojo y violeta / azul en cereales, frutas, verduras y raíces y tubérculos. Además, han sido estudiadas y demostrado que brindan beneficios a la salud ya que puede prevenir trastornos metabólicos y mostró efectos anti proliferativos en cáncer (Herrera-Sotero et al., 2019).

La tecnología más importante en la producción de botanas 3G es el proceso de extrusión-cocción, el cual ofrece ventajas: ya que es un proceso continuo con tiempos de procesamiento cortos, alta productividad y eficiencia energética (Delgado-Nieblas et al., 2019, Camacho et al., 2014; Ruiz-Armenta et al., 2019). Estas botanas se pueden preparar para el consumo mediante diferentes procesos, como freír, aire caliente o calentar en microondas. El proceso de microondas tiene las ventajas de realizar el calentamiento y expandir los alimentos, además de ser una técnica rápida, conveniente y barata (Camacho et al., 2014, Ruiz-Armenta et al., 2019).

El uso de frijol pigmentando como el frijol negro en botanas de tercera generación a base de maíz azul, es una oportunidad para mejorar no solo las propiedades nutricionales, sino además el perfil fitoquímico de estos productos. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del proceso por extrusión bajo una condición óptima en las propiedades fisicoquímicas, texturales y sensoriales de una botana de tercera generación a base de maíz azul y espinacas con diferentes proporciones de frijol negro expandidas por calentamiento por microondas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales

Para la realización de este estudio se utilizó maíz azul (*Zea mays L.*) de la Sierra Tarahumara de Chihuahua, frijol negro bola (*Phaseolus vulgaris L.*) y acelgas adquiridas del mercado local Chihuahua, México, las cuales fueron deshidratadas a 40°C por 6 horas. Todos los materiales fueron molidos y tamizados a malla (400  $\mu\text{m}$ ).

### Mezclas a extrudir.

Se utilizaron tres mezclas para realizar el proceso de extrusión a una condición optimizada de 122°C, 29% de humedad y una velocidad de tornillo de 111 rpm (Neder-Suarez et al., 2021). MF1: 67% (maíz azul-99% y 1% espinaca) y 33 % frijol negro, MF2: 78% (maíz azul-99% y 1% espinaca) y 22 % frijol negro y MF3: 89% (maíz azul-99% y 1% espinaca) y 11 % frijol negro. A estas mezclas se les determino el contenido de proteína de acuerdo a la metodología 920.152 (AOAC, 1998). La expansión de los extrudidos se realizó utilizando un microondas (Sharp modelo R-501CW, 1000 W) por un tiempo de 23 s.

### Índice de expansión de los extrudidos

El IE se calculó de acuerdo al método de Delgado-Nieblas et al., (2019) dividiendo el diámetro del extrudido entre el diámetro del orificio del dado de salida del extrusor (2mm).

### Determinación de antocianinas totales

Se utilizó la técnica de Sánchez-Madrigal et al., (2014) con modificaciones. Para ello se pesó 2.0 g de muestra y se añadió 10 mL de metanol acidificado (85:15 v/v de metanol/HCl 1N). Se agitó durante 30 min con un agitador magnético a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugará a 3200 g por 15 min en una centrífuga (Thermo IEC modelo Centra CL3-R). El contenido de antocianinas totales se expresó (mg cianidina 3-glucósido (C<sub>3</sub>G) /100 g).

### Textura de extruidos

La dureza de las muestras se determinó usando un texturometro TA / XT2 (Stable Micro-Systems, Surrey, Inglaterra). Las muestras se ajustaron a un tamaño de longitud de 30 mm y se colocaron horizontalmente con un aditamento de flexión de tres puntos, posteriormente se comprimieron a una velocidad de 0.05 mm/s a una distancia de 10 mm, utilizando un émbolo de 5 mm de diámetro. Se evaluaron veinte medidas de cada tratamiento.

### Análisis sensorial

La evaluación sensorial de las botanas de tercera generación se realizará a 40 panelistas no entrenados mayores de 18 años (ambos sexos), a quienes les gusta consumir este tipo de productos. Una prueba de aceptabilidad general de 7 puestos fue aplicada en las muestras según la metodología descrita por Delgado-Nieblas et al. (2018).

### Análisis estadístico

Los datos obtenidos de los diferentes análisis se sometieron a un análisis de varianza. Las diferencias entre las medias se evaluarán utilizando la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) para las comparaciones.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Caracterización de materia prima*

La composición proximal de las materias primas utilizadas para la producción de las botas 3G se muestra en la Tabla 1. La composición próxima de maíz azul y frijol negro es consistente con valores reportados previamente (Escalante-Aburto et al., 2013; Camacho-Hernández et al., 2014). Los valores más altos de proteína se presentaron en la espinaca y el frijol negro respectivamente. El contenido de proteína de las muestras a extrudir fue de MF1:11.35%, MF2: 10.59% y MF3: 9.35%. El incremento en el contenido de proteína fue influenciado principalmente por la participación de harina de frijol negro.

**Tabla 1.** Análisis proximal de las materias primas.

	Humedad (%)	Grasa (%)	Cenizas (%)	Fibra cruda (%)	Proteína (%)	Carbohidratos (%)
Maíz azul	10.99 ± 0.07	5.95 ± 0.35	1.20 ± 0.16	2.02 ± 0.18	6.42 ± 0.07	73.39 ± 0.44
Frijol negro	11.02 ± 0.30	0.97 ± 0.11	4.02 ± 0.10	3.37 ± 0.16	17.72 ± 0.14	62.78 ± 0.49
Espinaca	10.45 ± 0.11	1.28 ± 0.14	21.35 ± 0.34	10.56 ± 0.38	28.12 ± 0.45	28.24 ± 0.74

Los valores son el promedio de mediciones por triplicado ± desviación estándar.

### *Índice de expansión*

El índice de expansión es un indicador físico clave de la calidad de las botanas de tercera generación ya que este determina la aceptación por parte del consumidor. Los valores expansión de las botanas extruidas y expandidas por microondas se muestran en la Tabla 2. Los valores del IE estuvieron entre 1.20 a 1.24 durante la extrusión y de 1.94 a 2.15 después del calentamiento por microondas. Después del proceso de extrusión a condiciones óptimas, ninguno de los tratamientos presento diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), sin embargo, se aprecia una tendencia a incrementar el IE a menor contenido de proteína (Tabla 1).

Después de la expansión con microondas, el valor más bajo de expansión se generó en el tratamiento MF1(EM), el cual contiene menor contenido de proteína (11.35%), esto se puede deber ya que, al contener menor almidón en su formulación, el mayor contenido de fibras inertes tiende a ser rígidas y causar la ruptura de las paredes celulares y evitar que las burbujas de aire se expandan al nivel máximo (Pérez Ramos et al., 2017). El aumento de los niveles de contribuye a la unión y durabilidad del producto extruido incrementando la expansión de las botanas extruidas. este Durante el calentamiento por microondas existe formación de burbujas de aire debido un aumento de presión dentro del producto como resultado de la evaporación de agua contenida dentro de las botanas (Camacho-Hernández et al., 2004; Delgado-Nieblas et al., 2019; Ruiz -Armenta et al., 2019). Al realizar la comparación con una botana a base de maíz azul, el tratamiento MF3(EM) con el contenido de proteína menor no generó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), lo que indica que la concentración de frijol afecta la expansión de las botanas.

### *Densidad aparente*

Un parámetro importante es la densidad, la cual es medida para un control de calidad en productos extruidos Las botanas que presentan una baja densidad se caracterizan por tener estructuras bien expandida, conformadas por células grandes y paredes delgadas (Pérez Ramos et al., 2017). La densidad está inversamente relacionada con el grado de expansión y, por tanto, con el grado de gelatinización del almidón, bajos valores de IE generan altas DA (Tovar-Jiménez et al., 2015). La

densidad se vio incrementada en las formulaciones que presentaban mayor concentración de proteína en la mezcla a extrudir, la muestra MF1 genero el mayor valor de DA mientras que MF3 el menor valor (Tabla 2). Después del proceso de expansión por microondas se observó una tendencia similar a la generada durante la extrusión. El control MAZ (EM) después de la expansión por microondas mostro diferencia ( $p < 0.05$ ) con los tratamientos con adición de frijol negro generando el menor valor de DA, esto posiblemente a que no contenido frijol en su formulación, lo cual no limito su expansión.

**Tabla 2.** Propiedades fisicoquímicas y texturales de botanas de tercera generación

	IE	DA	Dureza (N)	AT
MF1	1.20 ± 0.04 <sup>a</sup>	1329.44 ± 41.57 <sup>a</sup>	8.22 ± 1.24 <sup>a</sup>	37.72 ± 0.12 <sup>a</sup>
MF2	1.22 ± 0.04 <sup>ab</sup>	1303.3 ± 62.2 <sup>ab</sup>	7.10 ± 1.29 <sup>b</sup>	32.85 ± 0.35 <sup>b</sup>
MF3	1.24 ± 0.04 <sup>ab</sup>	1282.06 ± 50.93 <sup>b</sup>	6.57 ± 1.23 <sup>bc</sup>	28.71 ± 0.33 <sup>c</sup>
MAZ	1.30 ± 0.18 <sup>a</sup>	1337.7 ± 51.5 <sup>a</sup>	6.01 ± 1.00 <sup>c</sup>	28.11 ± 0.23 <sup>c</sup>
	IE	DA	Dureza (N)	AT
MF1 (EM)	1.94 ± 0.10 <sup>c</sup>	392.6 ± 51.7 <sup>a</sup>	3.13 ± 0.74 <sup>a</sup>	25.41 ± 0.17 <sup>b</sup>
MF2 (EM)	2.09 ± 0.06 <sup>b</sup>	306.68 ± 28.17 <sup>b</sup>	2.84 ± 0.48 <sup>a</sup>	26.36 ± 0.25 <sup>a</sup>
MF3(EM)	2.15 ± 0.10 <sup>ab</sup>	293.03 ± 43.06 <sup>b</sup>	3.09 ± 0.53 <sup>a</sup>	25.02 ± 0.20 <sup>b</sup>
MAZ (EM)	2.22 ± 0.12 <sup>a</sup>	266.14 ± 39.86 <sup>b</sup>	1.91 ± 0.46 <sup>b</sup>	25.25 ± 0.15 <sup>b</sup>

Medias con letras distintas en la misma columna, dentro de cada grupo son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ). MF1: (67% (maíz azul-99% y 1% espinaca) y 33 % frijol negro); MF2: (78% (maíz azul-99% y 1% espinaca) y 22 % frijol negro); MF3: (89% (maíz azul-99% y 1% espinaca) y 11 % frijol negro); EM: expansión con microondas; IE: índice de expansión; DA: densidad aparente ( $\text{kg/m}^3$ ), AT: antocianinas totales ( $\text{mg C}_3\text{G} / \text{kg}$ )

#### Textura de botanas extruidas

La textura de productos extruidos es representando como el parámetro de dureza, el cual representa la fuerza máxima que presenta el producto extruido antes del quiebre y es una de las características más importante de calidad y de aceptabilidad por parte del consumidor. En general, la dureza está inversamente relacionada con los valores de expansión en un producto extruido. Altos valores de expansión generaran valores bajos de dureza y de densidad en los productos (Tovar-Jiménez et al., 2015; Ruiz-Armenta et al., 2018). En este estudio el contenido de proteína afecto la expansión después de proceso de extrusión y expansión en microondas. Pérez Ramos et al. (2017) reporto que el incremento en el contenido de proteína y la reducción del contenido de almidón genera mayor dureza en los productos extruidos. En este estudio se encontró resultados similares ya que tratamiento MF1 genero la mayor dureza siendo significativamente diferente ( $p < 0.05$ ) a los tratamientos MF2 y MF3 (Tabla 1). Después del proceso de expansión ningún tratamiento presento diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre ellos. El tratamiento MAZ genero el menor valor de dureza 1.91 N ya que no se le adiciono frijol negro para su procesamiento, este comportamiento fue similar a lo encontrado por Pérez Ramos et al. (2017) y Zhoe et al. (2021).

#### Antocianinas totales (AT)

Las antocianinas son un grupo importante de pigmentos fenólicos que son responsables del color violeta/azul en cereales, verduras, raíces y tubérculos (Escalante-Aburto et al. 2014), además pueden proporcionar beneficios a la salud por su alta actividad biológica. El AT para maíz azul y frijoles negros fue 70.87 y 54.71  $\text{mg C}_3\text{G} / \text{kg}$  respectivamente. La mezcla genero un valor promedio de 57.87  $\text{mg C}_3\text{G} / \text{kg}$ . Después del proceso de extrusión en condiciones óptimas, todos los tratamientos

disminuyeron, esto pudo atribuirse al daño causado por la fuerza de cizallamiento y el calor durante la extrusión, provocando una reducción del contenido de antocianinas ((Delgado-Nieblas et al. 2019; Menchaca-Armenta et al. 2020). El valor más alto de AT se generó en el tratamiento MF1 y significativamente diferente ( $p < 0.05$ ) a los tratamientos MF2 y MF3 (Tabla 1). Después de la expansión por microondas una reducción es producida, generando valores de 25.02 a 26.36 mg C<sub>3</sub>G/kg, esta reducción en TA se debió a productos de degradación durante la expansión, por aumento de la temperatura del material, rompiendo así los enlaces moleculares de compuestos bioactivos sensibles a la temperatura (Delgado-Nieblas et al. 2019; Ruiz - Armenta et al., 2019). A pesar de la reducción en el contenido de AT después de los procesos térmicos se logró una retención del 44.2% en promedio en las botanas 3G.

### *Análisis sensorial*

El análisis sensorial se llevó mediante una prueba de aceptabilidad general de las botanas de tercera generación de las formulaciones MF1, MF2 y MF3 comparándolas con una botana a base de maíz azul como control. El análisis de varianza mostro que no se generó diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre las muestras con adición de frijol y la muestra MAZ (Tabla 3). Este resultado es satisfactorio ya que, a pesar de elevar el contenido de proteína, este no afecto la aceptabilidad de los consumidores. En términos de aceptabilidad general, el resultado de la evaluación sensorial mostro que aproximadamente el 59% de los panelistas indicaron un grado de aceptación arriba de una aceptación regular escala (5) en los tratamientos con adición de frijol negro.

## **CONCLUSIÓN**

Estos resultados indican que es posible la producción de botanas 3G de calidad con niveles altos de antocianinas y adecuadas propiedades físicas elaboradas a base de maíz azul, frijoles negros y acelgas mediante proceso combinatorio de extrusión y expansión por microondas. Estas botanas con adición de frijol negro generaron propiedades físicas y químicas similares a una elaborada a partir de maíz azul. Las botanas 3G generaron una retención de antocianinas después del proceso de expansión por microondas del 44.2%, lo que podría generar posibles beneficios para la salud. El análisis sensorial mostro que la adición de frijol negro no afecta la aceptación general de los consumidores de este tipo de productos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Camacho-Hernández, I. L., Zazueta-Morales, J. J., Gallegos-Infante, J. A., Aguilar-Palazuelos, E., Rocha-Guzmán, N. E., Navarro-Cortez, R. O., & Gómez-Aldapa, C. A. (2014). Effect of extrusion conditions on physicochemical characteristics and anthocyanin content of blue corn third-generation snacks. *CyTA-Journal of Food*, 12(4), 320-330.
- Delgado-Nieblas, C. I., Zazueta-Morales, J. J., Aguilar-Palazuelos, E., Jacobo-Valenzuela, N., Aguirre-Tostado, F. S., Carrillo-López, A., & Telis-Romero, J. (2018). Physical, microstructural and sensory characteristics of extruded and microwave-expanded snacks added with dehydrated squash. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 17(3), 805-821.
- Delgado-Nieblas, C., Ruiz-Beltrán, K., Sánchez-Lizárraga, J., Zazueta-Morales, J. D. J., Aguilar-Palazuelos, E., Carrillo-López, A., & Quintero-Ramos, A. (2019). Effect of extrusion on physicochemical, nutritional and antioxidant properties of breakfast cereals produced from bran and dehydrated naranjita pomace. *CyTA-Journal of Food*, 17(1), 240-250.
- Escalante-Aburto, A., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P. I., López-Cervantes, J., Figueroa-Cárdenas, J. D. D., Barrón-Hoyos, J. M., & Gutiérrez-Dorado, R. (2014). Obtaining ready-to-eat blue corn expanded snacks with anthocyanins using an extrusion process and response surface methodology. *Molecules*, 19(12), 21066-21084.

- Estrada-Girón, Y., Aguilar, J., Morales-del Rio, J. A., Valencia-Botin, A. J., Guerrero-Beltrán, J. A., Martínez-Preciado, A. H., & Fernández, V. V. A. (2014). Effect of moisture content and temperature, on the rheological, microstructural and thermal properties of masa (dough) from a hybrid corn (*Zea mays* sp.) variety. *Revista mexicana de ingeniería química*, 13(2), 429-446.
- Herrera-Sotero, M. Y., Cruz-Hernández, C. D., Oliart-Ros, R. M., Chávez-Servia, J. L., Guzmán-Gerónimo, R. I., González-Covarrubias, V., & Rodríguez-Dorantes, M. (2020). Anthocyanins of blue corn and tortilla arrest cell cycle and induce apoptosis on breast and prostate cancer cells. *Nutrition and Cancer*, 72(5), 768-777.
- Menchaca-Armenta, M., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P. I., Quintero-Ramos, A., Ledesma-Osuna, A. I., Frutos, M. J., & Morales-Rosas, I. (2020). Effect of extrusion conditions on the anthocyanin content, functionality, and pasting properties of obtained nixtamalized blue corn flour (*Zea mays* L.) and process optimization. *Journal of Food Science*, 85(7), 2143-2152.
- Messina, V. (2014). Nutritional and health benefits of dried beans. *The American journal of clinical nutrition*, 437S-442S.
- Neder-Suárez, D., Quintero-Ramos, A., Meléndez-Pizarro, C. O., de Jesús Zazueta-Morales, J., Paraguay-Delgado, F., & Ruiz-Gutiérrez, M. G. (2021). Evaluation of the physicochemical properties of third-generation snacks made from blue corn, black beans, and sweet chard produced by extrusion. *LWT*, 146, 111414.
- Pérez Ramos, K., Elías Peñafiel, C., & Delgado Soriano, V. (2017). Bocadito con alto contenido proteico: un extruido a partir de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.), tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) y camote (*Ipomoea batatas* L.). *Scientia Agropecuaria*, 8(4), 377-388.
- Ruiz-Armenta, X. A., Zazueta-Morales, J. D. J., Delgado-Nieblas, C. I., Carrillo-López, A., Aguilar-Palazuelos, E., & Camacho-Hernández, I. L. (2019). Effect of the extrusion process and expansion by microwave heating on physicochemical, phytochemical, and antioxidant properties during the production of indirectly expanded snack foods. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(12), e14261.
- Sánchez-Madrigal, M. Á., Quintero-Ramos, A., Martínez-Bustos, F., Meléndez-Pizarro, C. O., & Ruiz-Gutiérrez, M. G. (2014). Effect of different calcium sources on the antioxidant stability of tortilla chips from extruded and nixtamalized blue corn (*Zea mays* L.) flours. *Food Science and Technology*, 34(1), 143-149.
- Tovar-Jiménez, X., Aguilar-Palazuelos, E., Gómez-Aldapa, C. A., & Caro-Corrales, J. J. (2016). Microstructure of a third generation snack manufactured by extrusion from potato starch and orange vesicle flour. *J. Food Process. Technol*, 7, 1-6.
- Zhou, R., Mitra, P., Melnychenko, A., & Rizvi, S. S. (2021). Quality attributes and rheological properties of novel high milk protein-based extrudates made by supercritical fluid extrusion. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(8), 3866-3875.

## Elaboración de conchas con harina de trigo y chícharo.

López Méndez O. X<sup>1</sup>; Calvo Carrillo M.C<sup>1,2</sup>; Coronel Flores F<sup>1</sup>.

1. Universidad Anáhuac Campus Sur. Gastronomía. Avenida de los Tanques 865, Torres de Potrero, Álvaro Obregón. C.P. 01840, Ciudad de México.
2. Departamento de Nutrición Animal del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

### RESUMEN

Las leguminosas son semillas que presentan un buen aporte de vitaminas del complejo B, ácido fólico y hierro, este último al ser combinado con vitamina C mejora de forma importante su absorción, lo que las convierte en alimentos altamente recomendables para mujeres embarazadas y en periodo de lactancia. Actualmente la NOM-043 recomienda el consumo de leguminosas en combinación con cereales integrales en el plato del buen comer, en un esfuerzo para aumentar la ingesta de estas semillas entre la población. Debido a lo anterior, se ha utilizado una mezcla de harina de trigo y harina de chícharo (*Pisum sativum*) para la formulación del pan dulce estilo concha, ya que la harina de esta leguminosa es una fuente proteica de bajo costo y escasamente utilizada en la elaboración de productos de consumo masivo.

**Palabras clave:** Pan dulce, harina de chícharo, harina de trigo.

### ABSTRACT

Legumes are seeds that have a good supply of B vitamins, folic acid and iron, the latter, when combined with vitamin C, significantly improves its absorption, which makes them highly recommended foods for pregnant women and in the period of pregnancy and lactation. The NOM-043 currently recommends the consumption of legumes in combination with whole grains in the “*Plato del buen comer*”, to increase the intake of these seeds among the population. Due to the above, a mixture of wheat flour and pea (*Pisum sativum*) flour has been used for the formulation of shell-style sweet bread, since the flour of this legume is a low-cost source of protein and is rarely used in cooking. manufacture of mass consumption products.

**Keywords:** sweet bread, pea flour, wheat flour.



### INTRODUCCIÓN

Las leguminosas son semillas que presentan un buen aporte de vitaminas del complejo B, ácido fólico y hierro, este último al ser combinado con vitamina C mejora de forma importante su absorción, lo que las convierte en alimentos altamente recomendables para mujeres embarazadas y en periodo de lactancia. Por su alto contenido en fibra y su bajo índice glicémico se recomienda incluirlas en una dieta correcta para reducir los riesgos de desarrollar diabetes, sobrepeso y obesidad, aunque su principal interés en la actualidad es su aporte de proteínas, que, al ser consumidas en combinación con un cereal, aumenta de forma significativa el valor biológico de la misma. (Bonte, 2021)

Actualmente la NOM-043 recomienda el consumo de leguminosas en combinación con cereales integrales en el plato del buen comer, en un esfuerzo para aumentar la ingesta de estas semillas entre la población. (Secretaría de Gobernación, 2013)

En cuanto a la elaboración del pan, en los últimos años se ha visto un incremento en la industrialización en su proceso de elaboración, donde la mayor proporción del pan consumido en casa se elabora en grandes fábricas automatizadas que lo procesan en una fracción del tiempo empleado de forma tradicional, obteniendo panes con un interior blando y de aspecto parecido a un pastel, con una superficie sin corteza y un sabor estandarizado.

Al tiempo de este aumento en la industrialización del pan, se ha registrado un incremento en el consumo del pan elaborado de forma tradicional y con harinas integrales partir de la década de 1980, donde se le priorizó al desarrollo del sabor mediante procesos de fermentación más lentos y prolongados, acompañados por una cocción en lotes pequeños que favorecen el desarrollo de características sensoriales que los distinguen del producto elaborado de forma comercial. (McGee, 2017)

En la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) llevada a cabo en el periodo del 2018-2019 (Pineda, 2018) se identificó que México ha experimentado una transición alimentaria y nutricional caracterizada por el reemplazo del consumo de alimentos tradicionales por el de alimentos industrializados de alta densidad energética y baja calidad nutricional, lo que se ve reflejado en la disminución del gasto per cápita en alimentos recomendables como frutas, verduras, lácteos y carnes y en un mayor gasto en alimentos densos en energía, entre los que se marcan los cereales dulces, que incluyen en sus productos al pan de dulce.

A partir de esta encuesta, se ha reafirmado la evidencia sobre la asociación del consumo de cereales refinados, alimentos dulces y productos procesados con la ganancia de peso y enfermedades crónico-degenerativas, por lo que se ha recomendado no consumirlos de forma cotidiana. Por el contrario, el consumo constante de frutas, hortalizas y granos integrales se ha asociado con la disminución de presentar obesidad, sobrepeso y otras enfermedades crónicas, como síndrome metabólico y diabetes. (Pineda, 2018)

Aunque estas prácticas alimenticias están afectadas por una gran cantidad de variables como edad, sexo, nivel socioeconómico escolaridad, composición del hogar, entre otros, se ha identificado que es en las poblaciones urbanas del centro y norte del país donde más se consumen estos productos, mientras que, en las poblaciones rurales del sur, su consumo es relativamente menor. (Shamah-Levy et al, 2020)

En México, así como en gran parte del mundo, se ha identificado un interés creciente en el consumo de productos elaborados de forma artesanal, que de acuerdo a la “Encuesta sobre los hábitos de consumo de pan dulce de harina de trigo” llevada a cabo por la Profeco en el 2017, cerca del 50% de

los encuestados han adoptado el hábito de comprar y consumir el pan recién hecho en las panaderías tradicionales cerca de su hogar al menos 1 vez por semana, siendo el pan dulce conocido como concha, el pan que más se consume en la cena o la merienda. (PROFECO, 2017)

Debido a lo anterior, se ha utilizado una mezcla de harina de trigo y harina de chícharo (*Pisum sativum*) para la formulación del pan dulce estilo concha, ya que la harina de esta leguminosa es una fuente proteica de bajo costo y escasamente utilizada en la elaboración de productos de consumo masivo. Su incorporación a la harina de trigo, en la elaboración de productos panificados, ofrece una buena alternativa para complementar un perfil de aminoácidos, (Alasino, 2008) además de incrementar el contenido de fibra total y modificar de manera positiva las características sensoriales del producto.

Actualmente se ha utilizado en la formulación de diferentes pastas y galletas libres de gluten, mientras que en panificación se ha utilizado mezclada con la harina de trigo, donde se sustituye del 5% al 30% con respecto al peso total, con harina de chícharo, en específico, se ha observado que su sustitución en porcentajes del 10% al 20% en un pan blanco tipo baguette además de no presentar sensoriales desagradables, aumentaron no solo el porcentaje de proteína, un pan con un perfil de aminoácidos más completo y con un contenido mayor en fibra dietética que aquel elaborado solo con harina de trigo. (Calvo-Carrillo, 2020)

A continuación, se muestra en la Tabla 1, la composición de la harina de chícharo, los nutrimentos que contiene por cada 100 g y la IDR: (USA Dry Pea and Lentil Council, 2015)

<b>Tabla 1. Composición química de la harina de chícharo por cada 100 g</b>		
<b>Nutrimento</b>	<b>100 g</b>	<b>% IDR</b>
Calorías totales	365	
Calorías provenientes de lípidos	20	
Lípidos totales (g)	2.2	3
Grasa saturada (g)	0.0	
Ácidos grasos trans (g)	0.0	
Colesterol (mg)	0.0	
Sodio (mg)	15.0	1
Carbohidratos (g)	65.0	22
Fibra dietética (g)	25.5	102
Azúcares (g)	8.0	
Proteína (g)	23.5	47
Calcio (mg)	55.0	6
Hierro (mg)	4.4	25
Potasio (mg)	981.0	28
Zinc (mg)	3.0	20
Vitamina A (UI)	149.0	3
Vitamina C (mg)	1.8	3
Tiamina (mg)	0.7	48
Riboflavina (mg)	0.2	13
Niacina (mg)	2.9	14
Vitamina B6 (mg)	0.2	9
Folato (mcg)	274.0	69%

Tomando en cuenta la composición de la harina de chícharo, se puede observar que tiene un alto porcentaje de proteína y fibra dietética, además de ayudar en la complementación de los aminoácidos esenciales lisina y triptófano, de los que es deficiente la harina de trigo, por lo que la complementación con la harina de esta leguminosa puede ayudar a mejorar el valor nutrimental del pan.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Báscula digital (capacidad de 5 kg), recipientes de acero inoxidable, horno de pan (sin convección), raspa de plástico, charolas de horno, miserables de plástico, rodillo de plástico.

#### Insumos.

Harina de trigo blanca (*Triticum durum*), harina de chícharo (*Pisum sativum*), leche entera fresca, huevo, mantequilla, manteca vegetal, azúcar glas, azúcar estándar, levadura fresca (*Saccharomyces cerevisiae*), sal, esencia de vainilla.

#### Procedimiento de elaboración.

1. Mezclar la levadura, la leche, el agua, el huevo y la vainilla en un recipiente. Reposar 5 minutos.
2. Mezclar las harinas con la sal. Formar un “volcán” en una superficie lisa y comenzar a agregar los líquidos, amasando poco a poco hasta que se integren por completo.
3. Una vez que se tiene una masa sin grumos, se agrega el azúcar en 2 partes. Una vez que el azúcar se ha integrado por completo, se agrega la mantequilla en 2 partes igualmente.
4. Una vez que la masa se estira sin que se rompa, se bolea, se pasa a un bowl y se almacena en refrigeración cubierta con plástico.
5. La masa se debe reposar en refrigeración, a una temperatura de 4°C a 5°C durante 6 horas.
6. Mientras la masa reposa, se prepara la cobertura de la concha, acremando el azúcar glas y la manteca vegetal, seguida de la harina de trigo. Una vez que se ha mezclado por completo y tiene una consistencia suave, se reserva a temperatura ambiente hasta su uso.
7. Pasado el tiempo de reposo, la masa fermentada se divide en porciones de 80 gramos, que se deben de bolear<sup>1</sup> para darle forma y poner en una charola previamente engrasada y enharinada. Una vez lista, se debe cubrir con una porción de 20 gramos de la cobertura de azúcar, misma a la que se le puede dar forma circular con ayuda de un rodillo o de las manos.
8. Una vez la concha con su cobertura, se inicia la segunda fermentación. Este proceso se debe dar a una temperatura de 15°C a 25°C durante 90 minutos o hasta el pan haya doblado su volumen.
9. Pasado el tiempo de reposo se precalienta el horno hasta que alcance una temperatura de 180°C a 185°C.
10. Cuando el pan ya ha doblado su volumen, se mete al horno caliente por espacio de 15 a 18 minutos.
11. Una vez que el producto está listo, se saca del horno y se deja enfriar.

---

<sup>1</sup> Proceso de darle una forma redonda a la masa, como si fuera una “bola”.

La formulación de las conchas se muestra en las Tablas 2 y 3, siguiendo los lineamientos planteados de forma tradicional en panadería, donde se toma en cuenta el porcentaje de los ingredientes, en base al peso total de la harina y al peso total de la masa.

Tabla 2. Formulaciones de la masa de concha:				
Ingredientes	Lineamientos tradicionales en panadería (total de la harina).			
	Conchas (control %)	Conchas (10% sustitución) (%)	Conchas (15% sustitución) (%)	Conchas (20% sustitución) (%)
Harina de trigo	100	100	55.5	44.3
Harina de chícharo	0	10	15	20
Leche entera fresca	66	66	66	66
Huevo	18	18	18	18
Mantequilla	25.2	25.2	25.2	25.2
Azúcar	21	21	21	21
Levadura	3	3	3	3
Sal	1.8	1.8	1.8	1.8
Esencia de vainilla	2.4	2.4	2.4	2.4

Tabla 3. Formulaciones de la masa de concha:				
Ingredientes	En base al peso total			
	Conchas (control %)	Conchas (10% sustitución)	Conchas (15% sustitución)	Conchas (20% sustitución)
Harina de trigo	51	46	43	41
Harina de chícharo	0	5	8	10
Leche entera fresca	23	23	23	23
Huevo	6	6	6	6
Mantequilla	9	9	9	9
Azúcar	8	8	8	8
Levadura	1	1	1	1
Sal	1	1	1	1
Esencia de vainilla	1	1	1	1

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el proceso de armado de la concha, se trabajó con 80 gramos de masa y 20 gramos de la cobertura elaborada con harina, manteca vegetal y azúcar, para darle la forma y tamaño estándar de una concha que se puede conseguir en una panadería tradicional.

Al trabajar la masa en sus diferentes sustituciones y después de someter a cocción se presentaron los cambios, que se señalan a continuación:

- **Color y textura de la corteza.** Conforme se aumentó la cantidad de harina de chícharo la corteza y la miga presentaron un color amarillo opaco, que conforme se incrementó el porcentaje de sustitución, este se fue intensificando sin que fuera desagradable al gusto.
- **Sabor.** En las inclusiones del 10% y 15% el sabor no se alteró, sin embargo, con el 20% sí hubo diferencia en relación con el control, presentando un sabor a chícharo “cocido”.
- **Volumen del pan.** Durante la segunda fermentación y el horneado, el volumen final de las piezas de pan con un porcentaje de 10% y 15% mostró un volumen similar, mientras que con el 20% si hubo una disminución comparado con el control.



Imagen I. Conchas de referencia



Imagen II. Conchas 10% harina de chícharo

Tanto en el control como en las diferentes masas donde se incluyó la harina de Chicharo, el tiempo de amasado fue el mismo, no hubo necesidad de ajustarlo ni de adicionar líquidos para adquirir la consistencia característica de esta. En la primer fermentación el comportamiento de las masas con harina de Chicharo fue similar a la del control, no se observaron cambios al respecto. De forma similar sucedió en la segunda fermentación.

### Mejora en el valor nutritivo.

De acuerdo con la bibliografía expuesta anteriormente, una de las ventajas que tiene la sustitución de harina de chícharo en los productos de panificación es el aumento en la cantidad de fibra, proteína y la mejora del valor biológico de ésta última, por la adición del aminoácido lisina. A continuación, se presenta la tabla 4 con el cálculo teórico del aporte energético de una concha con los cambios en el aporte de fibra y proteína totales, de acuerdo con las cuatro formulaciones que se trabajaron.

Tabla 4.- Aporte nutritivo conchas (100 gramos)				
	Referencia	10%	15%	20%
Kilocalorías	364	372	374	374
<b>Elementos específicos</b>	<b>Gramos</b>			
Fibra dietética	1.2	2.1	2.8	3.2
Proteína	6.4	7.0	7.3	7.6

## CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos durante la preparación de las conchas, se concluye que la harina de chícharo sí se puede utilizar en la elaboración de este tipo de pan y quizás de otras variedades de pan dulce, hasta en un 15%, sin que se vean afectadas de forma negativa sus características de sabor, suavidad, color y textura de la miga.

En cuanto al aumento en el valor nutritivo del pan y con base a lo referido en la NOM-043 el complemento de los aminoácidos limitantes se equilibra mediante la combinación de cereales y leguminosas, lográndose una proteína con un mejor valor biológico, así como un incremento del 200% del aporte de fibra en la masa elaborada con una sustitución del 10% de harina de chícharo. Con base en los resultados es conveniente realizar una evaluación sensorial de las conchas, así como los análisis de laboratorio que permitan determinar la composición química y perfil de aminoácidos esenciales de las conchas con 10% y 15% de sustitución.

## BIBLIOGRAFÍA

- McGee, H. (2017). La cocina y los alimentos (10ª edición). Penguin Random House Grupo Editorial. ISBN 978-84-8306-744-4)
- Gaona Pineda Elsa; Tapia, B. M.; Arango A.; Valenzuela D.; Gomez, L. M. (2018). Consumo de grupos de alimentos y factores sociodemográficos en población mexicana. 09 mayo 2022, de ENSANUT Sitio web: <https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2016/doctos/analiticos/ConsumoAlimentos.pdf>
- Shamah Levy, Teresa; Et. Al. (2020). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19: Resultados Nacionales. Ciudad de México: Instituto Nacional de Salud pública. ISBN 978-607-511-205-3
- PROFECO. (2017). Encuesta sobre los hábitos de consumo de pan de dulce de harina de trigo. 09 mayo 2022, de Gobierno de la república mexicana Sitio web: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/279977/Encuesta sobre los habitos de consumo de pan de dulce de harina de trigo.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/279977/Encuesta_sobre_los_habitos_de_consumo_de_pan_de_dulce_de_harina_de_trigo.pdf)
- Celia Alasino, María; Et. Al. (2008). Panificación con harina de arvejas (*Pisum sativum*) previamente sometidas a inactivación enzimática. 10 de mayo 2022, de Archivos latinoamericanos de nutrición Sitio web: [http://www.scielo.org/ve/scielo.php?pid=S0004-06222008000400012&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org/ve/scielo.php?pid=S0004-06222008000400012&script=sci_arttext)
- USA Dry Pea and Lentil Council. (2015). Dry peas, lentils, chickpeas. 10 mayo del 2022, de USA Dry Pea and Lentil Council Sitio web: <https://www.northernpulse.com/uploads/resources/661/pulse-flour-brochure.pdf>
- Alexis Bonte. (2021). Ama las legumbres: por una dieta y un planeta sano. 25 de mayo del 2022, Sitio web: <https://www.fao.org/venezuela/noticias/detail-events/en/c/1402466/>
- Secretaría de Gobernación. (2013). NORMA Oficial Mexicana NOM-043-SSA2-2012, Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación. 25 mayo 2022, Sitio web: [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5285372&fecha=22/01/2013#gsc.tab=0](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5285372&fecha=22/01/2013#gsc.tab=0)
- Calvo-Carrillo, María de la Concepción; López-Méndez, O.X.; Carranco-Jauregui, M.E.; Marines, J. (2020). Evaluación fisicoquímica y sensorial de un pan tipo baguette utilizando harinas de trigo (*Triticum spp*) y chícharo (*Pisum sativum L.*). *Revista Biotecnia*. Volumen XXII, Número 3. 116-124

## Efecto del tratamiento térmico sobre las características tecno-funcionales de concentrados proteínicos de dos especies de frijol del género *Vigna*

Mancera-Castro, P., González-Cruz, L., Hernández-Acevedo, L.B., Teniente-Martínez, G., Juárez-Goiz, J.M.S., Bernardino-Nicanor, A.\*

Tecnológico Nacional de México – IT de Celaya, Departamento de Ingeniería Bioquímica, Antonio García Cubas Pte. #600, Col. Fovissste, C.P. 38010, Celaya, Guanajuato, México.

\* [aurea.bernardino@itcelaya.edu.mx](mailto:aurea.bernardino@itcelaya.edu.mx)

### RESUMEN

Las propiedades funcionales de las proteínas son de importancia en la industria alimentaria, ya que influyen en las características del alimento del cual forman parte y por ende en la aceptación del consumidor. Específicamente, las proteínas de las leguminosas son relevantes por su contenido de aminoácidos esenciales, sin embargo, no todos los géneros y especies de leguminosas han sido caracterizados, como es el caso del género *Vigna*. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento térmico sobre las características tecno-funcionales de concentrados proteínicos de *Vigna umbellata* y *Vigna unguiculata*. Los resultados indicaron que el tratamiento térmico no influyó en las propiedades de hidratación (capacidad de retención de agua y capacidad de absorción de agua), posiblemente debido a la solubilidad, ni en la capacidad de absorción de aceite. El pH 12 tuvo mayor actividad espumante, y el tratamiento hidrotérmico provocó una mayor estabilidad espumante a los 30 y 120 min. Acorde a los resultados obtenidos, el tratamiento térmico no genera cambios importantes en las características tecno-funcionales de los aislados proteínicos de las dos especies del género *Vigna*, sin embargo, el pH si es un parámetro de importancia en algunas propiedades.

**Palabras clave:** aislado proteínico, *Vigna unguiculata*, *Vigna umbellata*, propiedades tecno-funcionales.

### ABSTRACT

The functional properties of proteins are essential in the food industry since they influence the characteristics of the food; they are a part of, therefore, consumer acceptance. Specifically, legume proteins are relevant for their content of essential amino acids. However, not all legume genera and species have been characterized, as is the case of the genus *Vigna*. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of heat treatment on the techno-functional characteristics of *Vigna umbellata* and *Vigna unguiculata* protein concentrates. The results indicated that the thermal treatment did not influence the hydration properties (water retention capacity and water absorption capacity), possibly due to solubility or oil absorption capacity. The pH 12 had higher foaming activity, and the hydrothermal treatment caused higher foaming stability at 30 and 120 min. According to the results obtained, the thermal treatment does not generate essential changes in the techno-functional characteristics of the protein isolates of the two species of the genus *Vigna*. However, pH is a critical parameter for some properties.

**Keywords:** Proteinic concentrate, *Vigna unguiculata*, *Vigna umbellata*, techno-functional properties.

## INTRODUCCIÓN

Las características funcionales de las proteínas se definen como las propiedades físicas o químicas que afectan el comportamiento de las proteínas en los sistemas alimentarios durante el procesamiento, almacenamiento, preparación o consumo. Las propiedades de mayor interés en la industria alimentaria incluyen la solubilidad, capacidad de unirse al agua y aceite, formación de espuma, gelificación, espesamiento y unión al sabor; y estas propiedades funcionales están determinadas por la composición de aminoácidos, estructura y conformación de la proteína, así como las condiciones durante el procesamiento, como el pH, temperatura y las interacciones que ocurren entre las proteínas con otros componentes de los alimentos, como son las grasas y aceites, sales, carbohidratos y compuestos fenólicos (Boye *et al.*, 2010).

De acuerdo con el porcentaje de proteína los alimentos se pueden clasificar en harinas proteínicas (<65% de proteína en peso seco), concentrados proteínicos (>65% de proteína en peso seco) y los aislados proteínicos (>90% de proteína en peso seco) (Boye *et al.*, 2010). Las leguminosas tradicionalmente valiosas son consideradas harinas proteínicas, ya que proveen proteínas del 20-40% con un aporte de aminoácidos esenciales. Sin embargo, la familia Leguminosae es extensa con más de 18000 especies con más de 440 géneros, pero con la desventaja que no todos los géneros y especies han sido caracterizadas (Maphosa & Jideani, 2017). Como es el caso del género *Vigna*, el cual está conformado por más de 100 especies alrededor de todo el mundo, pero solo 9 o 10 especies han sido domesticadas (Tomooka *et al.*, 2014), entre estas especies se encuentra *Vigna unguiculata* y *Vigna umbellata*.

*Vigna unguiculata*, con nombres comunes de frijol vaquita, caupí o cowpea, es una leguminosa originaria y domesticada en África, sin embargo, su cultivo se ha extendido en Asia, Europa y América (Estrada Domínguez *et al.*, 2018; Lonardi *et al.*, 2019). En México, es una fuente importante de alimentos en comunidades rurales de los estados de Campeche, Chiapas, Guerrero, Jalisco, Oaxaca, Tabasco, Veracruz, Yucatán y Tamaulipas (Lagunes-Espinoza *et al.*, 2008). El contenido de proteína en semillas varía de acuerdo con la región y condiciones de crecimiento, pero se ha reportado del 24-26% proteína (Sheldon Naiker *et al.*, 2019). Chel-Guerrero *et al.* (2011) reportaron un contenido de proteína cruda de 82.8% de un concentrado de proteínas obtenido por precipitación isoeléctrica. González-Cruz *et al.* (2020) evaluaron el efecto del tratamiento hidrotérmico en el contenido de proteína de concentrados de proteínas por precipitación isoeléctrica, obteniendo 72.05 y 71.72 % proteína, para concentrado sin y con tratamiento térmico, respectivamente.

*Vigna umbellata*, conocido en el mundo como rice bean o red bean, y en México como frijol arroz (Scull *et al.*, 2013). Es una leguminosa nativa del sur y sudeste de Asia; sin embargo, se cultiva en limitadas extensiones en los trópicos de todos los continentes, como es Estados Unidos, Honduras, Brasil y México (Bisht y Singh, 2013; Scull *et al.*, 2013). El contenido de proteína se ha reportado entre 23.9% a 25.5% (Bhagyawant *et al.*, 2019). Ge *et al.* (2022) obtuvieron un aislado proteínico por precipitación isoeléctrica con un contenido de proteína de 90.57%. Se ha observado que el tratamiento térmico disminuye el contenido de proteína en concentrados proteínicos (61.25%) respecto al concentrado sin tratar (81.66%) (González-Cruz *et al.*, 2020).

Debido a lo anterior, el objetivo fue evaluar el efecto del tratamiento hidrotérmico sobre las características tecno-funcionales de concentrados proteínicos obtenidos por precipitación isoeléctrica de dos especies del género *Vigna*.



## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Las semillas de frijol vaquita (*Vigna unguiculata*) y frijol arroz (*Vigna umbellata*) colecta 2019 se obtuvieron en el municipio de Zacatlán, Puebla, con coordenadas geográficas 19°56'5" latitud norte y 98°12'36" latitud occidental.

### Tratamiento hidrotérmico

Se empleó la metodología propuesta por González-Cruz *et al.* (2020). Un noche antes, 100 g de semillas de las dos especies se remojaron en agua destilada en relación 1:3 p/v, con la finalidad de hidratar las semillas y disminuir el tiempo de tratamiento., el cual fue de 2 horas en ebullición a 95°C. Posteriormente el frijol se secó a 45°C en un secador por convección de aire forzado durante 16 h. Después las semillas se molieron, tamizaron (malla No. 40) y se almacenaron en recipientes de vidrio herméticos a temperatura ambiente hasta su análisis.

### Obtención de aislados proteínicos

Aislados proteínicos de harinas de frijol vaquita y frijol arroz con y sin tratamiento térmico fueron obtenidos con el protocolo de precipitación isoelectrica propuesto por Bernardino-Nicanor *et al.* (2000). La harina se dispersó en agua destilada en relación 1:20 p/v bajo agitación constante. Posteriormente se ajustó el pH al de máxima solubilidad de proteínas (12 para frijol arroz y 11.7 para frijol vaquita) con NaOH 0.1N, después la mezcla se mantuvo a 40°C en un baño de agua por 45 min, y luego se centrifugó a 6000 rpm por 30 min. Se desechó el precipitado, y al sobrenadante se ajustó el pH al de precipitación isoelectrica (4 para frijol arroz y 4.5 para frijol vaquita) con HCl 0.1N, posteriormente se aplicó otro ciclo de centrifugación con las mismas condiciones, el precipitado (aislado proteínico) se liofilizo, molió, tamizó (malla No. 40) y se almacenó en frascos de vidrio herméticos a temperatura ambiente.

### Caracterización tecno-funcional

#### Solubilidad

Se preparó una disolución de aislado proteínico a una concentración de 0.16 mg/mL, se ajustó el pH a 9.0, 9.5, 10.0 y 12.0, y se mantuvo a 4°C por 18 h. Después la disolución se centrifugó, y al sobrenadante se midió el contenido de proteína soluble por el método de Bradford. La solubilidad se expresó como el porcentaje de proteína soluble presente en la disolución (Maruyama *et al.*, 1999).

#### Capacidad de retención de agua

Se prepararon dispersiones (1% p/v) de aislados proteínicos y se mantuvieron en agitación durante 1 h a temperatura ambiente. Luego se centrifugaron a 10000 rpm por 30 min. La capacidad de retención de agua (WHC) se calculó con la siguiente ecuación (Bernardino-Nicanor *et al.*, 2006):

$$WHC = \frac{m_{hip} - m_{tp} + m_{sp}}{m_{tp}} \times \delta \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde  $m_{hip}$  es la masa (g) de la fracción de proteína insoluble hidratada;  $m_{tp}$  es la masa (g) de la muestra;  $m_{sp}$  es el contenido de proteína soluble de la muestra;  $\delta$  es la densidad del agua.

### Capacidad de absorción de aceite/agua

Se determinó mediante el método propuesto por Beuchat (1997). En un tubo de centrifuga se dispersaron 0.5 g de aislado proteínico en 5 mL de aceite de maíz o 5 mL de agua destilada, y se mezclaron durante 30 segundos. Posteriormente los tubos se mantuvieron en agitación (10000 rpm) por 30 min a temperatura ambiente. Pasado el tiempo, se realizó un ciclo de centrifugación a 3000 rpm por 15 min; se desechó el sobrenadante. La Ec. (2) se empleó para determinar la capacidad de absorción de aceite - OAC (g aceite/g muestra) o agua - WAC (g agua/g muestra):

$$WAC \text{ o } OAC = \frac{\text{Peso (g) del residuo} - \text{Peso (g) de la muestra}}{\text{Peso (g) de la muestra}} \quad \text{Ec. (2)}$$

### Actividad espumante

Se preparó una suspensión al 1% p/v de aislado proteínico, la cual se ajustó a valores de pH entre 2 y 9, con NaOH 0.1N o HCl 0.1N. Se agitaron en un vortex a 10000 rpm durante 60 segundos a temperatura ambiente. La actividad espumante se calculó con la Ec. (3):

$$\text{Actividad espumante (\%)} = \frac{\text{Vol. (mL) final} - \text{Vol. (mL) inicial}}{\text{Vol. (mL) inicial}} \times 100 \quad \text{Ec. (3)}$$

### Estabilidad de la espuma a través del tiempo

Se siguió el procedimiento de la actividad espumante, con la modificación de que se realizaron mediciones de volumen de espuma remanente después de 30 y 120 min. Con la Ec. (4) se determinó la estabilidad de la espuma:

$$\text{Estabilidad (\%)} = \frac{\text{Vol. (mL) de la espuma después de 30 y 120 min}}{\text{Vol. (mL) inicial de la espuma}} \quad \text{Ec. (4)}$$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

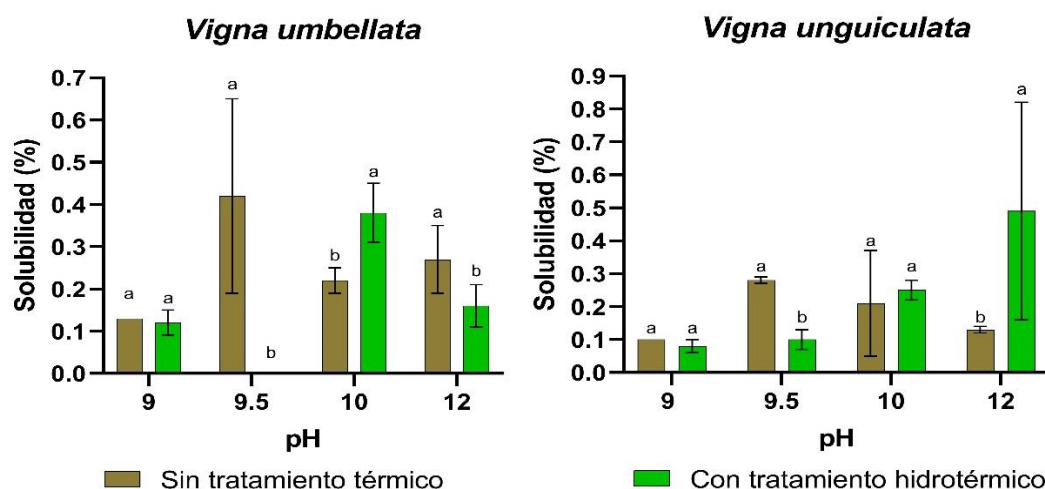
### Solubilidad

En la industria de alimentos, la distribución de la solubilidad de concentrados y aislados proteínicos en un intervalo de valores de pH se puede considerar como un indicador de la funcionalidad de la proteína, ya que está directamente relacionada con muchas propiedades funcionales importantes, incluidas las propiedades de hidratación, capacidad y estabilidad de emulsificación, formación de espuma y gelificación (Ge *et al.*, 2022; Shevkani *et al.*, 2015).

Se ha reportado que la solubilidad de la mayoría de las proteínas de leguminosas es más alta a valores de pH ácidos bajos (pH < 4) y alcalinos altos (pH > 9). La solubilidad disminuye notablemente cerca del punto isoelectrico, generalmente entre pH 4 y pH 6 para la mayoría de las leguminosas (Boye *et al.*, 2010). En su punto isoelectrico, una proteína muestra el valor más pequeño de repulsión electrostática, por lo tanto, la proteína tendrá la solubilidad más baja y eventualmente precipitará. Hay aminoácidos que tienen carga positiva, negativa o neutra, cuando varios aminoácidos se combinan para formar proteínas, entonces cada carga de aminoácidos contribuirá a la carga total de la proteína. A un pH bajo, los aminoácidos estarán cargados positivamente, mientras que a un pH alto estarán cargados negativamente. A un pH de 4-5, los aminoácidos estarán en un estado dipolar, donde la solubilidad es mínima y la proteína se coagulará y sedimentará (Kusumah *et al.*, 2020).

En la Fig. 1 se muestran los resultados de la solubilidad en un rango de pH 9 a pH 12. Se observa una mayor solubilidad en pH's alcalinos comparado con pH's ácidos (datos no mostrados). También entre

las dos especies existe una diferencia en la solubilidad, esto debido a variaciones en el perfil y cantidad de las fracciones de globulinas y albuminas, que son las que se han reportado solubles en leguminosas (Barac *et al.*, 2015).



**Figura 1.** Efecto del tratamiento hidrotérmico y del pH en la solubilidad de los concentrados proteínicos de dos especies del género *Vigna*

Los resultados se expresan como la media  $\pm$  desviación estándar (n=3). Letras diferentes por barra indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) por prueba t-student.

#### Capacidad de retención de agua (WHC) y capacidad de absorción de agua (WAC)

Las propiedades de hidratación, WHC/WAC se definen como la cantidad de agua que puede ser absorbida por gramo de proteína o aislado proteínico. La medición de estas propiedades tecnofuncionales es de importancia en la industria de alimentos. Es posible que los aislados que tienen valores de WHC/WAC bajos no puedan retener el agua de manera efectiva, mientras que los aislados que tienen valores de WHC/WAC altos pueden hacer que los productos alimenticios se vuelvan quebradizos y secos, especialmente durante el almacenamiento (Boye *et al.*, 2010).

En la Tabla I no se observan diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en la capacidad de retención de agua (WHC) y capacidad de absorción de agua (WAC) entre los concentrados sin tratamiento y con tratamiento hidrotérmico en las dos especies de frijoles *Vigna*.

**Tabla I.** Efecto del tratamiento hidrotérmico en la capacidad de retención de agua (WHC) y capacidad de absorción de agua (WAC) de dos especies del género *Vigna*

Especie de frijol	WHC (mL agua/g muestra)		WAC (g agua/g muestra)	
	Sin tratamiento térmico	Con tratamiento hidrotérmico	Sin tratamiento térmico	Con tratamiento hidrotérmico
<i>V. umbellata</i>	150.53 $\pm$ 1.67 <sup>a</sup>	150.43 $\pm$ 1.05 <sup>a</sup>	14.01 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>	14.24 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>
<i>V. unguiculata</i>	147.24 $\pm$ 1.65 <sup>a</sup>	146.61 $\pm$ 1.96 <sup>a</sup>	14.50 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	14.44 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>

Los resultados se expresan como la media  $\pm$  desviación estándar (n=3). Letras diferentes por fila presentan diferencia estadística significativa entre medias ( $p < 0.05$ ) por prueba t-student.

Los resultados se comportan de manera similar a lo reportado por Bühler *et al.* (2020) para concentrados proteínicos de semillas de Haba (*Vicia faba*) tratadas térmicamente con calor seco (75, 100, 120, 130, 150, 160 y 175 °C) por 60 min. No se encontraron cambios significativos en los valores

de WHC en concentrados de 75 y 100 °C respecto al concentrado control (sin tratamiento); sin embargo, a partir de 130 °C, los valores de WHC de los concentrados comienzan a incrementar. Los autores atribuyeron estos cambios debido a la solubilidad, ya que se conoce que la fracción de proteína soluble no presenta WHC, y a partir de los 130 °C la solubilidad comienza a disminuir incrementando la materia insoluble total.

### Capacidad de absorción de aceite (OAC)

La capacidad de absorción de grasa o aceite (FAC o OAC), también denominada a veces capacidad de unión a grasa o aceite (FBC o OBC), se calcula como el peso o volumen de aceite absorbido por peso de proteína (Boye *et al.*, 2010).

En la Tabla II no se observan diferencias estadísticas significativas ( $p > 0.05$ ) en la capacidad de absorción de aceite entre los concentrados proteínicos sin tratamiento térmico y con tratamiento hidrotérmico en las dos especies de frijol.

**Tabla II.** Efecto del tratamiento térmico en la capacidad de absorción de aceite (OAC) de concentrados proteínicos de dos especies del género *Vigna*

Especie de frijol	OAC (g aceite/g muestra)	
	Sin tratamiento térmico	Con tratamiento hidrotérmico
<i>V. umbellata</i>	12.33 ± 0.57 <sup>a</sup>	12.11 ± 0.56 <sup>a</sup>
<i>V. unguiculata</i>	12.21 ± 0.44 <sup>a</sup>	12.32 ± 0.35 <sup>a</sup>

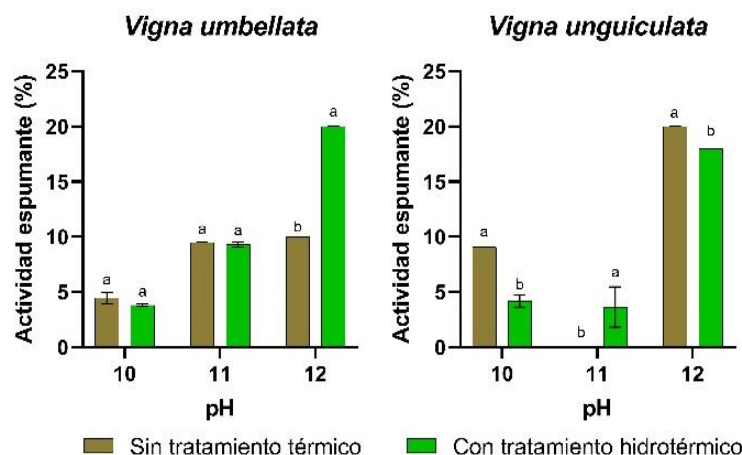
Los resultados se expresan como la media ± desviación estándar (n=3). Letras diferentes por fila presentan diferencia estadística significativa entre medias ( $p < 0.05$ ) por prueba t-student.

Obatolu *et al.* (2007) no determinaron diferencias estadísticamente significativas en harina sin tratamiento y procesadas con tratamientos hidrotérmico, fermentación y asado. Los autores sugieren que la OAC no se ve muy afectada por el procesamiento.

### Actividad espumante y estabilidad de la espuma a través del tiempo

Los índices más utilizados para evaluar las características espumantes son la expansión de espuma, la capacidad de formación de espuma y la estabilidad de la espuma en el tiempo. Las espumas cuando se utilizan proteínas se forman cuando estas macromoléculas se despliegan para formar una capa interfacial que mantiene las burbujas de aire en suspensión y evitar su colapso. En la industria alimentaria, la formación de espumas es de importancia en bebidas, mousses, coberturas batidas, entre otros (Boye *et al.*, 2010).

En la Fig. 2 se observa en las dos especies que la actividad espumante depende del pH, ya que el pH 10 mostró la menor actividad y el pH 12 la máxima actividad espumante, concluyendo que valores altos de pH alcalino tienen mayor actividad espumante. En la Tabla III se observa que los concentrados proteínicos con tratamiento hidrotérmico presentan mayor estabilidad de espuma a los 30 y 120 min, en los pHs de 10, 11 y 12.



**Figura 2.** Efecto del tratamiento hidrotérmico y del pH en la actividad espumante de concentrados proteínicos de dos especies del género *Vigna*

Los resultados se expresan como la media  $\pm$  desviación estándar (n=3). Letras diferentes por barra indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) por prueba t-student.

**Tabla III.** Efecto del tratamiento hidrotérmico y del pH en la estabilidad de la espuma (30 y 60 min) de concentrados proteínicos de dos especies del género *Vigna*

<i>Vigna umbellata</i>				
pH	30 min		120 min	
	Sin tratamiento térmico	Con tratamiento hidrotérmico	Sin tratamiento térmico	Con tratamiento hidrotérmico
10	1.02 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	1.03 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	n.d.	1.00 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
11	1.07 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	1.25 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	n.d.	1.15 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>
12	1.10 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.16 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	1.07 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	1.14 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
<i>Vigna unguiculata</i>				
10	1.04 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	1.10 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	1.05 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	1.07 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>
11	1.13 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	1.11 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	1.09 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	1.11 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
12	1.07 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	1.12 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	1.07 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	1.08 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>

Los resultados se expresan como la media  $\pm$  desviación estándar (n=3). Letras diferentes por fila presentan diferencia estadística significativa entre medias ( $p < 0.05$ ) por prueba t-student. n.d.: no detectado.

Lo anterior, es debido a que los cambios conformacionales que pueden sufrir las proteínas durante la desnaturalización ácida o por calor pueden tener un efecto sobre la estabilidad de la espuma. Esto da como resultado una mayor exposición del área superficial que explica la gran variación en la capacidad de formación y estabilidad de la espuma (Nagmani & Prakash, 1997).

## CONCLUSIÓN

El tratamiento térmico no tuvo una influencia significativa en las propiedades de hidratación (capacidad de retención de agua y capacidad de absorción de agua) ni en la capacidad de absorción de aceite. Sin embargo, el pH y tratamiento térmico modificaron la actividad y estabilidad espumante.

## BIBLIOGRAFÍA

- Barac, M.B., Pesic, M.B., Stanojevic, S.P., Kostic, A.Z., & Bivolarevic, V. 2015. Comparative study of the functional properties of three legume seed isolates: adzuki, pea and soybean. *Journal of food science and technology*, 52(5), 2779-2787.
- Bernardino-Nicanor, A., Ortiz-Moreno, A., Martínez-Ayala, A.L., & Dávila-Ortiz, G. 2000. Guava seed protein isolate: Functional and nutritional characterization. *Journal of Food Biochemistry*, 25, 77-90.
- Beuchat, L. 1997. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 25, 258-263.
- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. 2010. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43, 414-431.
- Bühler, J.M., Dekkers, B.L., Bruins, M.E., & Van Der Goot, A.J. 2020. Modifying faba bean protein concentrate using dry heat to increase water holding capacity. *Foods*, 9(8), 1077.
- Chel-Guerrero, L., Maldonado-Hoíl, M., Burgos-Pérez, A., Castellanos-Ruelas, A., & Betancur-Ancona, D. 2011. Functional and some nutritional properties of fan isoelectric protein isolate from Mexican cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. *Journal of Food and Nutrition Research*, 50(4), 210-220.
- Estrada-Dominguez, V., Márquez-Quiroz, C., De la Cruz Lázaro, E., Osorio-Osorio, R., & Sánchez-Chávez, E. 2018. Biofortificación de frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp) con zinc: efecto en el rendimiento y contenido mineral. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(SPE20), 4149-4160.
- Ge, J., Sun, C.X., Sun, M., Zhang, Y., & Fang, Y. 2022. Introducing panda bean (*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi et Ohashi) protein isolate as an alternative source of legume protein: Physicochemical, functional and nutritional characteristics. *Food Chemistry*, 388, 133016.
- González-Cruz, L., Juárez-Goiz, J.M.S., Teniente-Martínez, G., Acosta-García, G., Flores-Martínez, N.L., & Bernardino-Nicanor, A. 2020. Structural changes in the proteins from two species of the genus *vigna* by effect of different treatments. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 19, 333-347.
- Kusumah, S.H., Andoyo, R., & Rialita, T. 2020. Protein isolation techniques of beans using different methods: A review. En *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 443, No. 1, p. 012053). IOP Publishing.
- Lonardi, S., Muñoz-Amatriáin, M., Liang, Q., Shu, S., Wanamaker, S.I., Lo, S., ... & Close, T.J. 2019. The genome of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *Plant Journal*, 98(5), 767-782.
- Lagunes-Espinoza, L.C., Gallardo-López, F., Becerril-Hernández, H., & Bolaños-Aguilar, E.D. 2008. Diversidad cultivada y sistema de manejo de *Phaseolus vulgaris* y *Vigna unguiculata* en la región de la Chontalpa, Tabasco. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 14(1), 13-21.
- Maphosa, Y., & Jideani, V.A. 2017. The Role of Legumes in Human Nutrition. En M. Chávarri Hueda. *Functional food-improve health through adequate food* (pp. 103-122). Croatia: InTech.
- Maruyama, N., Sato, R., Wada, Y., Matsumura, Y., Goto, H., Okuda, E., Nakagawa, S., & Utsumi, S. 1999. Structure-physicochemical function relationships of soybean beta-conglycinin subunits. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 5278-5284.
- Nagmani, B., & Prakash, J. 1997. Functional properties of thermally treated legume flours. *International journal of food sciences and nutrition*, 48(3), 205-214.
- Obatolu, V.A., Fasoyiro, S.B., & Ogunsunmi, L. 2007. Processing and functional properties of yam beans (*Sphenostylis Stenocarpa*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 31, 240-249.
- Sheldon Naiker, T., Gerrano, A., & Mellem, J. 2019. Physicochemical properties of flour produced from different cowpea (*Vigna unguiculata*) cultivars of Southern African origin. *J. Food Sci. Technol.*, 56, 1541-1550.
- Shevkani, K., Singh, N., Kaur, A., & Rana, J.C. 2015. Structural and functional characterization of kidney bean and field pea protein isolates: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 43, 679-689.

Tomooka, N., Naito, K., Kaga, A., Sakai, H., Isemura, T., Ogiso-Tanaka, E., Ise, K., & Takahashi, Y. 2014. Evolution, domestication and neo-domestication of the genus *Vigna*. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 12(S1), S168-S-171.

## **Efecto de hidrocoloides en textura de masa de maíz-quínoa como propuesta para mejoramiento de calidad proteica.**

Hernández-Hernández, N.<sup>1</sup>, Báez-González, J.G.<sup>2</sup>, García-Alanís K.G.,<sup>2</sup> Bautista-Villarreal, M.,<sup>2</sup> \*Durán-Lugo, R.<sup>1</sup>

<sup>(1)</sup> Tecnológico de Estudios Superiores de Chimalhuacán C. Primavera S/N Col. Santa María Nativitas, Chimalhuacán Estado de México, C.P. 56330. <sup>(2)</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Alimentos, Av. Universidad S/N, San Nicolás de los Garza N.L. C.P66455. Correo: [reydl\\_30@yahoo.com.mx](mailto:reydl_30@yahoo.com.mx)

### **RESUMEN**

Las tortillas de maíz son y han sido parte fundamental de la alimentación de diferentes culturas en América. Hoy día en México son una parte básica de la dieta diaria, de los mexicanos. Es por ello que este producto tiene un gran potencial para ser combinado con la quínoa, un pseudocereal cultivado en el sur de Latinoamérica que se caracteriza por aportar alto contenido en proteínas. Para ello se realizaron análisis de textura a masas con diferentes porcentajes de quínoa (5%, 10% y 20% respectivamente) a los cuales se les agregó como agente estabilizante la carboximetil celulosa (CMC) se realizó análisis de perfil de textura que comprendió dureza, adhesividad, cohesividad, elasticidad, masticabilidad y gomosidad de la masa maíz-quínoa, para ello se utilizó un texturometro Brookfield CT3. Dentro de los resultados obtenidos para las características como dureza, elasticidad, gomosidad y masticabilidad aumentaron al añadirse CMC, esto genera un medio propicio para agregar diferentes cantidades de quínoa, logrando así características organolépticas similares a las de una tortilla normal. Se concluyó que la adición de Carboximetil celulosa aumenta la retención de humedad de las masas y le brinda mayor fuerza para soportar otros ingredientes en su composición.

**Palabras clave.** Tortilla, Proteínas, Dieta, Textura, Maíz, Quínoa.

### **ABSTRACT**

Corn tortillas are and have been a fundamental part of the diet of different cultures in America. In Mexico they are a basic part of the daily diet, of Mexicans (Figuroa 1994). That is why this product has great potential to be combined with quinoa, a pseudocereal grown in southern Latin America that is characterized by its high protein content. For this, texture analyzes were carried out on doughs with different percentages of quinoa (5%, 10% and 20% respectively) to which carboxymethyl cellulose (CMC) was added as a stabilizing agent. A texture profile analysis was carried out that included hardness, adhesiveness, cohesiveness, elasticity, chewiness and gumminess of the Corn-Quinoa dough, for which a Brookfield CT3 texture meter was used. Within the results obtained for the characteristics such as hardness, elasticity, gumminess and chewiness increased when adding CMC, this generates a favorable environment to add different amounts of quinoa, thus achieving organoleptic characteristics similar to those of a normal tortilla. It was concluded that the addition of Carboxymethyl cellulose increases the moisture retention of the dough and gives it greater strength to support other ingredients in its composition.

**Keywords.** Tortilla, Protein, Diet, Texture, Corn, Quinoa.



## INTRODUCCIÓN

En México, hablar de maíz, abarca una gran cantidad de temas, ya sean naturales, geográficos, culturales, antropológicos (Cuevas, 2014) y principalmente gastronómicos. El grano del maíz se consume en forma de tortilla desde tiempos ancestrales y durante generaciones ha sido el principal componente en la dieta diaria del mexicano. Sin embargo, las demandas nutricionales no son cubiertas de manera satisfactoria, ya que, como la mayoría de los cereales, el maíz es deficiente en aminoácidos esenciales, principalmente en lisina y triptófano (García, 2004)). Ante este panorama, es necesario generar estrategias que permitan cubrir dichas necesidades mediante la incorporación de pseudocereales como la quínoa (*Chenopodium quinoa*), esta es una especie anual, dicotiledónea, perteneciente a la familia de las Amaranthaceae (Gonzales & Prado, 2013), además de ser un pseudocereal de fácil adaptación y cultivo, siendo la colección boliviana de quinua la más importante a nivel mundial por el número de accesiones que contiene (Rojas, et. Al., 2016).

La nixtamalización es un proceso prehispánico desarrollado por los aztecas (Bello, et. Al., 2002). Se trata de un proceso determinante en la calidad de la tortilla que consiste en la cocción del maíz en agua adicionada con  $\text{Ca(OH)}_2$  para lograr la hidrólisis del pericarpio del grano y facilitar de esta manera la entrada del agua para alcanzar una gelatinización parcial del almidón y otorgar a la masa y tortilla la flexibilidad y características sensoriales adecuadas (De Teresa, 2009). Además de que permite la liberación de niacina de fácil asimilación, además de posibilitarse su cocimiento más rápido al remojar en agua con cal y hervirse (Torres Et. Al. 1996)).

La masa debe tener la adhesividad adecuada para que pueda adherirse ligeramente a los rodillos laminadores de la máquina tortilladora y separarse adecuadamente (Ramírez et. Al. 1993).

Cuando el maíz es nixtamalizado con porcentajes de  $\text{Ca(OH)}_2$  mayores al 1.5% las tortillas tienen un sabor a cal indeseable para el consumidor y cuando el  $\text{Ca(OH)}_2$  se añade en pequeñas proporciones las tortillas son quebradizas. Por otro lado, el  $\text{Ca(OH)}_2$  también se usa para evitar que las masas se acidifiquen. Así que en proporciones adecuadas la cal mejora las características de palatabilidad de la tortilla, es una fuente de calcio y un conservador de masas y tortillas.

Los hidrocoloides mejoran la textura de las tortillas pues conservan la humedad e imparten cohesividad a la estructura que se forma por efecto de la gelatinización del almidón y desnaturalización de proteínas. Entre los mejoradores más usados está la carboximetilcelulosa (CMC)

Con el propósito de obtener una masa para elaborar tortillas de calidad (nutricional y sensorial), vida de anaquel prolongada y que a la vez brinde la calidad de un producto fresco se planteó determinar el efecto de la adición de mejoradores de textura (CMC) sobre las características reológicas de mezclas de maíz-quinua.

## MATERIALES Y MÉTODO

### Elaboración de formulaciones.

Para la elaboración de las masas, se llevó a cabo la nixtamalización del grano de maíz blanco, mediante la relación (1 kg de maíz seco / 3 L agua / 0.030 kg  $\text{Ca(OH)}_2$  ), se mezcló el total de agua/ 0.030 kg de  $\text{Ca(OH)}_2$ , y se llevó a ebullición agregando posteriormente el maíz, con tiempo de cocción de 20 min, con reposo de 12 h en el nejayote. Posteriormente, el grano de maíz se lavó con abundante agua para desprender el pericarpio del grano. Una vez teniendo el grano limpio, se molió en un metate de 3 a 4 veces hasta obtener una masa.

Se llevaron a cabo 6 formulaciones de 700g de las cuales 3 fueron controles de masa maíz-quinoa donde se varió la concentración de 5, 10, 20 % respectivamente y 3 con incorporación de CMC al 0.004 % con variaciones en concentración de quínoa 5, 10, 20 % respectivamente como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Formulaciones experimentales masa maíz-quinoa

Formulación	Maíz (g)	Quínoa (g)	Agua (ml)	CMC (g)
F1 (control)	500	35	165	0
F2 (control)	500	70	130	0
F3 (control)	500	140	60	0
F4	500	35	165	0.03
F5	500	70	130	0.03
F6	500	140	60	0.03

Se realizó un análisis de Perfil de Textura (TPA) usando un textuómetro Brookfield, CT3. El análisis incluyó características primarias como dureza, cohesividad, elasticidad y adhesividad, mientras que las secundarias fueron; masticabilidad y gomosidad. (INIAP, 2014) las variables de proceso fueron: carga de activación: 0.07 N; objetivo: 18mm, velocidad de prueba: 1mm/s; velocidad: 2.00 mm/s; carga de 25000 kg. La prueba se realizó en 2 ciclos utilizando una sonda TA18. La muestra se caracterizó en forma cilíndrica de 55 mm de diámetro por 24 mm de altura.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Analizando los resultados de dureza, cohesividad, adhesividad y elasticidad (Tabla 1) de las masas elaboradas con maíz- quínoa de los diferentes tratamientos y comparada con las masas control se obtuvieron diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ), lo que nos indica que las concentraciones de quínoa y CMC impactan sobre las propiedades reológicas

Para la dureza aumentó en las formulaciones (F4, F5 y F6) con presencia de CMC esto puede atribuirse al rápido secado de la masa durante la elaboración por otro lado, la deformación según dureza se mantuvo constante en ambos casos, lo que coincide con García et al. (2005) donde mencionan que “el uso de aditivos no mejora el porcentaje de deformación de la muestra en el punto de fluencia respecto al no uso de aditivos”.

Sin embargo, también se observó una relación entre la dureza de la masa y la humedad ya que las masas con un índice de dureza más alto son aquellas a las que se les agrego un porcentaje menor de agua, esto concuerda con lo que menciona López-Espíndola, et al. (2020), donde correlacionan que, a mayor contenido de humedad, la masa es más suave y viceversa.

Tabla 2. Análisis de perfil de Textura la masa de maíz-quínoa

Formulación.	Adhesividad (mJ).	cohesividad.	Elasticidad (mm).	Dureza Ciclo 1 (N).	Deformación según dureza.
F1	20.80±1.73	0.61±0.02	13.10±1.15	2.84±0.07	17.71±0.15
F2	8.30±1.21	0.54±0.09	12.68±1.35	1.38±0.13	17.78±0.16
F3	11.73±2.40	0.54±0.06	13.05±1.06	1.88±0.27	17.71±0.11
F4	17.70±4.26	0.47±0.06	11.86±1.22	3.44±0.38	17.82±0.12
F5	14.57±0.85	0.54±0.03	12.48±0.10	2.62±0.23	17.81±0.12
F6	19.60±4.61	0.46±0.12	11.72±1.39	3.94±0.26	17.91±0.06

Respecto a la cohesividad de las masas adicionadas con Carboximetil celulosa (CMC) coinciden con los resultados obtenidos por Gasca Macera y Casas Alencaster (2007), obteniendo valores promedios de cohesividad que fluctúan entre 0.266 y 0.587

Lo que refiere a la elasticidad reduce mínimamente en las formulaciones adicionadas con CMC, mientras que la adhesividad aumenta considerablemente respecto a las formulaciones a las que no se les añadió carboximetil celulosa.

Tabla 2. Propiedades secundarias de textural de masa maíz-quínoa.

Formulaciones	Gomosidad (N)	Masticabilidad (mJ)
F1	1.74±0.06	22.80±2.70
F2	0.76±0.19	9.80±3.24
F3	1.02±0.16	13.37±2.84
F4	1.62±0.39	19.60±6.51
F5	1.40±0.06	17.50±0.72
F6	1.80±0.48	21.50±7.76

El análisis de las propiedades secundarias de textural mostradas en la tabla 2 respecto a la masticabilidad y gomosisidad se observa una influencia significativa de la incorporación del CMC ya que se mostró un aumento considerable.

No obstante, las características que se consideran necesarias para generar tortillas de buena calidad varían por ejemplo Bello-Pérez et al. (2002) mencionan que las condiciones de nixtamalización son diferentes en cada tortillería, estas variaciones están en función de la variedad del maíz, temperatura de cocción, técnica, cantidades a utilizar y tiempo de reposo. Por otro lado, Peña-Reyes et. al. (2015) En su artículo “Análisis de textura en masa y tortilla elaboradas con maíz nixtamalizado en diferentes procesos” menciona que la cohesividad y adhesividad de las masas elaboradas con el maíz nixtamalizado con los diferentes tratamientos y comparada con una masa comercial no se obtuvo diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ), lo que indica que las condiciones de nixtamalización de los diferentes tratamientos logran el mismo efecto, dando las condiciones para obtener una masa de buena calidad.

Para cohesividad y adhesividad, Fernández-Sesma (1993) menciona que para obtener tortillas de calidad es necesario generar masas suaves con adhesividad en un rango entre  $0.83 \times 10^{-2}$  y  $1.45 \times 10^{-2}$  N

m. Mientras que Jiménez- Juárez et al. (2012) mencionan que es necesario manejar rangos de cohesividad entre 211.5 y 215.25g; y una adhesividad entre 24.37 y 33 g.

Bello- Pérez, et. Al (2002). Menciona que grandes cantidades de almidón gelatinizado dado por un cocimiento excesivo da como resultado una masa pegajosa, mientras que una masa con tiempo de cocción inferior al necesario produce una masa sin cohesividad.

Por esta razón es que existen una gran variabilidad en cuanto a los resultados obtenidos en este proyecto, si bien, la gran mayoría coincide en llevar a cabo un proceso de nixtamalización, la diferencia en variables en cuanto a temperaturas, cantidades, variedades, tiempos, dan como resultado pequeñas variables en la textura de la masa, sin embargo, no es hasta el proceso de amasado, donde se observan mayores cambios, debido a la cantidad de agua agregada y tiempo de amasado, generando estrés en la masa y aumentando los niveles de deformación relativa aparente como lo menciona Gasca-mancera (2007).

La calidad de la tortilla es influida por las características del grano y condiciones de elaboración (Bourne, 1982); por el manejo del grano (Bedolla y Rooney, 1982), que inciden en las características nutricionales (Bressani, 1990). La adición de hidrocoloides beneficia la retención del agua en masas de maíz, esto representa una ventaja frente a las masas tradicionales, ya que frecuentemente la masa de maíz pierde humedad con relación al tiempo que se deje en reposo, es decir que a mayor tiempo se deje en reposo expuesta al ambiente, mayor será el porcentaje de humedad que perderá.

### **CONCLUSIÓN**

Este efecto se ve disminuido mediante la adición de carboximetil celulosa, sin embargo, esto también le otorga nuevas características respecto a la textura, ya que aumenta su dureza y la adhesividad de la masa, además de generar tortillas con una textura más gomosa.

Como recomendación, es necesario tener cuidado respecto a la cantidad de agua que requerirá la masa ya que esta cantidad puede variar respecto a distintos factores como lo pueden ser el tiempo de guarda del grano de maíz y la temperatura ambiental; además, como ya se ha mencionado, la masa de maíz tiende a perder humedad con el tiempo si se encuentra expuesto al ambiente, por lo que es importante considerar este aspecto si se pretende realizar análisis de perfil de textura.

### **BIBLIOGRAFÍA**

Cuevas- Mejía, J. J. 2014 Maíz: Alimento fundamental en las tradiciones y costumbres mexicanas, Pasos, Revista de turismo y patrimonio cultural. Vol. 12. Pp. 425-432, México.

García- Méndez, S. 2004. Estudio nutricional comparativo y evaluación biológica de tortillas de maíz elaboradas con diferentes métodos de procesamiento. Instituto politécnico nacional, México.

González, J. A., y Prado, E. F. 2013. Quínoa: aspectos biológicos, propiedades nutricionales y otras consideraciones para su mejor aprovechamiento. Facultad de ciencias culturales e IML, Argentina.

Rojas, W; Vargas- Mena, A; Pinto- Porcel, M. 2016. La diversidad genética de la quinua: potenciales usos en el mejoramiento y agroindustria. Universidad mayor de san Andrés, Bolivia.

- Bello- Pérez, L. A., Osorio Díaz, P., Agama Acevedo, E., Núñez Santiago, C., Paredes López, O. 2002. Propiedades químicas, fisicoquímicas y reológicas de masa y harina de maíz nixtamalizado, *Agro ciencia*, Vol. 3.Pp. 319-328, México.
- De Teresa-Ochoa, A. P., y Viniestra, G. 2009. Temas selectos de la cadena Maíz-Tortilla, Un enfoque multidisciplinario. Ed. Universidad Autónoma Metropolitana, México. pp.143-170.
- Torres, F; Moreno, E; Chong, I; Quintanilla, J. (1996). La industria de la masa y la tortilla, desarrollo y tecnología. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Ramirez-Wong, B., Steat, V., Torres, P., and Rooney, L. 1993. *Cereal Chem.* 70(3):286-290
- INIAP. 2004. Textura de alimentos, medida instrumental y aplicaciones. Departamento de nutrición y calidad, estación experimental santa catalina, quito, ecuador.
- García, J; Perez A; Acosta, H. Villada, H; 2006. Reología de masas de maíz reforzadas con manitol y CMC. *Facultad de ciencias agropecuarias*, Vol. 4. Pp. 51-57. México.
- Gasca-Mancera, J. C., y Casas-Alencáster, N. B. 2007. Adición de harina de maíz nixtamalizado a masa fresca de maíz nixtamalizado. Efecto en las propiedades texturales de masa y tortilla. *Revista mexicana de ingeniería química*. Pp. 317-328.
- Jiménez- Juárez, JA., Arámbula- Villa, G., De la Cruz- Lázaro, E., y Aparicio- Trapala, Ma. 2012. Características del grano, masa y tortilla producida con diferentes genotipos de maíz del trópico mexicano. *Universidad y ciencia Trópico húmedo*. Pp. 145-152.
- Fernández- Sesma, L., 1993 Revisión de la tecnología del proceso de elaboración de la tortilla de maíz. Universidad de Sonora.
- López-Espíndola, M., Herrera-Corredor, J. A., Balderas-López, J. M., Argumedo-Macías, A., Hernández-Cázares, A. S., Muñoz-Márquez Trujillo, R. A. 2020. Caracterización fisicoquímica de masas de maíz (*Zea mays* L) nixtamalizado caso Córdoba, Veracruz, México. *Revista Agro producción*. Pp. 9-14.
- Peña-Reyes, R. A., Fernández-Perrino, F. J., Ramírez-Romero, G. A., Cruz-Guerrero, A. E. 2015. Análisis de textura de masa y tortilla elaboradas con maíz nixtamalizado en diferentes procesos. Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa. Pp. 1
- Bedolla, S., and L. W. Rooney. 1982. Cooking maize for masa production. *Cereal Foods World* 27: 219-221.
- Bourne, M. C. 1982. Food texture analysis. *Food Technology* 32: 62-66
- Bressani, R. 1990. Chemistry, technology and nutritive value of maize tortilla. *Food Reviews International* 6: 225-264.

## **Efecto del microencapsulamiento del aceite de nuez pecanera *Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch en alginato de calcio sobre algunos parámetros de calidad**

Reyes-Cano, L.<sup>2</sup> y Reyes-Vázquez, Nohemí del C.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Ingeniería en Nanotecnología. Instituto Tecnológico Superior de Poza Rica C. Luis Donaldo Colosio Murrieta S/N. Arroyo del Maíz C.P. 93230. Poza Rica de Hidalgo, Veracruz, México.

<sup>2</sup> Subsele Noreste. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A. C. Vía de la Innovación 404. Autopista Mty-Aeropuerto Km 10, Parque PIIT. C.P. 66629. Apodaca, Nuevo León, México.\* [nreyes@ciatej.mx](mailto:nreyes@ciatej.mx).

### **RESUMEN**

En esta investigación se extrajo aceite de nuez pecanera variedad criolla por prensado en frío, y posteriormente se micro encapsuló en esferas de alginato de calcio, evaluándose la relación aceite-alginato 20:80, 30:70 y 40:60 sobre estabilidad de la emulsión, eficiencia de encapsulamiento, diámetro y cantidad de esferas. El incremento en la cantidad de aceite produjo emulsiones estables con eficiencia de encapsulamiento distintas ( $P < 0.05$ ) con 93, 91 y 85% respectivamente sin modificar ( $P > 0.05$ ) el diámetro con 1 mm y cantidad de esferas de 25g. Para las pruebas del efecto de encapsulamiento sobre la calidad del aceite se prepararon lotes de aceite encapsulado sin antioxidante (AE), con antioxidante (AEax), y aceite sin encapsular sin antioxidante (AL) y con antioxidante (ALax), sometidos a 0, 10 y 20 días de almacenamiento a 37 °C, para después evaluar los índices de acidez, yodo y peróxidos. Después de 20 días de almacenamiento estos índices permanecieron sin cambios ( $P > 0.05$ ). El AEax presentó peroxidación a un nivel de 1.4 m.e.O<sub>2</sub>/Kg aceite menor ( $P > 0.05$ ) a ALax con 1.6 m.e.O<sub>2</sub>/Kg de aceite. Estas microcápsulas tienen potencial para su aplicación dentro de la industria alimentaria en productos nutracéuticos y funcionales.

**Palabras clave:** Aceite de nuez pecanera, Alginato de calcio, Encapsulamiento, Índice de peróxidos

### **ABSTRACT**

In this research, pecan nut oil was extracted from the criolla variety by cold pressing, and subsequently it was microencapsulated in calcium alginate spheres, evaluating the oil-alginate ratio 20:80, 30:70 and 40:60 on emulsion stability, encapsulation efficiency, diameter and number of spheres. The increase in the amount of oil in the emulsion produced stable emulsions with different encapsulation efficiency ( $P < 0.05$ ) with 93, 91 and 85% respectively without modifying ( $P > 0.05$ ) the diameter with 1 mm and number of spheres of 25g. For the tests of the effect of encapsulation on the quality of the oil, batches of encapsulated oil without antioxidant (AE), with antioxidant (AEax), and unencapsulated oil without antioxidant (AL) and with antioxidant (ALax) were prepared, subjecting them to 0, 10 and 20 days of storage at 37 °C, to later evaluate the acidity, iodine and peroxide values. After 20 days of storage these indices remained unchanged ( $P > 0.05$ ). The AEax presented peroxidation at a level of 1.4 m.e.O<sub>2</sub>/Kg of oil lower ( $P > 0.05$ ) than ALax with 1.6 m.e.O<sub>2</sub>/Kg of oil. These microcapsules have potential for application within the food industry in nutraceutical and functional products.

**Keywords:** Pecan nut oil, Calcium alginate, Encapsulation, Peroxide value.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años y de acuerdo con cifras del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) (2021), México se ubicó en el 2020 como el segundo exportador en volumen de nuez pecanera, con una participación del 14.9% a nivel mundial. Este organismo señala que el principal estado productor en ese mismo año fue Chihuahua con una participación de 62.9 % y una tasa media anual de crecimiento de 5.4%, seguido de Sonora con una participación de 14.3 %, Coahuila, con 10.7 % y en el estado de Nuevo León la producción de nuez pecanera representa una importante fuente de ingresos para el estado, ya que de acuerdo con Olivas et al. (2019) el Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) para el año 2018 se registraron 4, 534 toneladas que representan 310 millones de pesos para la entidad federativa. Dentro del estado de Nuevo León aproximadamente 26 municipios distribuidos en cuatro distritos de desarrollo rural; siendo Rayones, Bustamante y General Terán los que concentran el 57% del total del área sembrada y el 54 % del total de la producción a nivel estatal que ascendió en el 2017 a 4,248 toneladas aproximadamente

Existen diferentes maneras de comercializar la nuez pecanera o sus derivados, tales como el aceite. Para extraer el aceite de la nuez pecanera, actualmente existen diferentes métodos que ayudan a facilitar el trabajo, sin embargo, no todas suelen extraer la máxima cantidad de aceite de la almendra de la nuez.

Uno de los dispositivos más conocidos para extraer aceite de diferentes semillas es la prensa Expeller; también conocida como prensa de tornillo, la cual, de acuerdo con Galarraga (2015), menciona que, en este dispositivo, la extracción del aceite se realiza de manera continua, donde la obtención del aceite ocurre en un solo paso y este se realiza por medio de un husillo el cual transporta el alimento por los diferentes componentes de la máquina, hasta obtener el aceite.

Sin embargo, no basta con solo extraer el aceite, ya que esté; para su conservación, debe de presentar ciertas características químicas que ayuden a prolongar el tiempo de vida de anaquel.

En su composición química el aceite de nuez pecanera está compuesto por una alta proporción de ácidos grasos monoinsaturados, particularmente de ácido oleico (omega 9), cuyo rango de variación es de entre 49,5 y 67,7 %; además, contiene ácido linoleico (omega 6) el cual está comprendido entre 22,6 y 39,0 %, y el ácido linolénico (omega 3) mismo que está presente entre una variación del 0,9 y 1,7 % (Panozzo, 2018).

Existen varios métodos de conservación de aceite, uno de ellos es el uso de antioxidantes, los que pueden ser naturales y sintéticos. Entre los naturales se encuentran la vitamina E (en sus diversas formas alfa, gama, delta, etc., tocoferol), los betacarotenos y el ácido ascórbico, entre otros (Mejía, Pérez & Rosas, 2014). Respecto a los antioxidantes sintéticos, de los más conocidos y aprobados están el TBHQ (Terbutil Hidroquinona o Tertiary ButylHidroQuinone), BHA (Butil Hidroxi Anisol), BHT (Butil Hidroxi Tolueno) y PG (éster Propílico del ácido Gálico). Adicionalmente, otros métodos de conservación novedosos como son los micro encapsulamiento y nano encapsulamiento que se caracterizan por interacción del material central y el ambiente externo, en ingredientes como aceite que son sensibles al calor, luz y humedad que tienden a oxidarse (Rodríguez y Ayala, 2014). Entre los materiales utilizados para encapsular se encuentran gomas, proteínas y carbohidratos como maltodextrinas, gomas y alginato los cuales son ser grado alimenticio, biodegradables y capaces de formar una barrera entre la fase interna y su alrededor (Nedovic et al., 2011).

El presente proyecto tuvo como propósito el extraer aceite de nuez pecanera criolla, encapsularlo con alginato de calcio en diferentes proporciones, evaluando la estabilidad de la emulsión, eficiencia del

encapsulamiento, diámetro y cantidad de esferas formadas. Una vez encapsulado, se determinó el efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la calidad química del aceite en cuanto a sus índices de acidez, yodo y peróxidos.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Materiales**

Lote descascarado de 10kg de nuez pecanera variedad criolla. Proveniente del huerto Los Corcovados del municipio de Rayones, Nuevo León. A partir de este lote se obtuvo aceite mediante prensado utilizando un tornillo speller. Se utilizó alginato de sodio de marca Sigma-Aldrich, lote SHBL1627, y cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) para el encapsulamiento del aceite. Se prepararon y valoraron algunos reactivos como etanol neutro y el hidróxido de sodio 0.01N. El resto de los reactivos para pruebas de caracterización como n-hexano, cloroformo, ácido acético, tiosulfato de sodio 0.1N, fenoltaleína, solución Hanus, etanol, hidróxido de potasio y almidón fueron obtenidos de Desarrollo de Especialidades Químicas SA de CV (Monterrey, Nuevo León, México) y Sigma-Aldrich (St. Louis, Mo, EE UU).

#### **Extracción de aceite de nuez pecanera.**

se utilizó una extractora de prensado HouseHold Oil Press, (Guangdong, China). El aceite obtenido de la máquina de extracción se centrifugó (Thermo Fisher, MEGAFUGER 16R).

#### **Elaboración de la emulsión.**

Se prepararon emulsiones de aceite de nuez pecanera y alginato de sodio de acuerdo a lo reportado por Chan (2011), con algunas modificaciones. Se realizaron experimentos para evaluar el efecto de la relación aceite:alginato en proporciones 20:80, 30:70 y 40:60 sobre la estabilidad de la emulsión.

#### **Microencapsulación.**

El proceso de microencapsulado del aceite de nuez se realizó mediante la técnica extrusión con aguja de 0.3 mm de diámetro para después polimerizar por intercambio iónico con cloruro de calcio 15g/L de acuerdo a lo reportado por Chan (2011). Una vez obtenidas las esferas se evaluó la eficiencia de encapsulamiento, diámetro y forma de las esferas.

#### **Eficiencia de encapsulamiento.**

El aceite que no fue encapsulado antes del secado se determinó midiendo el peso de aceite libre que quedó en la solución de cloruro de calcio con un embudo de separación y una cantidad de hexano, así como en la superficie de las perlas húmedas donde se utilizó papel filtro para absorber el aceite de la superficie en húmedo el cual fue pesado antes y después de agregarle las perlas húmedas. El aceite recuperado fue depositado en una capsula de porcelana previamente tarada en estufa por seis horas a 120°C. Con el fin de evaporar las trazas de hexano

La diferencia entre la cantidad inicial de aceite usado ( $W_1$ ) y el aceite no encapsulado después del secado ( $W_2$ ) da la cantidad de aceite encapsulado ( $W_3$ ), como se muestra en la ecuación (1).

$$w_3 = w_1 - w_2 \quad (1)$$

La eficiencia de encapsulamiento ( $W_4$ ) se determinó dividiendo la cantidad de aceite encapsulado ( $W_3$ ) entre la cantidad inicial de aceite usado ( $W_1$ ) multiplicado por 100, como se muestra en la ecuación (2).



$$w_4 = \frac{w_3}{w_1} \times 100\% \quad (2)$$

#### **Tamaño y forma de esferas.**

El tamaño de las esferas se determinó con ayuda de un asimeto digital micrometer, tomando el diámetro de 10 esferas para cada tratamiento. Para poder visualizar la forma de la esfera se tomó foto en un microscopio 40x (Figura 1) (MICROSCOPE 29AX E250223).

#### **Efecto de encapsulamiento sobre la calidad del aceite.**

Para evaluar el efecto del encapsulamiento sobre la calidad del aceite, se prepararon dos lotes de 500 ml cada uno de aceite de nuez encapsulado a las mejores condiciones de eficiencia de encapsulamiento, tamaño y forma que fueron 30:70 aceite: alginato; en uno de ellos el aceite encapsulado no contenía antioxidante, y en el otro contenía un volumen de antioxidante comercial (Duralox®oxidation management blend NM-110, XT código 62.100.02). Adicionalmente se prepararon lotes de aceite sin encapsular sin y con antioxidante comercial. Estos cuatro tratamientos fueron almacenados a 37°C, tomando muestras a los tiempos 0, 10 y 20 días.

Una vez transcurrido el tiempo de almacenamiento, la recuperación del aceite encapsulado se llevó a cabo en un equipo de agitación marca Thermo científico modelo 4314 en los tubos Falcón con hexano a 250rpm por 2 horas. Fue transferido a un matraz de bola al abrigo de la luz, el cual se adaptó a un rota vapor Modelo: RW-0525G a 45 °C y 200rpm por 30 minutos. Inmediatamente el aceite recuperado se analizó

#### **Parámetros químicos.**

Los parámetros químicos como índice de acidez, yodo y peróxidos se realizaron en base a lo reportado por Pacheco y Acereto, (2015).

#### **Análisis Estadístico.**

Los datos obtenidos de cada uno de los experimentos fueron procesados estadísticamente. Para el análisis de varianza y comparación de medias mediante la mínima diferencia significativa con la ayuda del programa STATGRAPHICS, versión 18.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La nuez de Rayones criolla, tuvo un 57.3% de la cascara 30% de almendra y 1.02% que corresponde a la merma, con rendimiento de aceite y pasta de 69.07 y 29.12% respectivamente, por tanto, se confirmó su clasificación como nuez tipo criolla de calidad II.

En cuanto a la nuez mejorada es pequeña con cascara delgada, la cual presentó una relación cascara/almendra del 37.3% y 48.3%, además presentó un 6.2% de merma, tuvo un rendimiento de aceite de 64.62% y un 34.11% de pasta. Debido a su porcentaje de almendra del 48.3%, no se clasificó dentro del tipo I mejorada ( $\leq 54\%$ ) ni tipo II ( $\leq 50\%$ ), clasificándose como nuez criolla tipo I. Por tanto, con base a la normatividad de la nuez pecanera, la calidad de la nuez de rayones es respecto a la calidad de la nuez rayones tipo I y II. Además, con base al contenido de aceite se seleccionó la que contenía una mayor cantidad de aceite que fue rayones criolla tipo II.

**Evaluación del efecto de la relación concentración de alginato.**

En el cuadro 1 se muestran los resultados en cuanto a los tratamientos relacionados con las distintas concentraciones aceite: alginato sobre la estabilidad de la emulsión, eficiencia de encapsulamiento, diámetro y cantidad de esferas producidas. Se puede observar que la estabilidad de la emulsión después de una hora de preparación decrementó conforme la cantidad de aceite se incrementa y disminuye la cantidad de alginato. Es decir, para aceite: alginato 20:80;30:70 y 40:60 se separaron 6,5 y 4ml de aceite respectivamente. Estos resultados fueron diferentes de acuerdo a lo reportado por Eng-Seng,2011, quienes obtuvieron emulsiones estables a condiciones aceite: alginato 30:70.

Cuadro 1. Efecto de la relación aceite: alginato sobre estabilidad de la emulsión, eficiencia de encapsulamiento, diámetro y cantidad de esferas.

Tratamiento Aceite: alginato	Estabilidad de la emulsión (mL)	Eficiencia de encapsulamiento. (%)	Diámetro de esfera. (mm)	Esferas húmedas (g)
<b>20:80</b>	6c	93.705±3.22 b	1.1739±0.02 a	24.65±6.12 a
<b>30:70</b>	5b	91.887±0.95 b	1.0627±0.0002 a	25.4±3.38 a
<b>40:60</b>	4a	85.102±0.63 a	1.064±1.68 a	25.25±0.12 a

Letras distintas en columnas indican una diferencia significativa (P<0.05)

**Eficiencia de encapsulamiento.**

Los diferentes tratamientos mostraron que la relación 40:60 fue de 85.10% significativamente (P<0.05) menor que a 20:80 y 30:70 con 93.70 y 91.88% respectivamente los cuales no presentaron diferencia significativa (P>0.05) . Estos resultados concuerdan con lo reportando por Eng- Seng, (2011) quienes reportaron que, a una mayor concentración de aceite, la eficiencia de encapsulación disminuye, es decir la cantidad de aceite encapsulado, es menor al no encapsulado. En estos resultados la relación 40:60 sólo logro encapsular el 85% del aceite. Se pudo observar en los experimentos una mayor cantidad de aceite en la superficie de la esfera y además aceite en la superficie del cloruro de calcio durante el proceso de polimerización para formar la esfera, comportamiento que no se observó en la relación 30:70 y 20:80, por lo que se seleccionó la concentración de 30:70 para experimentos posteriores.

**Tamaño de esfera.**

Las esferas formadas tuvieron un diámetro de 1 mm independientemente a la relación de aceite: alginato, sin diferencia estadística significativa entre ellas (P>0.05) como se puede observar en la Figura 1. Estos diámetros son menores a lo reportado por Eng-Seng.2011, con 1.8 mm.

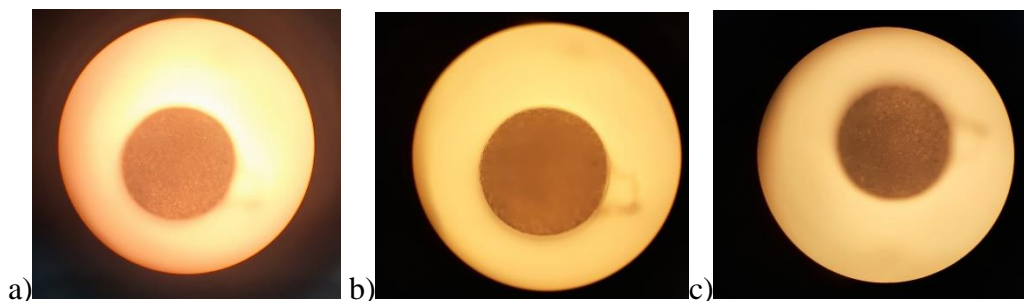


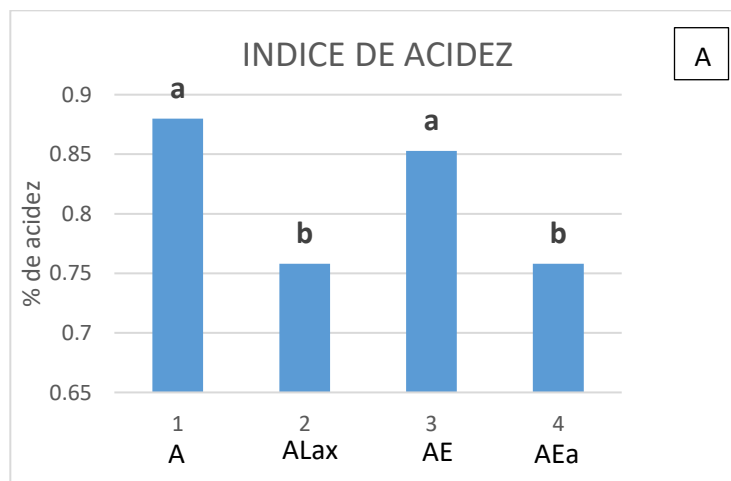
Figura 1 Aspecto de las esferas húmedas obtenidas en diferentes relaciones de aceite alginato bajo MICROSCOPE 29AX E250223 40X. A) capsula relación aceite: alginato 20:80, b) capsula relación aceite: alginato 30:70 y c) capsula relación aceite: alginato 40:60.

### Evaluación de la calidad fisicoquímica del aceite de nuez

se muestran los resultados del almacenamiento a 37° C durante 20 días del aceite de nuez sin y con encapsulamiento, los cuales fueron tratados sin y con antioxidantes respectivamente sobre la calidad fisicoquímica del aceite en los parámetros: índices de acidez, yodo y peróxido.

#### Índice de acidez.

En la Figura 2A se puede observar que el AL tuvo una acidez de 0.87% el cual disminuyó significativamente ( $P < 0.05$ ) en presencia del antioxidante comercial Duralox que contiene 10% de tocoferoles. Cabe destacar que el encapsulamiento no favoreció la disminución de acidez manteniéndola similar ( $P > 0.05$ ) al aceite crudo de nuez sin antioxidante. Los resultados encontrados para el aceite de nuez crudo para el índice de acidez fueron de 0.87% en comparación a lo reportado por Oro, et al, 2009 que obtuvo 0.13 mg KOH/g de aceite de nuez pecanera de Brasil. Debido a que se reportan unidades distintas de evaluación de este índice no es posible compararlos directamente.



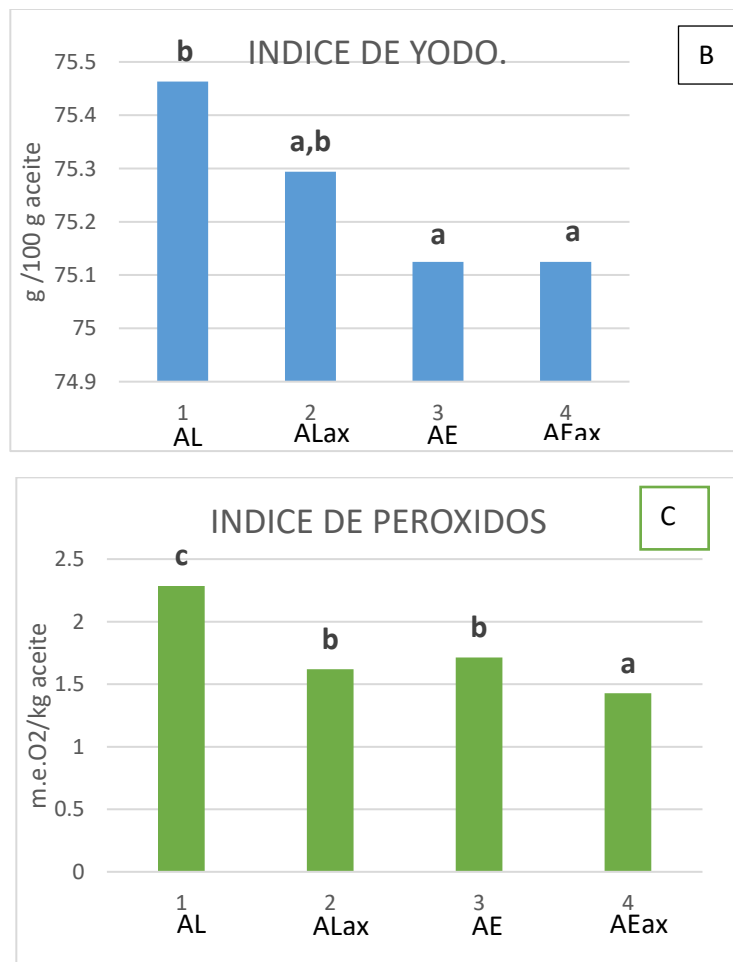


Figura 1 Calidad fisicoquímica en cuanto acidez, yodo y peróxido para aceite libre(AL), aceite libre con antioxidante(ALax), aceite encapsulado(AE) y aceite encapsulado con antioxidante(AEax) Letras distintas en columnas indican una diferencia significativa ( $P < 0.05$ )

### Índice de yodo.

El índice de yodo del aceite de nuez pecanera (Fig. 2B) medida por el método Hanus fue de  $75.46 \pm 0.49$  el cual disminuyó con la presencia del antioxidante a  $75.29 \pm 0.24$  sin diferencia significativa ( $P > 0.05$ ). Sin embargo, la presencia del encapsulamiento y la adición del antioxidante más el encapsulamiento disminuyó mínima pero significativamente ( $P < 0.05$ ) este índice de yodo a 75.12 en ambos casos. Este resultado fue menor al reportado por Oro, *et al.*, 2009 con 98.4 para aceite crudo de nuez pecanera cultivado en Brasil evaluado por el método Wijs

### Índice de peróxidos.

El nivel de peróxidos del aceite crudo de nuez pecanera fue de 2.28 m.e O<sub>2</sub>/kg y tanto la presencia de antioxidantes como encapsulamiento disminuyó significativamente ( $P < 0.05$ ) hasta  $1.61 \pm 0.14$  y 1.71 m.e O<sub>2</sub>/kg respectivamente (Fig. 2C). Cabe destacar que cuando se combinó el antioxidante y el encapsulamiento del aceite de nuez pecanera el nivel de peróxidos disminuyó significativamente ( $P < 0.05$ ) hasta 1.42 m.e O<sub>2</sub>/kg lo que significa que, a las condiciones evaluadas, este importante

parámetro de la calidad de los aceites, el uso de antioxidante junto con el encapsulamiento es efectivos para controlar el índice de peróxidos, lo que potencialmente prevendría la rancidez del producto.

Se han reportado por Oro *et al*, 2018 niveles de peróxido de 0.55 m.e  $O_2$ /kg en aceite crudo de nuez pecanera virgen que se incrementó hasta 5.65 m.e  $O_2$ /kg a los 60 días de almacenamiento a 22.5° C. En otros resultados, Romero-Hernández *et al* 2021 en de aceite de aguacate encapsulado con almidón modificado de *Colocasia esculenta* var, Esculenta, taro, utilizando secado por aspersión para la encapsulación presentó un valor de peróxidos mayor con 26.19 m.e  $O_2$ /kg a las cuatro semanas de almacenamiento a 60° C, mientras que en el aceite libre presento 57.59 m.e /kg bajo las mismas condiciones.

### CONCLUSIÓN

Con base a la normatividad la calidad de la nuez de rayones se clasifico como criolla tipo I y II con rendimientos de aceite de 69%, por lo que se sugiere su explosión comercial de este tipo de nuez para producción de aceites gourmet.

El método de extrusión mediante polimerización por intercambio iónico con alginato de calcio tiene potencial para producir microesferas de 1 mm de diámetro y eficiencia de encapsulamiento de 91.88 %.

El proceso de encapsulamiento con alginato de calcio; en combinación con antioxidantes, favorece una mayor estabilidad del aceite en cuanto a su parámetro critico de calidad que es el nivel de peroxidación. Estas microcápsulas tienen potencial aplicación en productos alimenticios fortificados que pueden incrementar sus propiedades funcionales tales como más ácidos grasos insaturados y mayor actividad antioxidante que pueden favorecer la salud del consumidor.

### BIBLIOGRAFÍA

- Acereto, F. E. (2015). *ALIMENTOS Manual de analisis fisicoquimicos*. Mérida, Yucatán, México.
- Eng-Sen, C. (2011). Preparation of Ca-alginate beads containing high oil contends Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. *Carbohydrate polymers*, 1215-1436.
- Mejía, D., Pérez, M., & Rosas, M. (2014). ¡ALERTA! TBHQ en alimentos con grasa. *Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Universidad Veracruzana*, 5-10.
- Nevodic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., & Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1806-1815.

- Olivas, A., Rodríguez, C., Cabrera, E., Obregón, E., Longoria, G., García, J., . . . Tarango, S. (2019). *Agronomía sustentable y aprovechamiento alternativo de la nuez*. Obtenido de CIATEJ: <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/671/1/LIBRO%20NUEZ%20Noreste.pdf>
- Oro, T., Bolini, H. M. A., Arellano, D. B., & Block, J. M. (2009). Physicochemical and sensory quality of crude brazilian pecan nut oil during storage. *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(10), 971–976. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1434-z>
- Panozzo, M. (08 de Agosto de 2018). *Caracterización de aceite varietal de nuez pecán*. Obtenido de Artículo de Divulgación : <https://inta.gov.ar/documentos/caracterizacion-de-aceite-varietal-de-nuez-pecan>
- Sandoval, A., Rodríguez, E., & Ayala, A. (30 de Abril de 2014). *Encapsulación de Aditivos para la Industria de Alimentos*. Obtenido de CORE: <https://core.ac.uk/download/pdf/11861481.pdf>
- Tatiana, O., Paulo, J., Dias, R., & Daniel, B. J. (Junio de 2018). *Centro de Ciencias Agrárias, Departamento de Ciência de Alimentos, UFSC – Florianópolis – SC, Brasil*. Obtenido de Evaluación de la calidad durante el almacenamiento de nueces Pecán [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] acondicionadas en diferentes envases: [https://www.researchgate.net/publication/26524153\\_Evaluacion\\_de\\_la\\_calidad\\_durante\\_el\\_almacenamiento\\_de\\_nueces\\_Pecan\\_Carya\\_illinoensis\\_Wangenh\\_C\\_Koch\\_acondicionadas\\_en\\_diferentes\\_envases/fulltext/00af6b5e0cf2dee9aed141d6/Evaluacion-de-la-calidad-durante](https://www.researchgate.net/publication/26524153_Evaluacion_de_la_calidad_durante_el_almacenamiento_de_nueces_Pecan_Carya_illinoensis_Wangenh_C_Koch_acondicionadas_en_diferentes_envases/fulltext/00af6b5e0cf2dee9aed141d6/Evaluacion-de-la-calidad-durante)
- Valdiviezo-Morales, L., Ortega-Cerrilla, M., Vaquera-Huerta, H., Kawas-Garza, J., Zetina-Córdoba, P., & Miranda-Jiménez, L. (2017). Micro Y Nanoencapsulación: Una Perspectiva Biotecnológica En La Producción Animal Micro and Nano Encapsulation: a Biotechnological Perspective in Animal Production. *Agroproductividad*, 63-68.

## **Características Físicas y Sensoriales de Pastel elaborado con Margarina, Aceite y su mezcla**

L. Vázquez-Chávez y C. Hernández -López\*

División de Ciencias Biológicas y de la Salud Departamento Biotecnología Área Alimentos  
Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa Av. Michoacán y La Purísima Col. Vicentina Iztapalapa  
Ciudad de México [lvch@xanum.uam.mx](mailto:lvch@xanum.uam.mx)

### **RESUMEN**

Se determinaron características físicas y sensoriales de tres pasteles elaborados con diferentes grasas tales como; margarina, aceite y una mezcla de margarina/aceite. Se evaluó la densidad de la masa, la pérdida de agua en el horneado, el área de una rebanada y las características organolépticas olor, sabor, textura sabor y aceptación general del pastel. El uso de aceite en la elaboración de pastel aumentó, la densidad de la masa, así como la dureza y la humedad del pastel, mientras que pérdida de peso del pastel en la cocción disminuyó. El análisis de textura mostró que las diferentes grasas usadas en la elaboración de pasteles afectaron significativamente la dureza, la cohesividad, la gomosidad y masticabilidad del pastel. Los análisis sensoriales no mostraron diferencia significativa de preferencia entre el pastel hecho con margarina y el pastel hecho con mezcla margarina/aceite

**Palabras clave:** pastel, margarina-aceite, análisis físico-sensorial

### **ABSTRACT**

Physical and sensory characteristics of three cakes made with different fats such as; margarine, oil and a margarine / oil mixture. The density of the dough, the loss of water in baking, the area of a slice and the organoleptic characteristics of smell, taste, texture, flavor and general acceptance of the cake were evaluated. The use of oil in the preparation of cake increased, the density of the dough as well as the hardness and moisture of the cake, while the weight loss of the cake in baking decreased. The texture analysis showed that the different fats used in making cakes significantly affected the hardness, cohesiveness, rubberiness and chewiness of the cake. Sensory analysis showed no significant difference in preference between cake made with margarine and cake made with margarine / oil mixture.

**Keywords:** Cake, margarine-oil, physical-sensory analysis

## INTRODUCCIÓN

Las grasas en los productos de panadería tornan más suave la textura, atrapan las burbujas de aire en la masa del pastel durante el mezclado y ayuda a leudar el producto- La grasa suaviza la miga contribuye a que el pastel sea tierno y da una sensación bucal húmeda. La grasa tiende a formar una miga más húmeda debido a que la lubricación que la grasa proporciona a las proteínas La grasa protege las proteínas de la harina, actuando como una capa para evitar que entren en contacto con la humedad. Si todas las proteínas de la harina se mezclaran con los ingredientes líquidos de la receta, se obtendrán panes duros y sin esponjar. En cambio, con la grasa se conservan proteínas del gluten y se acorta el número de cadenas que se van a desarrollar. Por esta razón, la grasa, modifica la densidad del pan. Las grasas en general hacen que los pasteles queden suaves, esponjosos y aireados, además de que ayudan a reducir las posibilidades de que se desmoronen fácilmente. La grasa, el azúcar, el huevo y la harina son los ingredientes principales utilizados para hacer un pastel y cada uno tiene un papel funcional importante en la estructura y calidad del producto. Una masa para pastel se caracteriza por ser un sistema viscoelástico complejo. La cocción del pastel produce una estructura ligera y aireada, de la masa, así como la formación de compuestos volátiles, que juegan un papel importante en el desarrollo de su sabor y olor típico. Estos compuestos son el resultado de la reacción de Maillard, que ocurre entre la reducción de azúcares y los aminoácidos, péptidos y proteínas entre otros compuestos formados. La selección de ingredientes, así como el proceso de elaboración puede modificar la estructura y características del pastel. El aceite en pasteles otorga una sensación de suavidad al masticarlo, así como una sensación bucal húmeda y lubricación, desapareciendo más fácilmente la sensación grasosa de las superficies de la boca. Los aceites tienen mayor nivel de grasas insaturadas con un contenido reducido de ácidos grasos trans permaneciendo en estado líquido a temperatura ambiente. En cambio, las grasas solidas como la margarina presentan mayor nivel de grasas saturadas siendo más firmes a temperatura ambiente y necesitar más calor para fundirse. Las grasas más saturadas (sólidas) funcionan mejor para dar cremosidad a una pasta para pastel. Al cremar la grasa y los azúcares, se agrega aire a la mezcla, ayudando a que durante la cocción los pasteles esponjen.

El objetivo de este estudio fue evaluar las características físicas y sensoriales de pasteles elaborados uno con aceite, otros con margarina y con una mezcla aceite-margarina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los ingredientes fueron comprados en el mercado local; harina, azúcar, aceite de canola, margarina y huevos frescos. Las masas de los pasteles se prepararon de acuerdo con las fórmulas enumeradas en la Tabla 1. La grasa, y el azúcar se batieron primero durante 7 minutos a 500 rpm en una batidora eléctrica (25°C). Los huevos enteros, fueron mezclados aparte suavemente hasta obtener una mezcla homogénea y se adicionaron a la mezcla grasa azúcar. Posteriormente se adicionaron a la mezcla el resto de los ingredientes y se incorporaron bajo un mezclado constante durante 4 minutos. Las masas de los pasteles fueron divididas en porciones y se colocaron en moldes para ser horneados en un a 180°C durante 35 min. A los pasteles obtenidos se les realizaron las mediciones físicas y el análisis sensorial.



<b>Ingredientes (g/100g masa)</b>	<b>Margarina</b>	<b>Margarina/aceite</b>	<b>aceite</b>
Aceite	---	8.5	17
margarina	20	10	----
Agua	---	3.5	7.5
azúcar	20	20	20
Huevo entero	20	20	20
Polvos hornear	5	5	5
harina	30	30	30

La densidad de la masa del pastel se expresó como la relación entre el peso de la masa y el peso del mismo volumen de agua destilada. La pérdida en el horneado se determinó pesando los pasteles antes y después de 24h. Se midió el área de la rebanada de pastel. El análisis de perfil de textura se llevó a cabo en muestras de pan cortado en forma de cilindro (2.2 cm de diámetro y 2 cm de altura) los cuales fueron sometidos a una prueba de doble compresión (50% compresión) a una velocidad constante de 1 mm/s a 20°C utilizando el TAXT2i texture analyser (Stable Micro Systems, Surrey, UK) equipado con una placa de aluminio de 100 mm de diámetro. Parámetros de textura (dureza, adhesividad, elasticidad, cohesión, gomosidad, masticabilidad) se calcularon a partir de las curvas de fuerza-tiempo generadas para cada muestra. Un panel de 15 catadores no entrenado realizó pruebas sensoriales. Los pasteles recién cortados fueron evaluados por su apariencia, sabor, textura y aceptación general. Se usó una escala hedónica de 5 puntos (desde 1 = muy poco agradable, a 5 = muy agradable). Las muestras codificadas, de cada pastel, se presentaron al azar a los panelistas. Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) y análisis de medias por la prueba de Tukey a un nivel de  $p < 0.05$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla II, se muestra la densidad de la masa del pastel obtenida. También se puede observar la pérdida de peso después de 24h. Los panes hechos con aceite presentaron aumentó en la densidad de la masa del pastel lo que sugiere que se incorporó menos aire en la masa. La masa de pastel, preparada con margarina, mostro un valor de densidad de 0,94, mientras que las masas hechas con la mezcla de margarina/aceite o únicamente aceite mostraron densidades de masa de 0,96 y 0,98, respectivamente. Este aumento en densidad de la masa con la adición de aceite podría atribuirse como se ha mencionado a una menor capacidad del aceite para atrapar aire en comparación con la masa hecha con margarina. El aire en el pastel se mantiene en la fase grasa disminuyendo la cantidad de aire incorporada en el aceite. El proceso de cremado en productos de pastelería consiste en la mezcla de grasa y azúcar a la que se le incorpora aire con el fin de incrementar su volumen, esta tarea la debe realizar la materia grasa que captura el aire en forma de pequeñas burbujas en la mezcla para acumular el vapor durante el horneo, generando así el volumen, dando como resultado la formación de una espuma sólida. En presencia de margarina, las burbujas son redondas y pequeñas en cambio con aceite las burbujas son más grandes influyendo en la expansión del pastel por lo que el pastel preparado con el aceite presento rebanas con valor del área más alta

	<b>Densidad masa (g/cm<sup>3</sup>)</b>	<b>Área de la rebanada (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>% Pérdida de peso</b>
Margarina	0.94 c	28.5b	10.3b

Margarina/aceite	0.97 b	29.1ab	9.5a
aceite	0.98 a	29.6a	9.4a

Diferentes letras en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ )

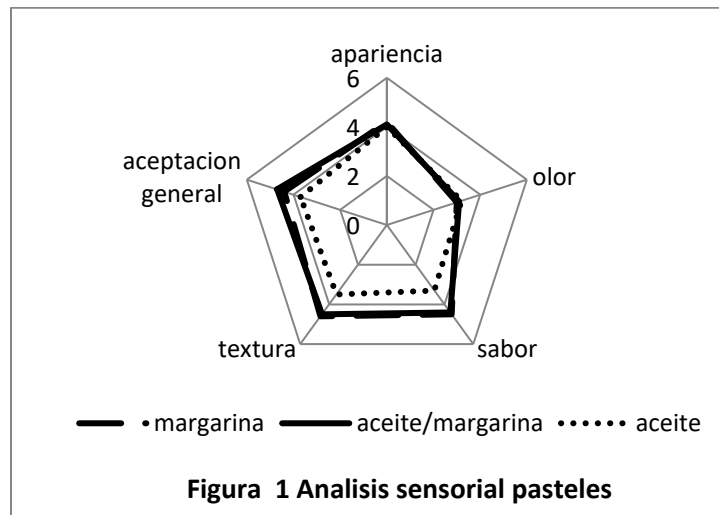
El área de la rebanada del pastel más bajo se obtuvo con la masa hecha con margarina. Este comportamiento es una evidencia de que el volumen final del pastel depende no solo de la cantidad inicial de aire que se ha incorporado a la masa. Sino de la cantidad de aire retenido en la masa durante el proceso de cocción. Las matrices de pastel difieren en la viscosidad de la masa con aceite con una viscosidad más baja en comparación con el de margarina. Las masas de pastel con aceites presentaron mayor fluidez en comparación con las masas con grasa sólida plástica. Lo que podría provocar con el aceite un flujo convectivo en la masa durante el horneado y el logro de una mayor expansión. Las grasas sólidas no se derriten de manera inmediata, sino que se ablandan cuando son sometidas al calor. Se ha determinado que la viscosidad de la masa es importante para retener el aire que inicialmente se incorpora durante el mezclado. Cuando la viscosidad es demasiado baja, las burbujas en la masa suben a la superficie y se pierden en la atmósfera. Por otro lado, una viscosidad muy alta puede retener burbujas en la masa, pero puede restringir la expansión durante la cocción. Las grasas sólidas y líquidas influyen en la cantidad de aire atrapado y el aire retenido en la cocción de las masas de pastel. Por lo que el estado de grasa usado en la elaboración de masa para pastel influirá en la densidad, la viscosidad, y la tensión superficial de las masas afectando la capacidad de retención y pérdida de agua en la cocción presentándose este fenómeno principalmente en pasteles elaborados con aceites. La composición y propiedades de la grasa afectan el nivel de aireación y el volumen de las piezas durante la cocción. El papel de la grasa en las etapas iniciales de hornear es retener burbujas de gas en la masa y evitar su fusión y coalescencia. Durante la cocción, las grasas participan en la formación de la estructura leudante y la textura. La pérdida de peso en la cocción para los pasteles preparado con aceite y con la mezcla aceite/margarina fue de 8.8% y 8.9%, respectivamente. El valor más alto de la pérdida de cocción fue de 10.1%, para el pastel hecho con margarina podría atribuirse al hecho de que este pastel presenta un área de contacto aire-agua más grande, presentando una mayor cantidad de burbujas de aire pequeñas formando más canales que conducen a una mayor pérdida de agua en la cocción comparación con el pastel hecho solo con aceite. Con respecto a los parámetros de textura (tabla III) de los pasteles se observaron cambios significativos en todos los atributos, excepto la adhesividad y elasticidad de todos los pasteles.

	<b>margarina</b>	<b>Margarina/aceite</b>	<b>aceite</b>
<b>Dureza</b>	229 c	263 b	319 a
<b>Adhesividad</b>	-0.641 a	-0.068a	-0.086a
<b>Elasticidad</b>	0.815a	0.814a	0.809a
<b>Cohesividad</b>	0.592b	0.616a	0.621 a
<b>Gomosidad</b>	135 c	162b	198a
<b>masticabilidad</b>	110c	132b	160a

Diferentes letras en la misma fila son diferentes significativamente (0.05)

Tanto la dureza como la cohesividad, la gomosis y la masticabilidad resultaron ligeramente mayores para los pasteles hechos con aceite. Las grasas y aceites presentan influencia en la textura y suavidad de los pasteles. Las grasas son las responsables de que la miga en la parte interior de los pasteles sea tierna y fácil de morder. Además, proveen lubricidad en el proceso de manufactura y en la sensación de humedad que se siente en la boca cuando el producto es consumido. La masa para pasteles son sistemas complejos de una emulsión formando una espuma sólida por calentamiento. La

estructura de los pasteles depende en cierta medida de la capacidad de la grasa para atrapar burbujas de aire durante el batido de la masa de pastel, como ya se ha mencionado, este comportamiento es el resultado de la capacidad de la grasa para atrapar una mayor cantidad de aire como sucede con la margarina. La formación de canales continuos es esencial para mantener el volumen del pastel al enfriarse una vez retirado del horno. Las células de aire se expanden y luego se unen para formar canales continuos. La contracción del pastel parece deberse a la ausencia de canales. Cuanto mayor sea la cantidad de aire atrapado será mayor cantidad de canales de aire que se pueden formar dando como resultado una estructura menos cohesiva en los pasteles como en los preparados con margarina en comparación con el pastel preparado con aceite. Aunque se pueden incorporar cantidades de aire en el aceite líquido, no se puede retener y esto podría explicar la textura más compacta. Los pasteles hechos con aceites tienden a desarrollar una textura y volumen más compacta que los que se hacen con margarina. El pastel hecho con margarina resulto poco tierno, y poco ligero, con bolsas de aire y con un toque ligeramente suave. El pastel con aceite resulto ser más tierno, con más volumen migas más abierta y compacta. Los aceites proporcionan sabor dependiendo de la planta de la que son extraídas en este caso el aceite de canola no impartió ningún sabor al pastel. Los aceites se mezclan fácil y completamente en los batidos, cubriendo mejor las proteínas de cómo lo hace una grasa sólida. Como resultado se obtiene una masa con fibras cortas de gluten, que cuando se hornean producen una textura de miga muy fina y puede ayudar a prevenir que un bizcocho quede seco. Las puntuaciones medias para la evaluación sensorial de los pasteles hechos con margarina y aceite se muestran en Figura 1. La textura y sabor, de los pasteles preparado con aceite, obtuvieron en general las puntuaciones más bajas entre los tres pasteles evaluados. Los parámetros evaluados sensorialmente del pastel preparado tanto con margarina como con la mezcla aceite/margarina fueron los más aceptados por los panelistas, mientras que el pastel preparado únicamente con aceite a pesar de presentar buena apariencia con miga suave y húmeda fue el menos preferido.



El pastel elaborado con margarina y el elaborado con la mezcla aceite/margarina no mostraron diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). De acuerdo a los resultados concluimos que los pasteles hechos con aceite exhibieron mayor dureza y cohesión y menor pérdida de cocción en comparación con el elaborado con margarina. La mezcla de aceite y margarina mejoró las características del pastel elaborado solo con aceite. El pastel hecho con mezcla margarina/aceite mostro características sensoriales similares al pastel elaborado solo con margarina, sin mostrar diferencias significativas entre ellos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Conforti, F. D. 2006. Cake manufacture. In Y. H. Hui (Ed.), Bakery products: Science and technology, Vol. 22 (pp. 393–410).
- Dogan, I. S., Javidipour, I., Akan, T. 2007. Effects of interesterified palm and cottonseed oil blends on cake quality. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 157–164
- Jacob, J., & Leelavathi, K. 2007. Effect of fat-type on cookie dough and cookie quality. *Journal of Food Engineering*, 79, 299–305
- Mamat Hasmadi & Hill Sandra E 2014. Effect of fat types on the structural and textural properties of dough and semi-sweet biscuit *Food Sci Technol* 51(9):1998–2005
- Matsakidou Anthia, Blekas Georgios, and Paraskevopoulou Damantini 2010. Physical characteristics of cakes prepared by replacing margarine with extra virgin olive oil. *LWT - Food Science and Technology* 43 949–957
- Sahi, S. S., & Alava, J. M. 2003. Functionality of emulsifiers in sponge cake production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 1419–1429

## **Evaluación Física y Sensorial de Pastas hechas con mezclas de harinas de trigo y Huitlacoche (*Ustilago Maydis*)**

L. Vázquez-Chávez y Z. Zarazúa-Sánchez\*

División de Ciencias Biológicas y de la Salud Departamento Biotecnología Área Alimentos  
Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa Av. Michoacán y La Purísima Col. Vicentina Iztapalapa  
Ciudad de México [lvch@xanum.uam.mx](mailto:lvch@xanum.uam.mx)

### **RESUMEN**

El huitlacoche (*Ustilago maydis*) es un hongo que se desarrolla en la planta de maíz. En México es consumido como un alimento ancestral y tradicional. Este hongo comestible presenta propiedades nutricionales y funcionales importantes. Las agallas del hongo de huitlacoche fueron deshidratadas a 70°C por 6 horas, y molidas. La harina obtenida fue usada para sustituir semola de trigo para elaborar pastas. Los niveles de harina de huitlacoche usados fueron de 10% y 20%. Se determinó calidad de cocción y aceptación sensorial de las pastas. Los resultados indicaron un incremento en las cantidades porcentuales de fibra y proteína cuando se adicionó 10 y 20% de harina de huitlacoche a la formulación de pasta con respecto a la muestra control. Los niveles percibidos por los jueces, para los atributos de olor y sabor, así como aceptación general fueron muy buenos cuando se incorporó hasta el 10% de harina huitlacoche con respecto a la pasta control. La incorporación de harinas de huitlacoche a la pasta requirió de tres etapas, la primera consistió en la obtención de la harina; la segunda, en la elaboración de la pasta y la última en el análisis de la pasta.

**Palabras clave:** huitlacoche, harina, pastas calidad cocción y sensorial

### **ABSTRACT**

Huitlacoche (*Ustilago maydis*) is a fungus that develops on the corn plant. In Mexico it is consumed as an ancestral and traditional food. This edible mushroom has important nutritional and functional properties. The galls of the huitlacoche mushroom were dehydrated at 70 ° C for 6 hours, and ground. The flour obtained was used to replace wheat semolina to make pasta. The levels of huitlacoche flour used were 10% and 20%. Cooking quality and sensory acceptance of the pasta were determined. The results indicated an increase in the percentage amounts of fiber and protein when 10 and 20% of huitlacoche flour was added to the pasta formulation with respect to the control sample. The levels perceived by the judges, for the attributes of smell and flavor, as well as general acceptance were very good when up to 10% of huitlacoche flour was incorporated with respect to the control pasta. The incorporation of huitlacoche flours to the pasta required three stages, the first one consisted of obtaining the flour; the second, in the elaboration of the pasta and the last in the analysis of the pasta

**Keywords:** Huitlacoche, flour, pasta, cooking and sensory quality

### INTRODUCCIÓN

El huitlacoche o cuitlacoche (*Ustilago maydis* D.C. Corda) es un hongo basidiomiceto patógeno biotrófico, causante del carbón de maíz (*Zea mays* L.) de la familia Ustilaginaceae. Este hongo dimórfico es responsable de la formación de tizón del maíz, que se caracteriza por la formación de agallas carnosas o tumores llenos de teliosporas diploides, en la región meristemática de la mazorca del maíz inmaduro. Mientras que en otros muchos países productores de maíz estas agallas están identificadas como una plaga destructiva. En México donde este hongo es originario ha sido consumido desde la época prehispánica apreciando sus agallas por su característico sabor fino y delicado considerándolo como la trufa mexicana o caviar Azteca. Además este hongo posee propiedades nutricionales benéficas para el organismo humano. Se ha encontrado que el huitlacoche posee bajos niveles de grasa, pero un alto contenido de fibra además de ser una buena fuente de proteína con un alto contenido de aminoácidos como la lisina, cisteína y metionina, y de algunos ácidos grasos insaturados esenciales, como linoleico, linolénico y palmítico, así como oligosacáridos y otros carbohidratos como glucosa, fructuosa, glicerol, sorbitol y manitol. Además de minerales y vitaminas como la A (retinoides, carotenos), C y E (tocoferoles). De hecho, se ha considerado como un alimento funcional de alta calidad encontrado compuestos fenólicos, con capacidad antioxidante. Actualmente se ha estudiado su potencial como fuente de sustancias bioactivas naturales que puedan ser utilizadas en la producción de alimentos fortificados. El huitlacoche es un alimento perecedero de temporada se encuentra solo en una corta época del año razón por la cual se consume fresco y en forma casi inmediata a su recolección. La principal desventaja es su corta vida de anaquel, es debida a su alto contenido de nutrientes, falta de cutícula y alto contenido de agua, siendo susceptible de descomponerse rápidamente. Por lo que se plantea como método de conservación la deshidratación del huitlacoche para obtener harina, la cual puede ser fácilmente mezclada con otras harinas deficientes en lisina como las de trigo para aumentar su valor nutricional.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar una pasta a partir de mezcal de harinas de trigo y harina de huitlacoche y evaluar sus características físicas y organolépticas incrementando su valor nutricional.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó huitlacoche (*Ustilago maydis*) adquirido en la central de abasto de Iztapalapa del Distrito Federal para llevar a cabo la elaboración de harina de huitlacoche. La deshidratación de las agallas de huitlacoche es una forma adecuada de conservación para alargar la vida útil de este hongo. El huitlacoche se cortó asépticamente y se troceó en pedazos de 2-3 cm, se pesó y se colocó en una solución con metabisulfito de sodio 0.5% por 20 min, inmediatamente se sacaron se escurrieron y se colocaron sobre charolas de secado a 60°C durante 7 h hasta obtener un material seco (humedad menor a 12%) en un horno de secado a 60°C marca Felisa®. El hongo seco fue molido, y el material obtenido se tamizó con una malla número 30 y 50 de Tyler, y se colocó en un frasco de vidrio hermético. El rendimiento del proceso fue expresado en porcentaje, determinando la relación del peso inicial con el peso final y multiplicando el resultado por 100. Una vez obtenido el producto deshidratado se evaluaron su composición química, con los métodos oficiales de la AOAC. Se elaboró pasta alimenticia. La formulación se realizó con mezclas de harinas huitlacoche-harina trigo; 5-95, 10-90, 15-85, 20-80 g, con 55 ml de agua 1g de carboximetil celulosa. La preparación de la pasta consistió en mezclar los ingredientes harina trigo, harina huitlacoche, sal, aceite, agua. El procedimiento consistió en verter la harina en un contenedor haciéndole un espacio en medio de la mezcla para incorporar aceite y comenzar a mezclar, añadiéndole agua en cantidad suficiente hasta formar una pasta homogénea enseguida se envolvió en papel antiadherente y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 20 minutos. Después, la masa fue aplanada en una máquina para pastas. Se usaron 5 niveles de presión hasta formar una capa delgada, después se pasó por el cortador, obteniendo tiras de 25 cm de longitud, las cuales fueron colgadas para su secado. La pasta fue

deshidratada durante 24 horas a temperatura ambiente. Se determinó la fibra y proteína total de pasta seca de acuerdo con los métodos de la AOAC, 1990.

Se determinó la calidad de cocción de las pastas elaboradas; Tiempo óptimo de cocción. - definido como tiempo necesario para obtener un producto al dente, definiéndose este como el momento en el cual desaparece la zona blanquecina de la sémola, correspondiente al almidón del centro del endospermo, que aún permanece sin gelatinizar. Para la determinación, 150 g de cada pasta fueron sumergidos en 1L de agua a temperatura de ebullición, transcurrido 9 minutos de cocción, una cinta de pasta fue colocada sobre una lámina de vidrio, una segunda lámina de vidrio se utilizó para presionar suavemente a la primera, esta operación se repite cada 30 segundos hasta obtener el punto al dente. El tiempo óptimo de cocción promedio, corresponde a la suma de los 9 minutos más el tiempo necesario para lograr el punto al dente. Absorción de agua: 12,5 g de pasta correspondiente a cada tratamiento fueron cortados en trozos de un largo de 5 cm y se cocinaron hasta el tiempo óptimo de cocción en 200 mL de agua destilada hirviendo. Posteriormente se escurrió el agua y las pastas fueron sumergidas nuevamente en un volumen de 50 mL de agua por un minuto, al final del cual se dejaron escurrir y al alcanzar la temperatura ambiente fueron pesadas. Este parámetro fue calculado en términos porcentuales, restando las masas correspondientes a las pastas cocidas y no cocidas y dividiendo el resultado entre la masa inicial de las pastas. Pérdidas por cocción: el agua de cocción de una masa conocida de pastas fue recolectada y evaporada hasta peso constante en estufa de aire a 105 °C, el residuo fue pesado y se reportó como porcentaje de pérdidas con base al material original. Todos los análisis de las pruebas anteriores se realizaron por triplicado y siguiendo la metodología propuesta por la AOAC. Los análisis sensoriales de las muestras de pasta adicionadas con harina de huitlacoche fueron realizados con un panel de 20 jueces no entrenados. La aceptabilidad de las pastas se midió considerando los atributos sensoriales: color, olor, sabor y apariencia general utilizando una prueba de preferencia basada en una escala hedónica, de cinco puntos, usando una escala hedónica de agrado y desagradado asignando valores de 1, para el extremo inferior altamente desagradable, y 5, para el extremo superior altamente agradable. Los resultados fueron analizados a través mediante un análisis de varianza, prueba de Tukey ( $p=0.05$ )

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El rendimiento de la harina de huitlacoche se encontró entre 15 al 20%. El huitlacoche fresco reportó alrededor de un 80% de humedad. El análisis químico proximal de la harina de huitlacoche reportó 8.1% de humedad, 2.8 de cenizas, grasa 2.1%, proteína 14 %, fibra 30.4% y carbohidratos totales de 46.2%. El aumento de la vida de anaquel se logró con el secado eliminando agua e impidiendo el deterioro al inhibir el crecimiento de los microorganismos, y reduciendo la actividad enzimática y las reacciones químicas oxidación. Se ha reportado harina de huitlacoche con un alto contenido de aminoácidos esenciales como la lisina con una concentración de 2.97 mg/g.

La proteína total cuantificada en base húmeda para la pasta elaborada de trigo (control) fue de 12 % para pasta elaborada con 10% harina huitlacoche fue de 13.0 %, en tanto que para la pasta con 20%hs fue de 13. 8%, La pasta hecha con harina de trigo, es deficiente en aminoácidos, específicamente en lisina. La adición de harina de huitlacoche contribuyó a elevar el valor nutricional de las pastas, generando mejoras en cuanto a cantidad de proteína por complementación de aminoácidos esenciales como la lisina e incrementar el contenido de fibra.

Evaluación de la Calidad de las Pastas elaboradas. - Las características de cocción de las pastas alimenticias (tabla D) indicaron que no hubo diferencias significativas entre los distintos tratamientos con respecto al tiempo óptimo de cocción; indicando que la presencia de la harina de huitlacoche no altera el tiempo necesario para obtener una pasta cocida. En contraste los valores de absorción de agua y pérdidas por cocción se vieron modificados con respecto al tratamiento control, observándose

diferencias significativas asociadas a una relación inversa entre la magnitud de las variables evaluadas y el porcentaje de sustitución.

**Tabla I Valores promedio de los parámetros de cocción para pastas elaboradas**

Pasta	TOC	AA	PPC
Control	12a	264.3 <sup>a</sup>	8,35 <sup>b</sup>
T1=10-90%	11a	214.2 <sup>b</sup>	2,25 <sup>a</sup>
T2=20-90%	11a	195.5 <sup>b</sup>	6,15 <sup>a</sup>

Harina huitlacoche-semola trigo. TOC = tiempo óptimo de cocción (min) AA = absorción de agua (%). PPC = pérdidas por cocción (%). Promedios con la misma letra no difieren significativamente (p<0,05)

Las gliadinas y glutelinas presentes en las sémolas de trigo son las responsables de las propiedades viscoelásticas de absorción y solubilidad en agua, por lo que la incorporación de harinas con menor contenido de estos componentes afecta la formación del gluten y modifican en consecuencia las propiedades físicas de la red almidón-proteína-agua. La incorporación de la harina de huitlacoche produce una reducción tanto en la cantidad del almidón proveniente de la sémola de trigo, como el gluten presente en las mezclas. Se ha señalado que la firmeza y pegajosidad de las pastas cocidas son determinadas principalmente por la presencia de proteínas ligadas a las gliadinas mientras que los factores que evitarían la desintegración de las pastas cuando se cocinan son, por un lado, la cantidad de gluteninas con grupos SH y, por otro, la baja proporción de proteínas solubles en agua. Los resultados de las pruebas de preferencias para las variables color, olor, sabor y aspecto general para la pasta con 10% de contenidos de harina de huitlacoche obtuvieron las valoraciones favorables, en comparación con el tratamiento control. La pasta adicionada con harina de huitlacoche presentó buena aceptabilidad en cuanto a olor y sabor. A pesar de presentar color oscuro tuvo buena aceptación especialmente la pasta adicionada con 10% de harina de huitlacoche. Asimismo, se consideró que la sensación de pegajosidad que permanece en la boca después de tragar fue mínima en estas pastas. Por otro lado, la firmeza que representa la resistencia al masticar, y la elasticidad que mide el grado de adhesión al masticar fueron aceptables sin mostrar diferencia significativa entre la pasta control y la pasta elaborada con 10% de harina de huitlacoche. Mostrando defenecia significativa entre la pasta control y la elaborada con 20% de harina de huitlacoche. Los resultados en general mostraron que el uso de 10% de harina de huitlacoche mezclado con sémola de trigo, para producir pastas alimenticias resulto con muy buenas características químicas de cocción y sensoriales. Recientemente existe tendencia a desarrollar productos con más y mejor contenido proteico en productos de panificación y pastas alimenticias.

Concluimos que los resultados obtenidos para los parámetros de cocción, y la evaluación sensorial indicaron que la harina de huitlacoche en proporciones de hasta 10 % puede ser considerada como material potencial y funcionalmente adecuado para ser utilizado como ingrediente en la elaboración de pastas compuestas, con buen nivel proteico y fibra, además de tener un sabor y apariencia agradable. Desde el punto de vista tecnológico la harina de huitlacoche podría presentar una alternativa viable para ampliar y diversificar la gama de productos como las pastas alimenticias.

## BIBLIOGRAFÍA

- Amador-Rodríguez, Martínez-Bustos, Pérez-Cabrera, Posadas-Del-Río, Chávez-Vela, Sandoval-Cardoso, Y Guevara-Lara. 2015. Effect of huitlacoche (*Ustilago maydis* DC Corda) paste addition on functional, chemical and textural properties of tortilla chips. Food Sci. Technol, Campinas, 35(3): 452-459, Jul.-Set.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16a Ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists International; 199



- Beas F., Loarca P., Guzmán M., Rodríguez., Vasco M., y Guevara L. 2011. Potencial nutraceutico de componentes bioactivos presentes en huitlacoche de la zona centro de México Revista Mexicana de ciencias Farmacéuticas Volumen 42 • Número 2 • Abril - Junio
- Calderón, F, M. L. 2010. Caracterización clásica y molecular del huitlacoche [*Ustilago maydis* D. C. (Corda)], hongo de importancia social y económica en la Región Central de México. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas
- Paredes., O. 1993. Pasado, presente y futuro de la biotecnología azteca. Ciencia y desarrollo. 112:34-45.
- Paredes y col., Los Alimentos Mágicos de las culturas Indígenas Mesoamericanas. 2006. Fondo de cultura económica, Págs. 14, 15, 134-148.
- Valdez, M. M.; Valverde, M. E. y Paredes L. O. 2009. Procedimiento tecnológico para la producción masiva de huitlacoche. CINVESTAV-Irapuato. Sinnc.10-37 pp.
- Valverde, M.E., Paredes-López, O., Pataky, J.K., Guevara-Lara, F. 1995. Huitlacoche (*Ustilago maydis*) as a food source-biology, composition, and production. Crit. Rev. Food Sci. Nutri

## Optimización de métodos de extracción de R-Ficoeritrina a partir de *Porphyridium cruentum*

E. Garza-Valverde<sup>1</sup>, S.A. Cortez-Guardiola<sup>1</sup>, M.F. Guzmán-Rodríguez<sup>1</sup>, J.A. Vidales-Contreras<sup>1</sup> y C. García-Gómez\*<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Av. Francisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México. \*[celestino.garciagm@uanl.edu.mx](mailto:celestino.garciagm@uanl.edu.mx)

### RESUMEN

Las microalgas son productos naturales, valiosos y con potencial para cubrir las necesidades de alimentación. La R-Ficoeritrina (R-PE) es un pigmento obtenido de la microalga *P. cruentum* que ha ganado interés como colorante rosa en alimentos. Por lo tanto, esta investigación se enfocó en optimizar los métodos de extracción. Se utilizó Metodología de Superficie de Respuesta (RSM) con un diseño compuesto central y tres puntos centrales para evaluar la influencia del tiempo de homogenización, concentración y volumen del buffer en la obtención de R-PE y un índice de pureza (PI) alto. Los métodos evaluados fueron maceración, maceración con baño ultrasónico y maceración combinada con sonda ultrasónica. Las condiciones óptimas para maceración fueron 10 min de homogenización y 3 mL de buffer 0.1 M, para maceración con baño ultrasónico son 5 min de homogenización con 3 mL de buffer 0.1 M y para maceración con sonda ultrasónica fueron 7.9 min de homogenización con 5.7 mL de buffer 0.8 M. Los resultados mostraron el potencial de los métodos de extracción de R-PE para ser usada como colorante natural.

**Palabras clave:** Microalga, optimización, pureza.

### ABSTRACT

Microalgae are natural, valuable products with the potential to cover food needs. R-Phycoerythrin (R-PE) is a pigment obtained from the microalgae *P. cruentum* that has gained interest as a pink colorant in foods. Therefore, this research focused on optimizing extraction methods. Response Surface Methodology (RSM) was obtained with a central composite design and three central points to evaluate the influence of homogenization time, concentration and buffer volume in obtaining R-PE and a high purity index (PI). The methods evaluated were maceration, maceration with ultrasonic bath and combined maceration with an ultrasonic probe. The optimal conditions for maceration were 10 min of homogenization and 3 mL of 0.1 M buffer, for maceration with ultrasonic bath they were 5 min of homogenization with 3 mL of 0.1 M buffer and for maceration with ultrasonic probe they were 7.9 min of homogenization with 5.7 mL of 0.8 M buffer. The results showed the potential of R-PE extraction methods to be used as a natural dye.

**Keywords:** Microalgae, optimization, purity.

## INTRODUCCIÓN

Las microalgas son productos naturales y valiosos por su contenido de compuestos bioactivos y nutrientes. Son ricas en proteínas, aminoácidos, vitaminas, varios minerales, polisacáridos, esteroides y ácidos grasos (Durmaz *et al.*, 2020). Recientemente, la preocupación por problemas de salud y seguridad en el consumo de alimentos procesados ha aumentado, por lo que las microalgas han sido tendencia en aditivos naturales y se espera que también lo hagan como nutraceuticos. Debido a esto, muchas empresas han iniciado en la comercialización de alimentos funcionales que contienen biomasa de microalgas (Levasseur *et al.*, 2020). El alto contenido de proteína de varias especies de microalgas ha sido una de las principales razones para considerarlas como una fuente de alimento (Paggi, 2019).

La ficoeritrina (PE) es una proteína que se encuentra abundantemente en *Porphyra* sp. y representa del 1.3 a 1.5% de la biomasa seca. Esta molécula es soluble en agua y también fluorescente, además de pertenecer a la familia de las ficobiliproteínas (PBPs). La PE posee una buena estabilidad en un rango de pH de 3 a 10, pero un tratamiento térmico encima de 40°C reduce notablemente la intensidad del color (Simovic *et al.*, 2022). La PE se encuentra en algunas cianobacterias unicelulares que viven en ciertas condiciones de luz, casi siempre son algas rojas. Estas algas muestran una fuerte absorción en la región verde del espectro visible de 480 nm a 570 nm y una emisión de fluorescencia densa a 575 nm aproximadamente. Estas proteínas se pueden clasificar según los espectros de absorción, en tres subgrupos: B-PE (B-ficoeritrina) con un pico máximo de absorción a 545 nm y un hombro a 495 nm, R-PE (R-ficoeritrina) con picos máximos de absorción a 565, 545 y 495 nm, mientras que C-PE (C-ficoeritrina) tiene picos máximos de absorción a 563 o 543 y 492 nm (Li *et al.*, 2020). Otra clasificación es según la fuente de la PE en B, R y C; “B” es para Bangiales, “R” para Rhodophyta y “C” para Cianobacteria (Mittal *et al.*, 2017).

El pigmento R-PE, posee propiedades fluorescentes y antioxidantes. Este también ha ganado interés como colorante rosa natural en alimentos, cosméticos y medicamentos. Solamente pocos estudios han usado R-PE directamente en aplicaciones en alimentos (García *et al.*, 2021). Debido al potencial de la R-PE para la fortificación y coloración de los alimentos, así como la necesidad de reemplazar a los colorantes sintéticos, se ha comenzado a utilizar como colorante alimentario en Asia (Simovic *et al.*, 2022). Entre las aplicaciones de PBPs en alimentos se encuentran postres de gelatina, puddings, masa madre, bebidas lácteas y refrescos, pero también se necesita soportar su uso con pruebas de toxicidad. En Europa no existe una autorización para usar PE como colorante o aditivo alimentario. Por lo que se necesita que, en un futuro, exista una mayor investigación enfocada en la interacción de PBPs con alimentos, estabilizadores y su biodisponibilidad (Pereira *et al.*, 2020).

Actualmente, la tendencia es impulsar la búsqueda de alternativas naturales para alejarse de los aditivos artificiales y así reemplazar los compuestos sintéticos. Desafortunadamente, los colorantes naturales son químicamente más inestables. Estos muestran una gran sensibilidad al calor, pH, luz, oxígeno y condiciones de procesamiento (Pereira *et al.*, 2020). Las microalgas revelan su potencial de forma visible para cubrir las necesidades de alimentación de forma sostenible. La riqueza de sus compuestos puede favorecer al desarrollo de una industria alimentaria fundada en microalgas con la finalidad de producir y usarlas para crear productos alimenticios funcionales e innovadores y así obtener beneficios viables para la salud (Caporgno & Mathys, 2018). Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar y optimizar diferentes métodos de extracción para la obtención de R-PE a partir de la microalga *Porphyridium cruentum*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La microalga *P. cruentum* se obtuvo del Laboratorio de Remediación Ambiental y Análisis de Aguas, Suelos y Plantas de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León y se preservó a 26°C para la

experimentación. Esta se cultivó en Medio F2 modificado nutriente (Guillard and Ryther, 1962; Guillard, 1975) el cual consistió en ( $\text{g L}^{-1}$ ):  $\text{NaNO}_3$  (75),  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (3.842),  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  (0.436),  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.315),  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0.01),  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.022),  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.01),  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (0.18). Se mantuvo el cultivo líquido estéril a  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , bajo aireación continua y con un fotoperiodo de 12 h con 1000 Klux.

### Métodos de extracción

Para la obtención de R-PE se analizaron tres métodos de extracción: maceración, maceración con sonda ultrasónica y maceración con baño ultrasónico (Pereira *et al.*, 2020). Para todos los experimentos se utilizaron 0.1 g de biomasa liofilizada de *P. cruentum*, la cual se lavó con 10 mL de agua destilada y se homogenizó. Se centrifugó (Civeq 80-2, Velaquin) durante 10 min a 4000 rpm a  $25^\circ\text{C}$  y el pellet se suspendió en diferentes concentraciones de buffer  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (0.1, 0.5 y 1 M, pH 6.8) con diferentes volúmenes (3, 5 y 7 mL), posteriormente se homogenizó con la ayuda de un agitador magnético durante diferentes periodos de tiempo (5, 10 y 15 min). Para el tratamiento 1 que fue maceración, la suspensión se molió con un mortero y un pistilo por 10 min (Fig. 1a). En el tratamiento 2 que combinó la maceración con el baño ultrasónico, la suspensión previamente macerada se sometió a un baño ultrasónico frío (PS-08A, Generic) durante 30 min (Fig. 1b). Para el tratamiento 3 con sonda ultrasónica, la suspensión previamente macerada se colocó en un baño frío y se sonicó con una sonda ultrasónica (8M2004, Generic) durante 4 min (Fig. 1c). Posteriormente las muestras se centrifugaron 10 min a temperatura ambiente a 4000 rpm (Civeq 80-2, Velaquin) y se descartó el pellet. El sobrenadante se analizó en un espectrofotómetro (Evolution 201, Thermo Scientific) a 564, 592, 455 y 280 nm.



**Figura 1.** a) Maceración b) Baño ultrasónico c) Sonda ultrasónica.

### Cuantificación de ficobiliproteínas

La cuantificación de la R-PE extraída se hizo con la Ec. (1) (Pereira *et al.*, 2020):

$$R - PE = [(A_{564} - A_{592}) - (A_{455} - A_{592}) * 0.2] * 0.12 \quad (1)$$

Donde  $A_{564}$  es la absorbancia máxima de R-PE.  $A_{592}$  y  $A_{455}$  son las absorbancias mínimas para la corrección de línea base, 0.12 es el coeficiente de absorción para R-PE y 0.2 es la constante de corrección. El rendimiento de R-PE se expresó en mg R-PE/g de biomasa. La pureza de los extractos se determinó mediante el índice de pureza (purity index, PI) con la Ec. (2). Donde  $A_{564}$  es la absorbancia máxima de R-PE y  $A_{280}$  es la absorbancia de proteínas totales (Pereira *et al.*, 2020).

$$PI = A_{564}/A_{280} \quad (2)$$

### Diseño experimental

Se utilizó Metodología de Superficie de Respuesta (RSM) con un diseño compuesto central y tres puntos centrales. Diferentes condiciones de tiempo de homogenización, concentración y volumen de buffer fueron evaluadas. Los rangos de las variables independientes entre los límites superior e inferior se establecieron de acuerdo a la Tabla 1. Mediante el software Design Expert (Versión 12) se investigaron los efectos de los parámetros, así como la predicción de las condiciones óptimas. Resultaron 17 corridas experimentales (Tabla 2).

**Tabla 1.** Rango de niveles de variables.

VARIABLES INDEPENDIENTES	Factor	Bajo (-1)	Medio (0)	Alto (1)
Tiempo de homogenización	A	5	10	15
Concentración buffer	B	0.1	0.5	1
Volumen buffer	C	3	5	7

**Tabla 2.** Corridas experimentales.

Run	A	B	C
1	15	1	7
2	10	0.5	3
3	10	0.5	5
4	10	0.5	5
5	15	0.1	3
6	10	0.1	5
7	10	0.5	5
8	5	1	7
9	15	0.5	5
10	5	1	3
11	5	0.1	7
12	15	0.1	7
13	10	0.5	7
14	5	0.1	3
15	15	1	3
16	10	1	5
17	5	0.5	5

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Modelo matemático para las respuestas basado en los resultados de ANOVA

Para las variables respuesta analizadas se utilizaron las ecuaciones polinomiales de segundo orden mostradas, según los resultados de ANOVA. Para el tratamiento con maceración las Ec. (3) y (4) corresponden a R-PE y PI respectivamente. Las Ec. (5) y (6) presentan el tratamiento con maceración y baño ultrasónico, R-PE y PI. Para el tratamiento con maceración y sonda ultrasónica, las Ec. (7) y (8) corresponden a R-PE y PI.

$$R - PE_M = +0.223067 + 0.001504(A) - 0.181295(B) - 0.051083(C) + 0.00226(A)(B) + 0.000473(A)(C) + 0.022629(B)(C) - 0.000138(A^2) + 0.043217(B^2) + 0.002712(C^2) - 0.000666(A)(B)(C) \quad (3)$$

$$PI_M = +0.834922 + 0.025673(A) - 0.534188(B) - 0.200066(C) + 0.006284(A)(B) + 0.001429(A)(C) + 0.086424(B)(C) - 0.001411(A^2) + 0.052029(B^2) + 0.012478(C^2) - 0.002036(A)(B)(C) \quad (4)$$

$$R - PE_{M+B} = +0.225493 - 0.003535(A) - 0.166264(B) - 0.042258(C) + 0.002536(A)(B) + 0.000216(A)(C) + 0.017579(B)(C) + 0.000125(A^2) + 0.040599(B^2) + 0.002265(C^2) - 0.000459(A)(B)(C) \quad (5)$$

$$PI_{M+B} = +0.820108 + 0.012034(A) - 0.334381(B) - 0.169899(C) + 0.000194(A)(B) - 0.001099(A)(C) + 0.031307(B)(C) - 0.000541(A^2) + 0.040362(B^2) + 0.013475(C^2) - 0.001085(A)(B)(C) \quad (6)$$

$$R - PE_{M+S} = +0.170090 - 0.008748(A) - 0.184203(B) - 0.014912(C) + 0.007213(A)(B) + 0.001023(A)(C) + 0.026074(B)(C) + 0.000178(A^2) + 0.040229(B^2) - 0.001227(C^2) - 0.001382(A)(B)(C) \quad (7)$$

$$PI_{M+S} = +0.260159 + 0.008317(A) - 0.172152(B) + 0.054068(C) + 0.018901(A)(B) - 0.001660(A)(C) - 0.026801(B)(C) - 0.000572(A^2) + 0.181331(B^2) - 0.005896(C^2) + 0.000425(A)(B)(C) \quad (8)$$

Los resultados experimentales obtenidos de las 17 corridas y los predichos para R-PE y PI para los tres tratamientos se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Rendimiento de R-PE y PI para maceración.

Run	R-PE (mg/g)		PI		R-PE (mg/g)		PI		R-PE (mg/g)		PI	
	Exp. <sup>a</sup>	Pred. <sup>b</sup>	Exp. <sup>a</sup>	Pred. <sup>b</sup>	Exp. <sup>a</sup>	Pred. <sup>b</sup>	Exp. <sup>a</sup>	Pred. <sup>b</sup>	Exp. <sup>a</sup>	Pred. <sup>b</sup>	Exp. <sup>a</sup>	Pred. <sup>b</sup>
1	0.019	0.175	0.237	0.654	0.021	0.164	0.260	0.645	0.019	0.118	0.307	0.258
2	0.046	0.132	0.330	0.492	0.045	0.157	0.332	0.641	0.027	0.108	0.238	0.252
3	0.039	0.095	0.282	0.355	0.040	0.169	0.288	0.675	0.044	0.114	0.432	0.256
4	0.016	0.063	0.206	0.242	0.015	0.184	0.227	0.715	0.020	0.122	0.365	0.264
5	0.101	0.036	0.461	0.155	0.100	0.152	0.437	0.651	0.070	0.094	0.342	0.247
6	0.045	0.015	0.283	0.092	0.044	0.178	0.274	0.714	0.030	0.115	0.216	0.259
7	0.045	0.000	0.327	0.055	0.038	0.173	0.282	0.706	0.042	0.114	0.426	0.258
8	0.024	-0.011	0.263	0.043	0.023	0.183	0.250	0.728	0.023	0.119	0.235	0.262
9	0.030	-0.016	0.291	0.055	0.033	0.179	0.250	0.717	0.032	0.119	0.252	0.262
10	0.040	-0.015	0.251	0.092	0.043	0.183	0.281	0.724	0.043	0.114	0.424	0.259
11	0.015	-0.009	0.202	0.155	0.028	0.188	0.294	0.729	0.000	0.112	0.302	0.258
12	0.032	0.002	0.247	0.242	0.032	0.178	0.234	0.701	0.018	0.121	0.178	0.263
13	0.032	0.019	0.314	0.354	0.030	0.165	0.301	0.664	0.017	0.112	0.251	0.255
14	0.101	0.041	0.465	0.491	0.103	0.141	0.457	0.601	0.088	0.091	0.402	0.245
15	0.043	0.069	0.249	0.654	0.050	0.163	0.291	0.640	0.052	0.114	0.545	0.255
16	0.028	0.102	0.282	0.841	0.029	0.152	0.268	0.604	0.040	0.117	0.395	0.255

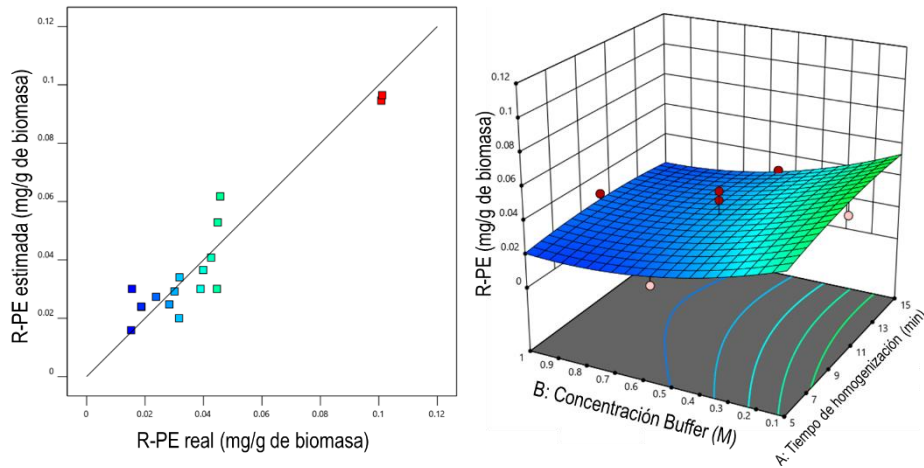
17 0.019 0.141 0.182 1.053 0.030 0.157 0.248 0.604 0.031 0.120 0.256 0.257

<sup>a</sup>Valores experimentales de respuesta.

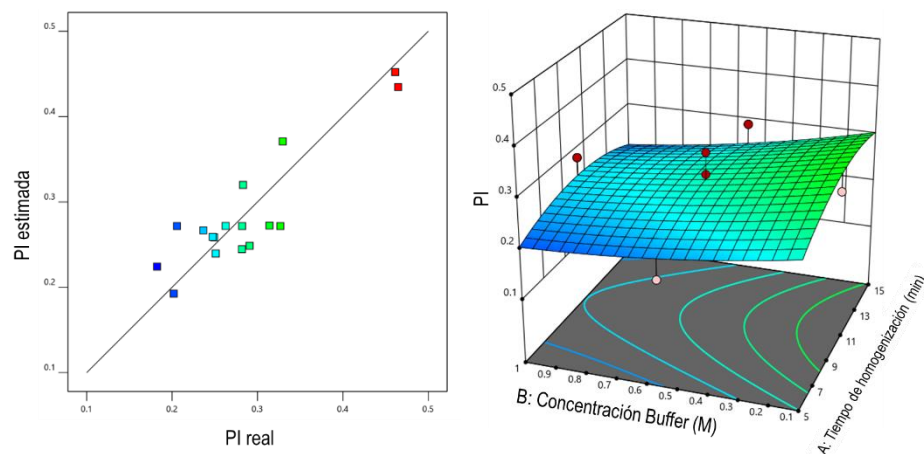
<sup>b</sup>Valores predichos de respuesta (RSM).

**Tratamiento con maceración**

Los resultados reales y predichos del rendimiento de R-PE y PI con el tratamiento de maceración se muestran en la Tabla 3. Se realizó un análisis de la aproximación adecuada de los modelos sugeridos utilizando un gráfico de residuos para R-PE y PI (Fig. 2a y 3a). La correlación lineal entre los residuos estudiados se graficó contra la probabilidad normal y demostró un buen ajuste entre los datos pronosticados y los datos reales del tratamiento con maceración, donde se observa que los datos se distribuyen sobre una línea. Por lo tanto, este modelo matemático puede usarse para predecir la obtención de R-PE y PI con maceración. En la Fig. 2b se muestra el efecto del tiempo de homogenización y la concentración del buffer en el tratamiento con maceración, donde se aprecia que la disminución en la concentración del buffer hasta 0.1 M incrementó la obtención de R-PE, mientras que, para el tiempo de homogenización, con poca variación, los valores más altos fueron superiores a 10 min. En los valores de PI con maceración (Fig. 3b) se vio una tendencia similar al aumentar con la disminución de la concentración del buffer y mantenerse el tiempo de homogenización más de los 10 min.



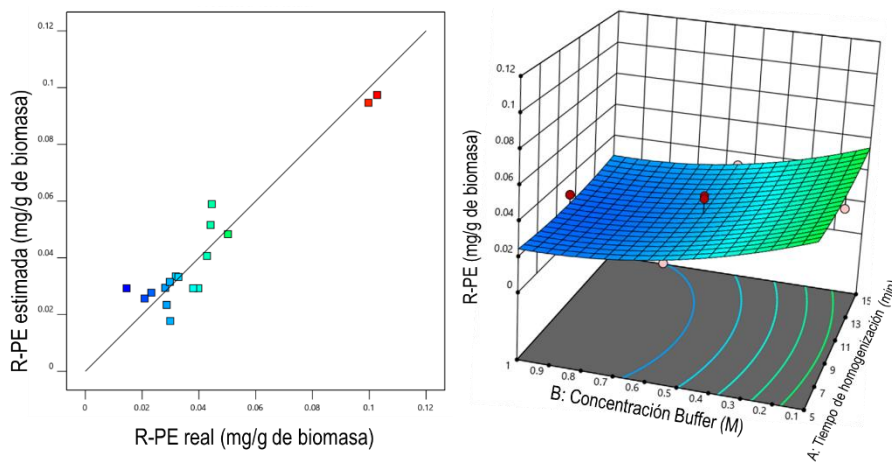
**Figura 2.** a) Valores pronosticados de R-PE versus la respuesta real. b) Efecto de A y B en R-PE.



**Figura 3.** a) Valores pronosticados de PI versus la respuesta real. b) Efecto de A y B en PI.

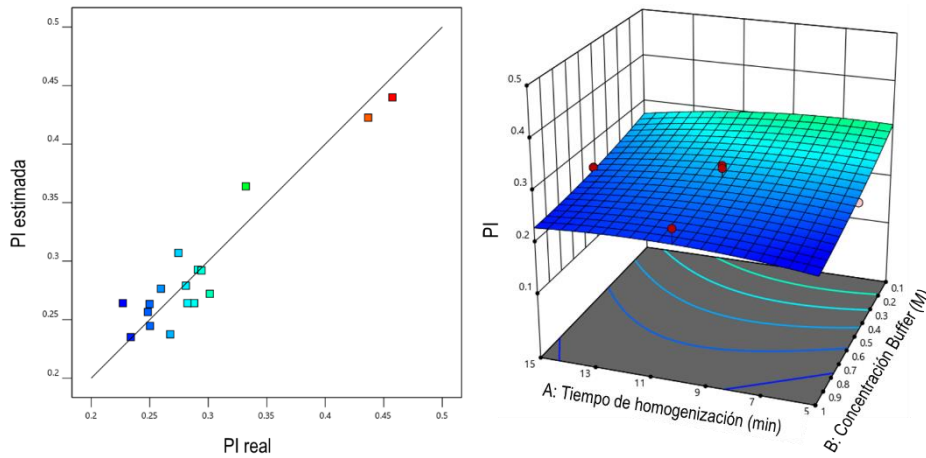
**Tratamiento con maceración y baño ultrasónico**

Los resultados reales y predichos del rendimiento de R-PE y PI con el tratamiento de maceración y baño ultrasónico se muestran en la Tabla 3. Para el tratamiento de maceración y baño ultrasónico se realizó un gráfico de residuos donde se muestra un ajuste cercano a la línea de 45 grados. Esto indica un buen ajuste entre los datos pronosticados y los datos reales de R-PE y PI (Fig. 4a y 5a), por lo que este modelo matemático es útil para predecir la obtención de R-PE y PI con maceración y baño ultrasónico. En la Fig. 4b se muestra el efecto del tiempo de homogenización y la concentración del buffer en el tratamiento con maceración y baño ultrasónico, donde se aprecia que la disminución en la concentración del buffer hasta 0.1 M incrementó la obtención de R-PE, además el tiempo de homogenización mostró resultados favorables en 5 min, descendieron cerca de 10 min y se incrementaron en 15 min. En PI (Fig. 5b) los mejores resultados fueron con la concentración menor de buffer y menor tiempo de homogenización.



**Figura 4.** a) Valores pronosticados de R-PE versus la respuesta real. b) Efecto de A y B en R-PE.

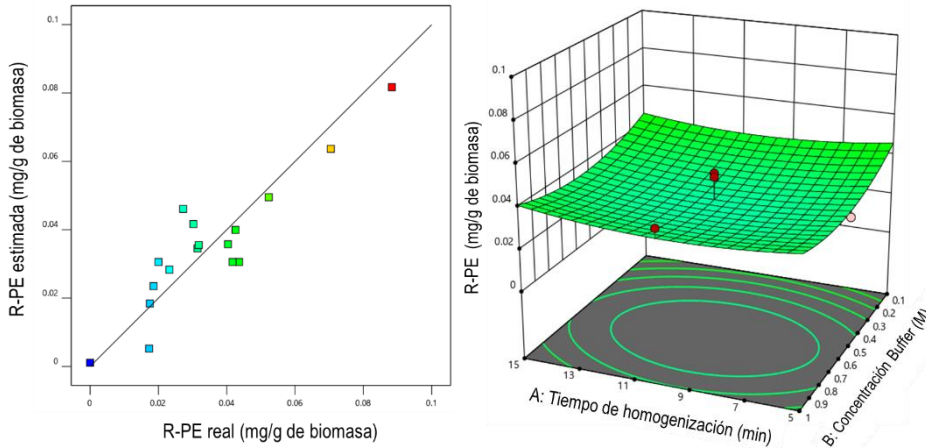




**Figura 5.** a) Valores pronosticados de PI versus la respuesta real. b) Efecto de A y B en PI.

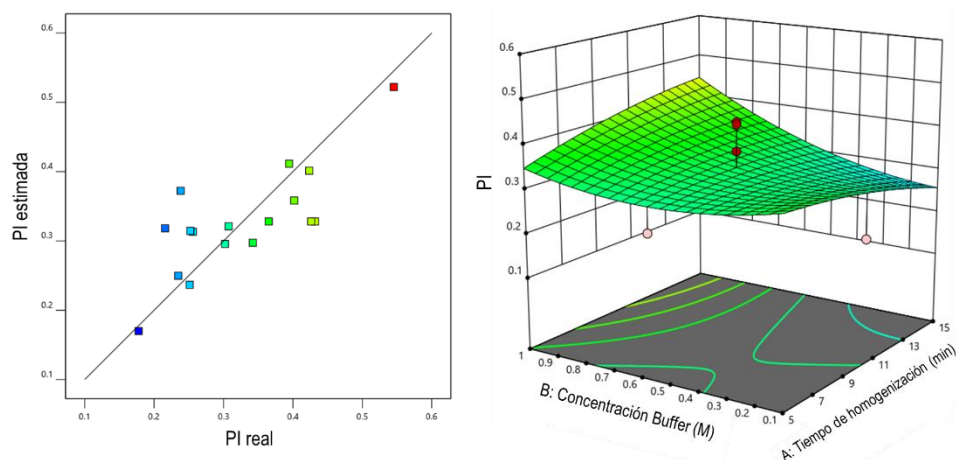
### Tratamiento con maceración y sonda ultrasónica

Los resultados de los tratamientos con maceración y sonda ultrasónica, se muestran en la Tabla 3. Por otro lado, se realizó un análisis de la aproximación adecuada de los modelos sugeridos utilizando un gráfico de residuos para R-PE y PI (Fig. 6a y 7a). La correlación lineal demostró un buen ajuste entre los datos pronosticados y los datos reales del tratamiento con maceración y sonda ultrasónica, ya que los datos se distribuyen sobre una línea de 45 grados. Por lo tanto, este modelo matemático puede usarse para predecir la obtención de R-PE y PI con maceración y sonda ultrasónica.



**Figura 6.** a) Valores pronosticados de R-PE versus la respuesta real. b) Efecto de A y B en R-PE.

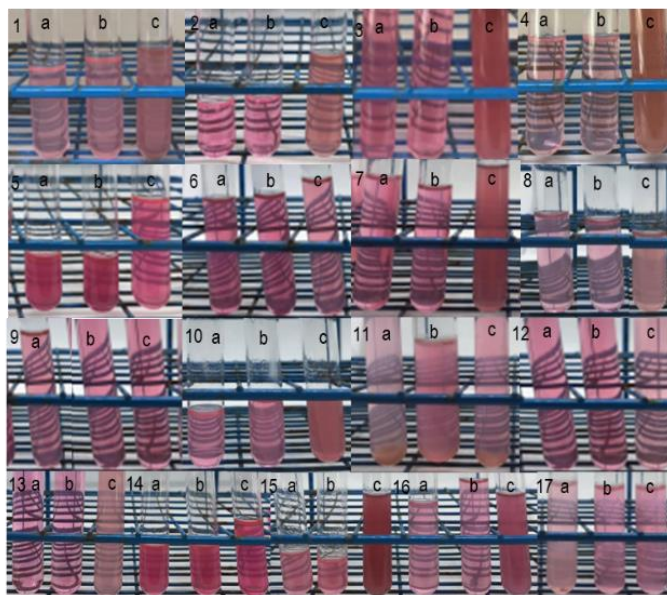
En la Fig. 6b se muestra el efecto del tiempo de homogenización y la concentración del buffer en el tratamiento con maceración y sonda ultrasónica, donde se aprecia que los resultados más altos se ubican en los rangos altos y bajos de la concentración de buffer y tiempo de homogenización. En los valores de PI (Fig. 7b) los mejores resultados fueron con el menor tiempo de homogenización y con una concentración de buffer baja y alta, los menores resultados correspondieron a un buffer 0.5 M.



**Figura 7.** a) Valores pronosticados de PI versus la respuesta real. b) Efecto de A y B en PI.

Los resultados obtenidos mostraron que, para la extracción del pigmento, la maceración es un método eficiente por sí solo o si se combina con el baño ultrasónico. El uso de buffer 0.1 M es también parte de las condiciones óptimas encontradas, mientras que lo menos significativo fue el tiempo de homogenización. Estos resultados coinciden con lo reportado por Pereira *et al.* (2020), pero obtuvieron 3.6 mg R-PE/g de biomasa con la misma concentración de buffer y 10 min de homogenización y la variable menos significativa también fue el tiempo de homogenización. Sin embargo, en el estudio antes mencionado se utilizó la macroalga roja *Gracilaria gracilis*, lo cual pudo influir en que los resultados que obtuvieron fueron mayores que con la microalga *P. cruentum*.

En la Fig. 14 se muestran los colores obtenidos de las extracciones de las 17 corridas experimentales. Algunos de los tratamientos con maceración y sonda ultrasónica (Fig. 13b) tuvieron un color ligeramente naranja, por lo que se descartaron al no ser similares al color normalmente obtenido. Pereira *et al.* (2020) mencionan que a un periodo de tratamiento largo en la extracción se puede observar una degradación de PBPs, lo cual pudo afectar el color. Por otro lado, los colores más intensos y característicos del pigmento fueron los experimentos 5 y 14, particularmente maceración y baño ultrasónico con maceración (Fig. 13. 5 a y b, 14 a y b), quienes también mostraron los resultados más altos en la R-PE.



**Figura 8.** Color de R-PE de las 17 corridas experimentales. a) Maceración. b) Maceración y baño ultrasónico. c) Maceración y sonda ultrasónica.

## CONCLUSIÓN

La maceración y el baño ultrasónico con maceración fueron los tratamientos con mejores resultados. Con 3 mL de buffer fosfato de sodio 0.1 M con 5 y 15 min de homogenización se obtuvieron los resultados más altos, y el tiempo de homogenización fue lo que menos influyó. Las condiciones óptimas para la extracción con maceración fueron 10 min de homogenización y 3 mL de buffer 0.1 M para obtener 0.099 mg R-PE/g y PI de 0.48. La extracción con maceración y baño ultrasónico tuvo condiciones de 5 min de homogenización con 3 mL de buffer 0.1 M para obtener 0.097 mg R-PE/g y PI de 0.44. Para la extracción con maceración y sonda ultrasónica fueron 7.9 min de homogenización con 5.7 mL de buffer 0.8 M para obtener 0.026 de mg R-PE/g y PI de 0.321. Estos resultados mostraron el potencial de los métodos de extracción en la biomasa de *P. cruentum* para ser una buena fuente de R-PE y usarse como un colorante alimenticio natural.

## BIBLIOGRAFÍA

- Association of Official Analytical Chemists – AOAC. (1998). Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists (15th ed.). Washington: ADAC International.
- Bermejo, R., Álvarez-Pez, J. M., Ación F., F. G. & Molina G., E. (2002). Recovery of pure B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum*. *Journal of Biotechnology*, 93, 73-85.
- Bligh, G. E. & Dyer, J. W. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Caporgno, M. & Mathys, A. (2018). Trends in microalgae incorporation into innovative food products with potential health benefits. *Frontiers in nutrition*, 5, 1-10.

- Durmaz, Y., Kilicli, M., Toker, O., Konar, N., Palabiyik, I. & Tamtürk, F. (2020). Using spray-dried microalgae in ice cream formulation as a natural colorant: Effect on physicochemical and functional properties. *Algal Research*, 47, 1-8.
- García, A., Longo, E., Murillo, M. & Bermejo, R. (2021). Using a B-Phycocerythrin Extract as a Natural Colorant: Application in Milk-Based Products. *Molecules*, 26, 1-13.
- Guillard, R.R.L. (1975). Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates. *Cultures of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Press. 26-60 pp.
- Humphrey, G. F. (1979). Photosynthetic characteristics of algae grown under constant illumination and light dark regimes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 40, 63-70.
- Jeffrey, S. W. and Humphrey, G. F. (1975). New spectrophotometric equation for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural populations. *Biochimie and Physiologie Pflanze*, 167, 191-194.
- Levasseur, W., Perré, P. & Pozzobon, V. (2020). A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification. *Biotechnology Advances*, 41, 1-23.
- Li, W., Pu, Y., Tang, Z., Zhao, F., Xie, M. & Qin, S. (2020). Energy transfer dynamics in B-phycoerythrin from the red alga *Porphyridium purpureum*. *Chinese Journal of Physics*, 66, 24-35.
- Mittal, R., Tavanandi, H. A., Mantri, V. A., & Raghavarao, K. S. M. S. (2017). Ultrasound assisted methods for enhanced extraction of phycobiliproteins from marine macro-algae, *Gelidium pusillum* (Rhodophyta). *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 92-103.
- Paggi, A. (2019). Microalgae as a Potential Source of Proteins (Elsevier). *Proteins: Sustainable Source, Processing and Applications* (p. 70-73).
- Pereira, T., Barroso, S., Mendes, S. and Gil, M. M. (2020). Stability, kinetics, and application study of phycobiliprotein pigments extracted from red algae *Gracilaria gracilis*. *Journal of Food Science*, 0, 1-5.
- Simovic, A., Combet, S., Velickovic, T. C., Nikolic, M. & Minic, S. (2022). Probing the stability of the food colourant R-phycoerythrin from dried Nori flakes. *Food Chemistry*, 374, 1-10.
- Strickland, J. D. and Parsons, T. R. (1972). A Practical Handbook of Seawater Analysis. Pigments analysis. Spectrophotometric determination of chlorophylls and total carotenoids. *Fish Resource Building Canada Bulletin*, 167, 185-199.
- Yemm, E. W. & Willis, A. J. (1954). The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemistry*, 57, 508-514.

## Extracción de ficocianina para uso como colorante natural: optimización por metodología de superficie de respuesta

Y.A. Ruiz-Hernández<sup>1</sup>, E. Garza-Valverde<sup>1</sup>, J.M. Márquez-Reyes<sup>1</sup> y C. García-Gómez\*<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Av. Francisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México.

\*[celestino.garciagm@uanl.edu.mx](mailto:celestino.garciagm@uanl.edu.mx)

### RESUMEN

La aplicación de *Spirulina maxima* para la formulación de alimentos utilizándola como pigmento ha aumentado en los últimos años por sus propiedades y beneficios a la salud. Además, es de interés la utilización de la ficocianina por sus efectos antiinflamatorios, antioxidantes y anticancerígenos, actuando directamente en la reducción del estrés oxidativo, la apoptosis y los procesos inflamatorios en modelos in vivo. Sin embargo, uno de los problemas del uso de la ficocianina en alimentos es optimizar la extracción a una máxima concentración y con una buena estabilidad. En este estudio se utilizó un método de extracción en buffer de fosfatos con agitación como objetivo la optimización de los parámetros del proceso tales como pH, cantidad de biomasa y concentración de buffer para maximizar la concentración de ficocianina extraída, pureza y obtención de polvos de interés comercial, utilizando un análisis de superficie de respuesta. El estudio mostró que un incremento de la cantidad de biomasa y baja concentración de buffer de extracción potencializaba la producción de ficocianina, estos resultados dirigen hacia el uso de colorantes naturales en la industria alimentaria.

**Palabras clave:** Microalga, cianobacteria, ficocianina, extracción, pigmento.

### ABSTRACT

The application of *Spirulina maxima* for food formulation using it as a pigment has increased in recent years due to its properties and health benefits. In addition, the use of phycocyanin is of interest for its anti-inflammatory, antioxidant and anticancer effects, acting directly on the reduction of oxidative stress, apoptosis and inflammatory processes in in vivo models. However, one of the problems with the use of phycocyanin in food is to optimize the extraction at maximum concentration and with good stability. In this study, an extraction method in phosphate buffer with agitation was used with the objective of optimizing process parameters such as pH, amount of biomass and buffer concentration to maximize the concentration of extracted phycocyanin, purity and obtaining powders of commercial interest, using a response surface analysis. The study showed that an increase in the amount of biomass and low concentration of extraction buffer potentiated the production of phycocyanin, these results lead to the use of natural colorants in the food industry.

**Keywords:** Microalgae, cyanobacteria, phycocyanin, extraction, pigment.

### INTRODUCCIÓN

Ante la ola del movimiento de los super alimentos que lleva unos cuantos años, se ha hecho un enfoque en ellos para aplicarlos en la innovación y desarrollo de la industria alimentaria, un ejemplo de esto es la cianobacteria *Spirulina platensis*, la cual ha sido investigada por su aportación nutrimental, entre otros compuestos de interés. Esta microalga existe en el planeta desde unos tres mil quinientos millones de años antes del presente. Las variedades más conocidas son la *Spirulina máxima* y la *Spirulina platensis*. El alga se divide en dos cada 7 horas, en condiciones ideales teóricamente puede generar unos 15.000 kg/ha anuales de material seco, pero con tecnología apropiada los rendimientos mejoran (Ponce, 2013). La *Spirulina* tiene cualidades inmunológicas, antioxidantes, antiviral, protector contra el cáncer, retiene metales pesados por lo que es un antitóxico. Se ha demostrado que es un regulador contra la hiperglicemia y la hiperlipidemia (Belay, 2002).

Uno de los compuestos más importantes en *Spirulina platensis* son las proteínas, en su mayor parte son ficobiliproteínas, los cuales son pigmentos fotosintéticos, estas ficobiliproteínas se pueden clasificar en tres grupos principales: ficocianinas (C-PC), ficoeritrinas (C-PE) y aloficocianinas (C-APC) dependiendo del color y propiedades de absorbancia. Las c-ficocianinas son las que se encuentran en mayor medida (Antelo *et al.*, 2010). La extracción de ficobiliproteínas implica la ruptura celular y la liberación de estas proteínas desde el interior de la célula. Las paredes celulares de las criptofitas se rompen fácilmente, pero las de las cianobacterias son extremadamente resistentes (Zhejiang Binmei Biotecnología Co., Ltd, 2018). Las c-ficocianinas son un pigmento soluble en agua de color azul, además de ser utilizado como pigmento en la formulación de productos alimenticios ya que hay opciones limitadas para la obtención del color azul de manera natural, también se le ha dado mayor importancia y uso por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y actividad anticancerígenas (Chentir *et al.*, 2018; Fernández-Rojas, Hernández-Juárez, & Pedraza-Chaverri, 2014).

Un problema que enfrenta la extracción de ficocianina es las limitaciones que existen en los métodos de extracción ya que esto da origen a extractos con poca pureza y baja estabilidad en su almacenamiento y durante el procesamiento de los alimentos en los cuales se utiliza. La temperatura es vital para la extracción de ficocianina ya que esta modifica los compuestos que se encuentran de manera intracelular, por lo tanto esto influencia en la tasa de transferencia de masa de los compuestos intracelulares hacia el medio de extracción, la temperatura ideal para el mayor rendimiento en la extracción va de 30 a 50°C, a temperaturas más altas hay una disminución del rendimiento (Su, Liu, Yang, Syu, & Chiu, 2014). El pH tiene un efecto negativo si no se controla en los medios con los que se piensa extraer, ya que afecta la estructura de las proteínas presentes; un rango de pH reportado en el que las condiciones son óptimas para la microalga es de 6 a 7 (Su *et al.*, 2014; Vali Aftari, Rezaei, Mortazavi, & Bandani, 2015). Para controlar el pH del medio de extracción se usa generalmente una solución buffer como solvente dentro del rango de pH de estabilidad del pigmento. La solución buffer más común es a base de fosfato de sodio, la cual se ajusta a un pH entre 6 y 8 (Ilter *et al.*, 2018; Silveira *et al.*, 2007).

Existen diferentes métodos de extracción de ficocianina: ciclos de congelación y descongelación, mezclado y homogeneización, “bead milling”, homogeneización a alta presión, procesamiento a alta presión, ultrasonificación, microondas, campos de pulsos eléctricos, entre otros, este es un factor de mucha importancia ya que de esto depende la pureza y el rendimiento del resultado final.

El método de ciclos de congelación y descongelación consiste en que el líquido intracelular se congela y por consecuencia crece su volumen y se forman cristales de hielo, luego se contrae la célula mediante la descongelación; esto daña la membrana celular y por ende, cambia las condiciones de presión dentro y fuera de la célula (Acker & McGann, 2003; Roquebert & Bury, 1993).

Método de extracción simple que consiste en agitar la biomasa disuelta en el solvente de extracción, con eso se hacen cambios en la presión osmótica y con esto se induce a la muerte de las células que llega a la ruptura de la membrana celular, para esto se utilizan normalmente agitadores magnéticos o rotatorios (Chaiklahan, Chirasuwan, Loha, Tia, & Bunnag, 2011; *Silveira et al.*, 2007).

El aumento de la temperatura durante el mezclado y la homogeneización mejora el rendimiento de extracción pero promueve la disminución de la pureza del extracto (*Silveira et al.*, 2007).

Se basa en el paso de ondas ultrasónicas (frecuencias de 20 kHz a 10 MHz) a través del material biológico objetivo. La propagación de ondas ultrasónicas en cualquier medio da lugar a diversos fenómenos químicos y físicos, como agitación, cavitación, fuerzas de cizallamiento, ondas de choque y formación de radicales libres (Tiwari, 2015).

Cuando se utiliza ultrasonido (US) para mejorar la extracción de compuestos intracelulares, la cavitación acústica es la principal fuerza impulsora. El paso de ondas ultrasónicas induce la formación de zonas de compresión y rarefacción, que provocan la formación de burbujas en los líquidos. El volumen de estas burbujas disminuye y aumenta durante los ciclos de las olas hasta su colapso. Este fenómeno se conoce como cavitación acústica. El colapso de las burbujas de cavitación promueve altas temperaturas localizadas (hasta 5000 K) y presiones (hasta 50 MPa) a nivel microscópico; Las turbulencias, las colisiones y la agitación también son consecuencia de este fenómeno. Por lo tanto, la cavitación contribuye al adelgazamiento de la membrana celular y la ruptura celular, aumentando las tasas de extracción (Tiwari, 2015). Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue realizar una optimización de la extracción y precipitación de PC teniendo en cuenta la cantidad, pureza y precipitación utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM) para elevar simultáneamente la pureza y la concentración del producto.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La cianobacteria *Spirulina máxima* fue obtenida en polvo de la empresa Orgánicos Monterrey y preservada a temperatura ambiente. Para extraer PC de las células de *Spirulina máxima*, se añadió diferentes cantidades de la biomasa seca, concentración de tampón de fosfato de potasio y con pH variantes, en un sistema agitación orbital, en la tabla 1 se presenta los niveles estudiados en este trabajo. Después de cada corrida experimental la suspensión se centrifugó a temperatura ambiente durante 5 min y se separó el sobrenadante azul, es decir, el extracto crudo de ficocianina (PC). Este extracto fue posteriormente precipitado con citrato de sodio al 5% y 10%, fue además sometido a un secado a 40°C por 24 horas, al finalizar este tiempo fue disuelto en agua para conocer el grado de precipitación de la ficocianina. La absorción se midió en un espectrofotómetro UV-VIS (Thermo-Scientific-Evolution-200). Los valores más altos de absorción de luz ( $\lambda_{max}$ ) de PC, ficoeritrina y proteínas totales (proteínas contaminantes) fueron 618, 652 y 280 nm, respectivamente). Una vez obtenido el extracto, se midió absorbancia a 562, 615 y 652 nm para determinar la cantidad de ficoeritrocianina (PE), C-ficocianina (CPC) y allo-ficoocianina (APC), así como las ficocianinas totales (TPC) presentes en el mismo (Choi, 2018). La cantidad de cada una de ellas (mg/ml) se determinó por medio de las siguientes fórmulas:

$$CPC = (A_{615nm} - 0.474A_{652nm})/5.34$$

$$APC = (A_{652nm} - 0.208A_{615nm})/5.08$$

$$PE = (A_{562nm} - 2.41CPC - 0.849APC)/9.62$$

$$TPC = CPC + APC$$

Todos los datos se analizaron por medio del método de superficie de respuesta, utilizando el software Design-Expert 13.

**Tabla 1.** Rango de niveles de variables.

Variables Independientes	Factor	Bajo (-1)	Medio (0)	Alto (1)
pH	A	6	8	10
Biomasa (mg)	B	0.2	0.4	0.6
Concentración de buffer (mM)	C	3	5	7

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

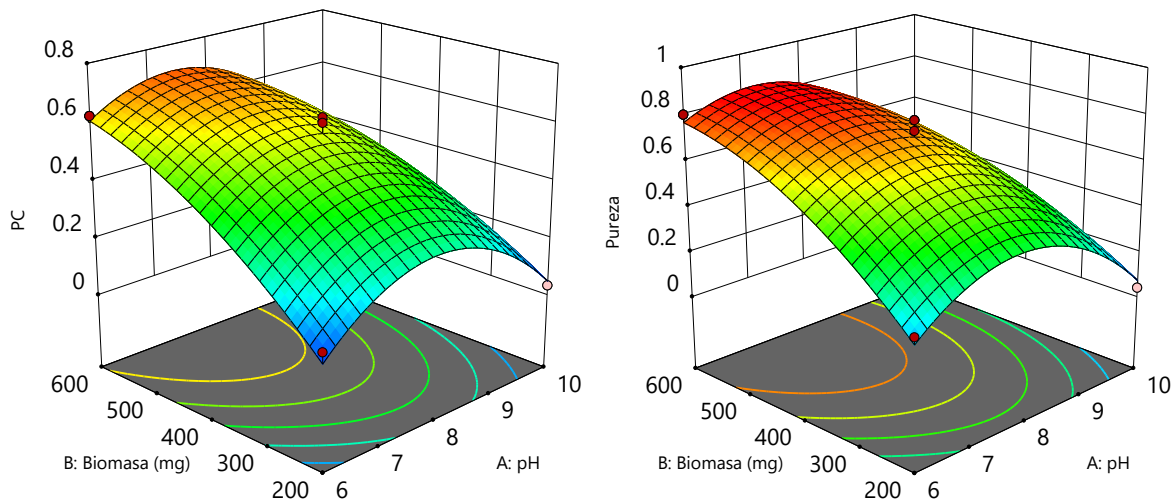
En la tabla 2 se muestran los datos obtenidos para las variables de respuesta analizadas, una distinción entre ellas es mostrada por medio de un análisis estadístico de metodología de superficie de respuesta mostrada a en las secciones posteriores.

**Tabla 2.** Diseño experimental con variables de respuesta.

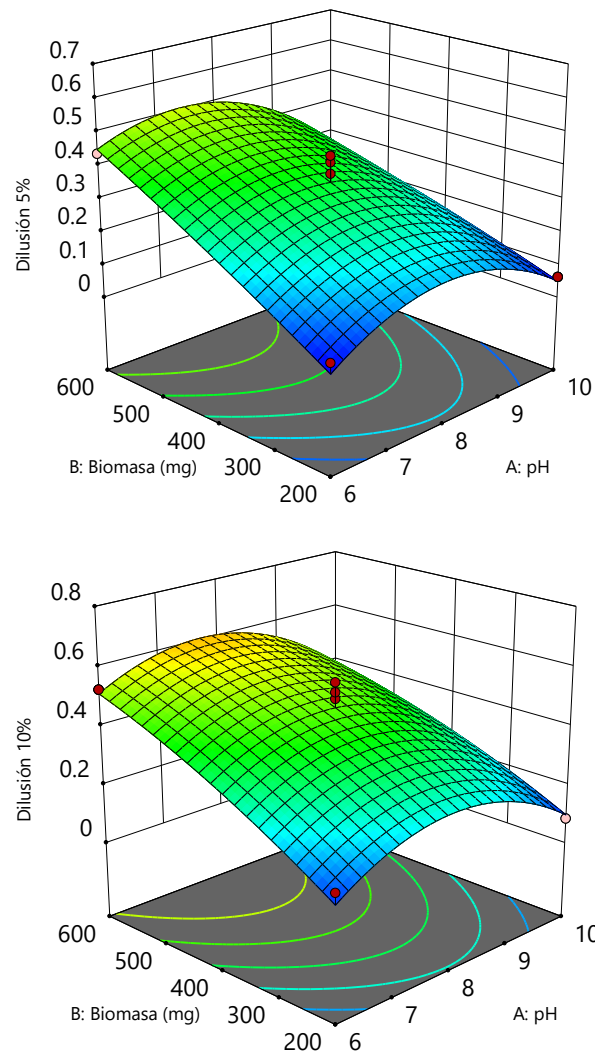
Experimento	A	B	C	PC (mg mL <sup>-1</sup> )	Pureza	PC (mg mL <sup>-1</sup> ), polvo 5%	PC (mg mL <sup>-1</sup> ), polvo 10%
1	8	0.2	500	0.032	0.040	0.062	0.084
2	8	0.4	300	0.041	0.049	0.063	0.076
3	8	0.4	300	0.165	0.226	0.146	0.103
4	8	0.4	300	0.129	0.227	0.092	0.156
5	8	0.6	500	0.271	0.285	0.241	0.354
6	8	0.4	300	0.303	0.422	0.239	0.203
7	6	0.4	500	0.338	0.467	0.257	0.334
8	10	0.2	300	0.456	0.521	0.368	0.473
9	6	0.4	100	0.429	0.595	0.345	0.385
10	8	0.6	100	0.518	0.647	0.412	0.550
11	8	0.4	300	0.549	0.676	0.411	0.448
12	10	0.4	100	0.531	0.679	0.252	0.372
13	8	0.2	100	0.601	0.696	0.378	0.517
14	6	0.2	300	0.557	0.732	0.432	0.394
15	6	0.6	300	0.620	0.778	0.289	0.495
16	10	0.4	500	0.624	0.801	0.438	0.526
17	10	0.6	500	0.773	0.824	0.691	0.729



Un análisis de varianza (ANOVA) mostro que los datos estadísticos presentan alta correlación estadística ( $p\text{-value} < 0.0001$ ) para las variables de respuesta analizadas. La figura 1 muestra el efecto encontrado en las dos variables independientes más significativas, en este caso pH y la cantidad de biomasa utilizada. Las gráficas de superficie mostraron que al incrementar la concentración de la biomasa aumentaba la cantidad de ficocianina obtenida y la pureza. Por su parte al incrementar el pH se observó una disminución significativa de las variables de respuesta analizadas. La obtención de polvos de precipitados de ficocianina es de interés comercial debido a la presentación la cual la hace más atractiva para la utilización en diversos productos alimenticios. El estudio de precipitación con sal de citrato de sodio mostro que el utilizar un 10% en masa es una opción recomendada para la precipitación de este pigmento natural, como se observa en la Figura 2, al utilizar un 10% en masa de citrato de sodio se obtiene una concentración de ficocianina de  $0.6 \text{ mg mL}^{-1}$  comparado con un  $0.5 \text{ mg mL}^{-1}$  al utilizar el 5% de citrato de sodio, este comportamiento es obtenido al incrementar la concentración de biomasa y utilizar un pH cercano al neutro.



**Figura 1.** Efecto de la concentración de biomasa y el pH: izquierda) PC, derecha) pureza.



**Figura 2.** Efecto de la concentración de biomasa y el pH: izquierda) polvo al 5%, derecha) polvo al 10%.

Un análisis de optimización de las variables dependientes en el rango y las variables de respuesta maximizadas mostró valores optimizados de las variables del proceso, en este caso se obtuvo con un pH= 7.83, cantidad de biomasa=600 mg y concentración de buffer=100 mM una cantidad de ficocianina extraída=0.78 mg mL<sup>-1</sup>, pureza= 0.86, precipitación en polvo de 5%= 0.67, precipitación en polvo de 10%= 0.72.

## CONCLUSIÓN

PC es una proteína azul de origen natural con varias aplicaciones en alimento. Este estudio presentó un análisis sobre la optimización de PC en extracto y precipitado usando RSM. En base al modelo RSM obtenido, los factores más significativos sobre la pureza y concentración de PC fueron los niveles de pH y cantidad de biomasa. Además, el alto nivel de cantidad de biomasa y bajo pH confirmó consistentemente que el método propuesto podría aumentar significativamente la pureza y concentración de la PC. La fuerte relación entre estas variables operacionales en la extracción de PC podría servir como una herramienta útil para analizar la calidad de PC en alimentos y otros productos. En conclusión, el método presentado en este trabajo podría considerarse eficiente en términos tanto de cantidad como de calidad de la PC obtenida para su comercialización.

## BIBLIOGRAFÍA

- Acker, J. P., & McGann, L. E. (2003). Protective effect of intracellular ice during freezing? *Cryobiology*, *46*(2), 197–202. [https://doi.org/10.1016/S0011-2240\(03\)00025-7](https://doi.org/10.1016/S0011-2240(03)00025-7).
- Antelo, F. S., Anschau, A., Costa, J. A. V., & Kalil, S. J. (2010). Extraction and purification of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* in conventional and integrated aqueous two-phase systems. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *21*(5), 921–926. <https://doi.org/10.1590/s0103-50532010000500022>
- Belay, A. (2002). The potential application of *Spirulina* as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *JANA*, *5*: 27-48
- Chaiklahan, R., Chirasuwan, N., & Bunnag, B. (2012). Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina* sp.: Influence of temperature, pH and preservatives. *Process Biochemistry*, *47*(4), 659–664. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2012.01.010>.
- Chentir, I., Hamdi, M., Li, S., Doumandji, A., Markou, G., & Nasri, M. (2018). Stability, bio-functionality and bio-activity of crude phycocyanin from a two-phase cultured Saharian *Arthrospira* sp. strain. *Algal Research*, *35*, 395–406. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2018.09.013>.
- Fernández-Rojas, B., Hernández-Juárez, J., & Pedraza-Chaverri, J. (2014). Nutraceutical properties of phycocyanin. *Journal of Functional Foods*, *11*, 375–392. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2014.10.011>.
- Ilter, I., Akyıl, S., Demirel, Z., Koç, M., Conk-Dalay, M., & Kaymak-Ertekin, F. (2018). Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using different techniques. *Journal of Food Composition and Analysis*, *70*, 78–88. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2018.04.007>.
- Ponce-López, E. (2013). Superalimento para un mundo en crisis: *Spirulina* a bajo costo. *Idesia (Arica)*, *31*(1), 135-139. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292013000100016>
- Roquebert, M. F., & Bury, E. (1993). Effect of freezing and thawing on cell membranes of *Lentinus edodes*, the shiitake mushroom. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, *9*(6), 641–647. <https://doi.org/10.1007/BF00369571>.
- Silveira, S. T., Burkert, J. F. M., Costa, J. A. V., Burkert, C. A. V., & Kalil, S. J. (2007). Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. *Bioresource Technology*, *98*(8), 1629–1634. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.05.050>.
- Su, C. H., Liu, C. S., Yang, P. C., Syu, K. S., & Chiu, C. C. (2014). Solid-liquid extraction of phycocyanin from *Spirulina platensis*: Kinetic modeling of influential factors. *Separation and Purification Technology*, *123*, 64–68. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.12.026>.

- Tiwari, B. K. (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 100–109. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2015.04.013>.
- Vali Aftari, R. O. C. and P. of *S. platensis* C.-P. A. C. S. on M.-A. and U.-A. E. M., Rezaei, K., Mortazavi, A., & Bandani, A. R. (2015). The Optimized Concentration and Purity of *Spirulina platensis* C-Phycocyanin: A Comparative Study on Microwave-Assisted and Ultrasound-Assisted Extraction Methods. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 3080–3091. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12573>.
- Zhejiang Binmei Biotecnología Co., Ltd. (2018). Extracción de C-Ficocianina de la biomasa húmeda de *Spirulina Platensis* - Conocimiento - Zhejiang Binmei Biotechnology Co., Ltd. <http://www.binmeibio-es.com/info/c-phycocyanin-extraction-from-spirulina-platen-23885015.html>

## Comparación de la recuperación de células de *Salmonella* adheridas al tomate Roma con el uso de ultrasonido y vortex

G. Ocampo-Mariscal<sup>1</sup>, R. García-Frutos<sup>1</sup>, A.L. Rojas-Banda<sup>1</sup>, L. Martínez-Chávez<sup>1</sup> y N.E. Martínez-González\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Departamentos de Farmacobiología e Ingenierías. Marcelino García Barragán 1451, C.P. 44430, Guadalajara, Jalisco, México.

\*[nanci.martinez@cucei.udg.mx](mailto:nanci.martinez@cucei.udg.mx)

### RESUMEN

El consumo de tomates se ha asociado con brotes de salmonelosis. Los microorganismos presentes en la superficie del fruto pueden estar fuertemente adheridos (CFA) lo que dificulta su remoción. El objetivo de este trabajo fue comparar la recuperación de CFA de *Salmonella* en muestras de tomate Roma expuestas a ultrasonido o vortex, con tres tiempos de exposición. Cada tomate inoculado con *Salmonella* resistente a la rifampicina fue enjuagado manualmente con 100 ml de agua peptonada amortiguada (BPW, por sus siglas en inglés) para remover las células débilmente adheridas. El tomate fue sumergido en 100 ml de BPW y se expuso a baño de ultrasonido (40 kHz) o vortex (6 000 rpm), por 1, 5 y 10 min. Las cuentas de CFA de *Salmonella* del epicarpio de tomates fueron ( $p < 0.05$ ) diferentes en función del método y tiempo de agitación. El uso del vortex logró una mayor recuperación de CFA del patógeno en comparación el ultrasonido. Con 1 min de exposición se obtuvieron recuentos menores de CFA que con 5 y 10 min. Ambos métodos lograron recuperar CFA de *Salmonella* del epicarpio del tomate, es importante considerar el efecto del tiempo de agitación sobre la integridad del tomate cuando se elija un método.

**Palabras clave:** frutas, patógenos, muestreo, desprendimiento.

### ABSTRACT

Consumption of tomatoes has been associated with outbreaks of salmonellosis. The microorganisms present on the surface of the fruit can be strongly attached (SA), which makes their removal difficult. The objective of this work was to compare the recovery of SA from *Salmonella* in Roma tomato samples exposed to ultrasound or vortex, with three exposure times. Each tomato inoculated with rifampicin-resistant *Salmonella* was manually rinsed with 100 mL of buffered peptone water (BPW) to remove loosely attached cells. The tomato was submerged in 100 ml of BPW and exposed at ultrasonic bath (40 kHz) or vortexing (6 000 rpm), for 1, 5, and 10 min. *Salmonella* SA counts from tomatoes epicarp were ( $p < 0.05$ ) different depending on the shaking method and time. The use of the vortex achieved a greater recovery of the pathogen compared to ultrasound. Lower SA counts were obtained with exposure for 1 min than with 5 and 10 min. Both methods were successful in recovering *Salmonella* CFA from tomato epicarp, it is important to consider agitation time effect on tomato integrity when choosing a method.

**Keywords:** fruits, foodborne pathogens, sampling, detachment.

## INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es una de las frutas más consumidas a nivel mundial, con una derrama económica global anual cercana a 200 mil millones de dólares (Anónimo, 2020). El consumo de tomates crudos se ha relacionado con diversos brotes de salmonelosis en Estados Unidos (EU), Canadá y Europa (CDC, 2005; Kozak *et al.*, 2013; Whitworth, 2019). En 2004, el Centro de Control y Prevención de Enfermedades de EU, reportó tres brotes de infecciones por serotipos de *Salmonella*, asociados al consumo de tomates Roma en EU y Canadá, con 561 casos reportados y 155 hospitalizaciones (CDC, 2005). En 2019, los tomates fueron señalados por primera vez en Suecia, como la fuente de un brote de *Salmonella typhimurium*, con un total de 82 casos (Whitworth, 2019).

La contaminación de los tomates con *Salmonella* puede ocurrir en diversos puntos de la cadena de producción antes y después de la cosecha, el procesamiento, la distribución y manipulación (Beuchat & Ryu, 1997; Rushing *et al.*, 1996). Se ha reportado el aislamiento de *Salmonella* de muestras de heces de animales silvestres, sedimentos, reservorios de agua superficial y tomates enteros recolectados en invernaderos (Bell *et al.*, 2015). Asimismo, *Salmonella* ha sido aislada de tomates recolectados en pequeños mercados locales y supermercados (Cárdenas *et al.*, 2013; Leal-Cervantes *et al.*, 2018).

Cuando las células de *Salmonella* entran en contacto con la superficie del tomate, el patógeno puede iniciar el proceso de adhesión al epicarpio (Iturriaga *et al.*, 2007). Los patógenos bacterianos pueden estar presentes en la superficie de los tomates como células débilmente adheridas (CDA) unidas a la superficie por su atracción por fuerzas electrostáticas, o como células fuertemente adheridas (CFA) aquellas que han establecido una adhesión física e irreversible (Dickson & Koohmaraie, 1989). Las CDA pueden ser removidas fácilmente de la superficie de los alimentos mediante un proceso de agitación o enjuague suaves, mientras que las CFA permanecen unidas a la superficie después del lavado y requieren la aplicación de métodos que brinden una acción mecánica, como la agitación vigorosa, trituración o sonicación para desprenderlas (Asséré *et al.*, 2008; Dickson & Koohmaraie, 1989; Patel & Sharma, 2010). Las CFA de los microorganismos patógenos pueden colonizar la superficie de los frutos y formar biopelículas, lo cual brinda protección a las células bacterianas, dificulta su remoción y limita la eficacia de los tratamientos de descontaminación.

El objetivo de este trabajo fue comparar la recuperación de CFA de *Salmonella* en muestras de tomate Roma expuestas al ultrasonido o agitación en vortex, con tres tiempos de exposición. Si bien, diversas investigaciones han reportado el uso del ultrasonido y vortex para el desprendimiento de células adheridas a la superficie de alimentos, pocos estudios se han dirigido a comparar la capacidad de estos métodos para estimar las cuentas de CFA.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Muestras.** Se utilizaron tomates Roma (*Solanum lycopersicum*) de textura firme, color rosado, sin daño aparente y con un peso aproximado de 100 g. Los frutos fueron comprados en un mercado local de Guadalajara y transportados dentro de bolsas de polietileno a temperatura ambiente (~25°C), al laboratorio de Microbiología e Inocuidad de Alimentos de la Universidad de Guadalajara, en un lapso de 1 h. Se mantuvieron a temperatura ambiente por 24 h previo a los experimentos.

**Material biológico.** Se emplearon seis cepas de *Salmonella* resistentes a la rifampicina (Rif+), *S. typhimurium* (aislada del epicarpio de tomate obtenido en puntos de venta), *S. typhimurium* (aislada de heces humanas), *S. poona* (aislada de epicarpio de aguacate obtenido en huerta), *S. bardo* (recuperada de composta utilizada en un huerto de aguacate) y dos cepas de *S. bareilly* (aisladas del epicarpio de aguacates adquiridos en mercados locales). Todas las cepas se preservaron en caldo soya tripticaseína (CST) con 20% de glicerol a -80°C. Previo a cada experimento, se prepararon cultivos de trabajo con la reactivación de cada aislamiento, se transfirieron a agar soya tripticaseína inclinado (AST) y se incubaron a 35°C por 24 h; estos cultivos se utilizaron para la preparación del inóculo.

**Preparación del inóculo.** Cada cepa de *Salmonella* de los cultivos inclinados de AST se cultivó individualmente en 10 ml de CST suplementado con extracto de levadura al 0.6 % (CSTEL) a 35 °C por 18 h. Después de la incubación, 0.1 ml de cada cultivo fueron transferidos individualmente a 10 ml de CSTEL y se incubaron a 35 °C durante 4 h. Posteriormente, 0.1 ml de este cultivo se inoculó en 35 ml de CSTEL e incubó a 35 °C por 18 h. Se realizaron dos lavados con 35 ml de solución salina estéril (SS, 0.85% NaCl) por centrifugación a 4,507 x g y 5°C por 10 min. Después del segundo lavado, el sedimento se resuspendió en 17.5 ml de SS. Las suspensiones de células lavadas (~17.5 ml/cepa) se combinaron en una bolsa Whirl-Pak® estéril, para conformar un inóculo de 6 cepas de *Salmonella* (105 ml) y se mezcló manualmente durante 30 s. La concentración de *Salmonella* en el inóculo se determinó mediante la preparación de diluciones decimales en diluyente de peptona al 0.1% y se extendieron sobre placas de agar soya tripticaseína suplementado con extracto de levadura al 0.6 % y 100 mg/l de rifampicina (ASTEL-Rif). Las placas se incubaron a 35°C y las colonias se enumeraron a las 24 h.

**Comparación de la recuperación de células adheridas de *Salmonella*.** Para la inoculación, cada tomate se sumergió en la bolsa que contenía la mezcla de células lavadas de las cepas y se agitó manualmente durante 1 min. Los tomates inoculados fueron colocados sobre un cilindro de acero inoxidable previamente desinfectado con etanol al 70%, para el secado a temperatura ambiente (~25°C) durante 1 h y permitir la adhesión bacteriana a la superficie. Los tomates fueron divididos en dos grupos para realizar la comparación de las cuentas de *Salmonella*, con el uso de ultrasonido a 40 kHz y vortex a 6 000 rpm, en función del tiempo de exposición. Las muestras de tomate fueron homogenizadas durante 1, 5 y 10 min para la determinación de células CFA. Se realizaron tres réplicas, cada una con cuatro repeticiones (n=12).

**Análisis microbiológico.** Cada tomate inoculado se depositó en una bolsa Whirl-Pak® con 100 ml de agua peptonada amortiguada (BPW, por sus siglas en inglés) y se agitó manualmente rotando la bolsa a 90° durante 30 s. El líquido de enjuague fue desechado y el tomate se transfirió a otra bolsa Whirl-Pak® que contenía 100 ml de BPW para sumergir en un baño de ultrasonido a 300 W y 40 kHz, por 1, 5 y 10 min. En cada tiempo, se tomó una alícuota de 2 ml sin interrumpir la exposición al ultrasonido hasta el tiempo final de 10 min. Se contaron las células CFA a partir del líquido de enjuague por extensión en superficie sobre placas de ASTEL-Rif a 35°C por 24 h. Se seleccionaron colonias típicas de *Salmonella* para confirmar mediante reacciones en agar triple azúcar hierro y lisina hierro. Todas las cuentas fueron reportadas como UFC/tomate. También se realizó el recuento de CFA con el uso de vortex a 6 000 rpm por 1, 5 y 10 min, bajo las condiciones descritas previamente para el uso del ultrasonido.

**Análisis de datos.** Las cuentas de CFA se obtuvieron inicialmente en UFC/ml y se multiplicaron por 100 ml, correspondientes al volumen total en que se enjuagó cada tomate. Finalmente, los recuentos expresados en UFC/tomate se transformaron a log UFC/tomate, para su análisis estadístico. Se realizó

un análisis de varianza multifactorial para determinar el efecto del método (ultrasonido o vortex) y el tiempo de exposición (1, 5 y 10 min) para la recuperación de CFA de *Salmonella*. Cuando fue necesario, la separación de medias se llevó a cabo mediante la prueba de rangos múltiples de HSD de Tukey para determinar las diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) entre los factores. El análisis de datos se realizó con el software Statgraphics Centurion XV ver.17.01.06.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

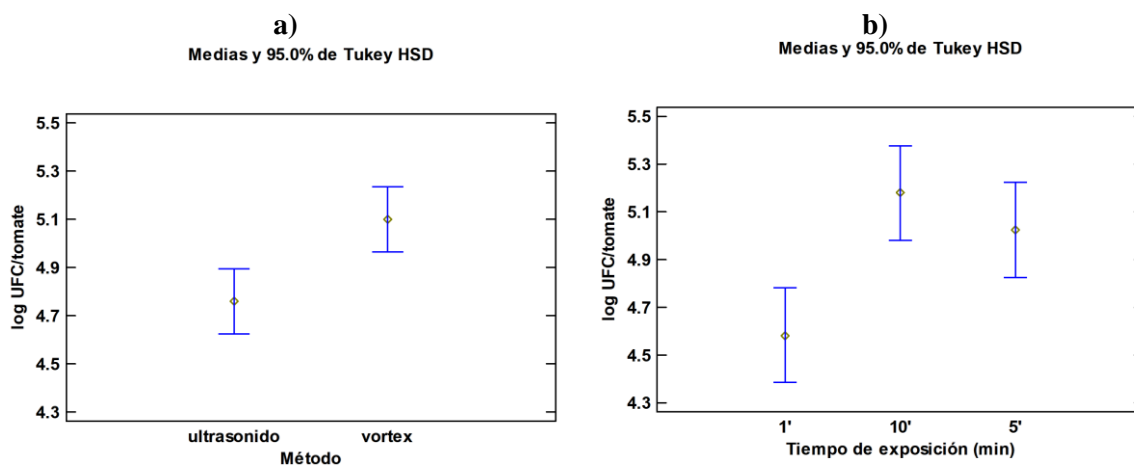
Las CFA de los microorganismos patógenos establecen una adhesión física irreversible en las superficies de productos frescos y promueven la formación de biopelículas. Por ello, para recuperar las CFA de *Salmonella* de la superficie de los tomates, se requiere la acción de una fuerza mecánica que logre irrumpir la unión física entre las células bacterianas y el epicarpio del fruto y permita su recuperación para estimar su concentración.

La recuperación de CFA de *Salmonella* a partir del epicarpio de tomate fue significativamente diferente ( $p < 0.05$ ) en función del método de homogenización y del tiempo de agitación. El uso del vortex condujo a mayores recuentos promedio del patógeno en comparación al uso del ultrasonido (Figura 1a). Asimismo, los resultados evidenciaron que emplear 1 min de exposición permitió obtener recuentos considerablemente menores ( $p < 0.05$ ) que 5 y 10 min (Figura 1b). Las diferencias en la recuperación de las cuentas de *Salmonella* fueron más acentuadas entre 1 y 10 min, con ambos métodos de homogenización.

Los recuentos promedio con el uso del ultrasonido durante 1, 5 y 10 min fueron 4.4, 4.9 y 5.0 log UFC/tomate, respectivamente (Tabla I). No se observó diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) en los recuentos de CFA de *Salmonella* cuando los tomates se expusieron al ultrasonido por 1 o 5 min. Sin embargo, el uso del ultrasonido por 10 min permitió una recuperación significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) de *Salmonella* en comparación con 1 min. Un efecto similar fue reportado por Sanglay *et al.* (2004), en el que la exposición al ultrasonido a 40 kHz por 1 y 2 min no mostró diferencia significativa en la recuperación de *Salmonella* de la superficie de fresa, manzana y melón cantaloupe.

Por otra parte, con la homogenización en vortex se obtuvieron recuentos promedio de 4.8, 5.1 y 5.3 log UFC/tomate, para 1, 5 y 10 min de exposición, respectivamente (Tabla I). A su vez, a pesar de que se observa un ligero incremento en la recuperación de *Salmonella* a mayor tiempo de exposición al vortex, no hubo diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) en las cuentas de *Salmonella* para los tres tiempos de exposición. Por lo que, utilizar un mayor tiempo de exposición al vortex no aumenta considerablemente la recuperación de *Salmonella* de la superficie del tomate.





**Figura 1.** Poblaciones promedio de CFA de *Salmonella* recuperadas a partir del epicarpio de tomates Roma enteros, en función del método de muestreo (a) y minutos de exposición (b).

Los datos de la Tabla I también muestran que homogenizar los tomates con vortex durante 1 min permitió obtener recuentos significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) que la exposición al ultrasonido durante el mismo tiempo. No se observó diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre ambos métodos de homogenización para la recuperación de *Salmonella* del tomate cuando se utilizaron 5 y 10 min de exposición.

**Tabla I.** Recuperación de células de *Salmonella* fuertemente adheridas a la superficie de tomate Roma (*Solanum lycopersicum*) mediante la exposición al ultrasonido o vortex, durante 1, 5 y 10 min.

Método de recuperación	Media log UFC/tomate $\pm$ DS ( $n=12$ )		
	Tiempo de exposición (min)		
	1	5	10
Ultrasonido 40 kHz	4.4 $\pm$ 0.6 Ax <sup>a</sup>	4.9 $\pm$ 0.6 ABx	5.0 $\pm$ 0.5 Bx
Vortex 6 000 rpm	4.8 $\pm$ 0.4 Ay	5.1 $\pm$ 0.6 Ax	5.3 $\pm$ 0.7 Ax

<sup>a</sup> Para cada método de recuperación, los valores dentro de las filas con letras diferentes (A, B) son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ). Dentro de las columnas, los valores para cada tiempo de exposición con letras diferentes (x, y) son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

El estudio del comportamiento de células adheridas *Salmonella* sobre la superficie de alimentos requiere contar con métodos capaces de recuperarlas. Son escasas las investigaciones enfocadas en la validación de métodos de homogenización para cuantificar la población de CFA en frutas y hortalizas frescas (Sanglay *et al.*, 2004). En nuestro estudio, la exposición de las muestras de tomate al vortex permitió obtener recuentos mayores de CFA del patógeno en un menor tiempo de homogenización, comparado con el uso del ultrasonido. Lo anterior puede ser resultado del desprendimiento de las células con sonicación se da por efecto de cavitación, lo cual es el colapso de millones de microburbujas que liberan una gran cantidad de energía sobre la superficie aplicada y su

efecto para desprender las células está en función de los eventos de colapso por unidad de tiempo (Leong *et al.*, 2011). Mientras que con la agitación en vortex, las células adheridas son removidas por arrastre, como efecto de la agitación vigorosa, mecanismo que suele ser más enérgico.

También, es de interés considerar que, debido a las características morfológicas del tomate, la exposición del fruto a tiempos prolongados de homogenización para recuperar CFA puede comprometer la integridad de su epicarpio, lo que ocasiona la liberación de sustancias y la aparición de lesiones en la superficie del fruto por las cuales se podrían internalizar algunas células bacterianas y, por ende, subestimar la concentración del patógeno en la muestra. Por lo anterior, resulta más recomendable emplear un método que logre una mayor recuperación de células adheridas a la superficie del tomate con un menor tiempo de exposición al tratamiento.

### CONCLUSIÓN

Ambos métodos fueron capaces de desprender células adheridas de *Salmonella* en el epicarpio del tomate fresco. Aun cuando el uso del vortex mostró un efecto estadísticamente significativo en la recuperación de la bacteria, en comparación con la sonicación bajo los mismos tiempos de exposición, las diferencias en las cuentas promedio oscilaron entre 0.2 y 0.4 log UFC/fruto. Además, en la elección del mejor método para desprender células adheridas es importante considerar el efecto que el tiempo de exposición tendrá sobre la integridad del fruto.

### BIBLIOGRAFÍA

- Anónimo. (2020). Global Tomato Industry Report 2020: Trends & opportunities by country, consumption, production, price developments, imports and exports (2007-2025). Research and Markets. Report 4701312. Disponible en: [https://www.researchandmarkets.com/reports/4701312/world-tomato-market-analysis-forecast-size?utm\\_source=dynamic&utm\\_medium=GNOM&utm\\_code=4jzvxm&utm\\_campaign=1352798+-+Global+Tomato+Industry+Report+2020%3a+Trends+%26+Opportunities+by+Country%2c+Consumption%2c+Production%2c+Price+Developments%2c+Imports+and+Exports+\(2007-2025\)&utm\\_exec=joca220gnomd](https://www.researchandmarkets.com/reports/4701312/world-tomato-market-analysis-forecast-size?utm_source=dynamic&utm_medium=GNOM&utm_code=4jzvxm&utm_campaign=1352798+-+Global+Tomato+Industry+Report+2020%3a+Trends+%26+Opportunities+by+Country%2c+Consumption%2c+Production%2c+Price+Developments%2c+Imports+and+Exports+(2007-2025)&utm_exec=joca220gnomd). Acceso 28 agosto 2020.
- Asséré, A., N. Oulahal, and B. Carpentier. (2008). Comparative evaluation of methods for counting surviving biofilm cells adhering to a polyvinyl chloride surface exposed to chlorine or drying. *J. Appl. Microbiol.* 104:1692-1702. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03711.x>
- Bell, R. L., J. Zheng, E. Burrows, S. Allard, C. Y. Wang, C. E. Keys, D. C. Melka, E. Strain, Y. Luo, M. W. Allard, S. Rideout, and E. W. Brown. (2015). Ecological prevalence, genetic diversity, and epidemiological aspects of *Salmonella* isolated from tomato agricultural regions of the Virginia Eastern Shore. *Front. Microbiol.* 6(415). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00415>
- Beuchat, L. R., and J. H. Ryu. (1997). Produce handling and processing practices. *Emerg. Infect. Dis.* 3:459-465. <https://doi.org/10.3201/eid0304.970407>
- Cárdenas, C., K. Molina, N. Heredia, and S. García. (2013). Evaluation of microbial contamination of tomatoes and peppers at retail markets in Monterrey, Mexico. *J. Food Prot.* 76:1475-1479. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-12-561>

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2005). Outbreaks of *Salmonella* infections associated with eating Roma tomatoes--United States and Canada, 2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 54(13):325-8. PMID: 15815562. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15815562/>
- Dickson, J. S., and M. Koochmaraie. (1989). Cell surface charge characteristics and their relationship to bacterial attachment to meat surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:832-836. <https://doi.org/10.1128/aem.55.4.832-836.1989>
- Iturriaga, M., M. Tamplin, and E. F. Escartín. (2007). Colonization of tomatoes by *Salmonella* Montevideo is affected by relative humidity and storage temperature. *J. Food Prot.* 70:30-34. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-70.1.30>
- Kozak, G. K., D. MacDonald, L. Landry, and J. M. Farber. (2013). Foodborne outbreaks in Canada linked to produce: 2001 through 2009. *J. Food Prot.* 76:173-183. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-12-126>
- Leal-Cervantes, M. G., S. M. Arvizu-Medrano, R. Martínez-Peniche, N. E. Martínez-González, and M. Hernández-Iturriaga. (2018). Microbiological quality and incidence of *Salmonella* on cherry tomatoes at retail in Querétaro, México. *J. Food Prot.* 81:614-618. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-17-377>
- Leong, T., Ashokkumar, M., and Kentish, S. (2011). The fundamentals of power ultrasound-a review. *Acous. Aust.* 39:54-63. <http://hdl.handle.net/11343/123494>
- Patel, J., and Sharma, M. (2010). Differences in attachment of *Salmonella* enterica serovars to cabbage and lettuce leaves. *Int. J. Food Microbiol.* 139:41-47. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.005>
- Rushing, J. W., F. J. Angulo, and L. R. Beuchat. (1996). Implementation of a HACCP program in a commercial fresh-market tomato packinghouse: a model for the industry. *Dairy Food Environ. Sanit.* 16:549-553. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.30.3.434d>
- Sanglay, G. C., Eifert, J. D., and Sumner, S. S. (2004). Recovery of *Salmonella* spp. from raw produce surfaces using ultrasonication. *Food. Path. Dis.* 4:295-299. <https://doi.org/10.1089/fpd.2004.1.295>
- Whitworth, J. (2019). *Salmonella* outbreak was first linked to tomatoes in Sweden. Food Safety News. Disponible en: <https://www.foodsafetynews.com/2019/11/salmonella-outbreak-was-first-linked-to-tomatoes-in-sweden/> Acceso 02 mayo 2022.

## Actividad antimicrobiana de extractos oleosos de *Flaveria trinervia* (Spreng.) C. Mohr.

N.E. Maldonado-Sierra\*<sup>1</sup>, L. González-Cruz<sup>2</sup>, E.A. Vargas-León<sup>3</sup>, H. Cortes-López<sup>4</sup> y A. Bernardino-Nicanor\*<sup>2</sup>

**1** Estudiante del Programa de Doctorado en Ciencias en Ingeniería Bioquímica del Tecnológico Nacional de México-Celaya, Antonio García Cubas Pte #600 esq. Av. Tecnológico. Celaya, Gto. México, C.P. 38010. **2** Tecnológico Nacional de México-Celaya, Departamento de Ingeniería Bioquímica. Antonio García Cubas Pte #600 esq. Av. Tecnológico. Celaya, Gto. México, C.P. 38010. **3** Universidad Tecnológica de Tecámac, División Químico Biológicas. Carretera Federal México-Pachuca km 37.5, Predio Sierra Hermosa, Tecámac Edo. Méx. **4** Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco, México, C.P. 56230. \*[aurea.bernardino@itcelaya.edu.mx](mailto:aurea.bernardino@itcelaya.edu.mx)

### RESUMEN

En la actualidad las infecciones en vías respiratorias se consideran como un grave problema de salud pública, siendo las bacterias los principales agentes causales. Las plantas medicinales, como la retama negra, podrían coadyuvar al tratamiento de dichas infecciones, por lo que su estudio ha tomado fuerza. En el presente trabajo fueron obtenidos extractos oleosos de hoja, flor, tallo y planta entera (P.E.) de retama negra, empleando disolventes de diferentes polaridades. Los extractos fueron evaluados frente a *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*. El análisis microbiológico se realizó mediante las técnicas de difusión en agar y CMI. Los extractos de hoja, flor, tallo y P.E., mostraron actividad inhibitoria de *S. aureus*, los del tallo dieron resultados positivos para *A. baumannii*; y el extracto de P.E. mostró actividad para *P. aeruginosa*. El disolvente de extracción que dio mejores resultados fue acetona, mientras que hexano y cloroformo, en menor proporción. La CMI osciló entre 4 y 10 mg/mL. Concluyendo que los extractos oleosos de diferentes partes de la planta, y los disolventes empleados, presentan diferencias en cuanto a inhibición bacteriana, estableciendo a su vez, que la retama negra tiene potencial para el tratamiento de infecciones en vías respiratorias ocasionadas por bacterias.

**Palabras clave:** Retama negra, difusión por disco, Concentración Mínima Inhibitoria, actividad antimicrobiana.

### ABSTRACT

Actually, respiratory tract infections are considered a serious public health problem, with bacteria being the main causal agent. Medicinal plants, such as black broom, could help treat these infections, which is why their study has gained strength. In the present work, oily extracts of leaf, flower, stem, and whole plant (W.H.) of black broom were obtained, using solvents of different polarities. The extracts were evaluated against *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Microbiological analysis was performed using agar diffusion and MIC techniques. The leaf, flower, stem, and W.H. extracts showed inhibitory activity against *S. aureus*, the stem extracts gave positive results for *A. baumannii*, and the extract of W.H. showed activity for *P. aeruginosa*. The extraction solvent that gave the best results was acetone, while hexane and chloroform, to a lesser extent. The MIC ranged between 4 and 10 mg/mL. Concluding that the oily extracts from different parts of the plant, and the solvents used, present differences in terms of bacterial inhibition, establishing, in turn, that the black broom has potential for the treatment of respiratory tract infections caused by bacteria.

**Keywords:** Black broom, disc diffusion, Microbial Inhibitory Concentration, antimicrobial activity.

## INTRODUCCIÓN

Las infecciones de las vías respiratorias forman parte de las principales causas de muerte en el mundo, con más de 4 millones de muertes al año (WHO, 2017). En los países de América, representan un grave problema de salud, encontrándose así entre las principales causas de muerte y discapacidad en la región, con 534 242 defunciones en el año 2019. Particularmente en México, se tiene una incidencia promedio de 30.8 defunciones por cada 1000 000 habitantes (OPS, 2021). Una de estas enfermedades es la neumonía la cual es un tipo de infección respiratoria aguda que afecta a los pulmones, es ocasionada por diversos agentes infecciosos como virus, bacterias y hongos (WHO, 2021). La causa más común de la enfermedad es la asociada a infección bacteriana; los agentes causales pueden ser: *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, bacterias anaerobias y microorganismos atípicos (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila [Chlamydia] pneumoniae*, *Legionella pneumophila*) (Armas & Gajewski, 2020).

Las enfermedades respiratorias causadas por bacterias, tradicionalmente han sido tratadas con antibióticos, sin embargo, el uso inadecuado de éstos representa un riesgo para la salud, ya que contribuye al aumento de la resistencia bacteriana, incrementando así la mortalidad por enfermedades infecciosas, considerándose un grave problema de salud pública (Dreser *et al.*, 2008). De ahí que, el uso de plantas medicinales ha cobrado relevancia en el ámbito social y farmacéutico, pues se han identificado compuestos bioactivos con propiedades terapéuticas (Askel, 2010). Una de las plantas que puede contener dichos compuestos es la *Flaveria trinervia* (Spreng.) C. Mohr o *Flaveria australasica* (Umadevi *et al.*, 2005) conocida como retama negra o retama en la región del bajío. En la medicina tradicional ha sido empleada para el tratamiento de enfermedades renales, diarrea, disentería (Osuna *et al.*, 2008; Tapia *et al.*, 2003) y gastritis (Canales *et al.*, 2006). El extracto de la hoja ha demostrado tener propiedades hepatoprotectoras y antioxidantes, atribuido a la alta concentración de flavonoides que lo componen. Así mismo, se ha comprobado mediante aplicación tópica (lavados) su eficiencia como cicatrizante de heridas en la piel, al reducir la peroxidación lipídica (Canales *et al.*, 2006; Umadevi *et al.*, 2006). Los extractos tanto metanólicos como acuosos de la retama han sido considerados como agente analgésico, y con acción supresora del sistema nervioso central (modelo de ratón) (Joy *et al.*, 2012), además de antihelmínticos y bactericidas (Joy & Krishna, 2011). Por ello, se considera que las diferentes partes de la retama podrían inhibir el crecimiento de bacterias causantes de neumonía, por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del método de extracción sobre la actividad antibacteriana del extracto oleoso de las diferentes partes de *Flaveria trinervia* (Spreng.) C. Mohr.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Colecta

*Flaveria trinervia* (Spreng.) C. Mohr fue colectada en la región de Celaya, Gto., México (20° 31' 24" latitud norte y 100° 48' 55" longitud oeste). La colecta se hizo manual durante la etapa de floración, en el periodo 2021.

### Acondicionamiento de la muestra

Las muestras colectadas fueron transportadas en contenedores cerrados al laboratorio del Tecnológico Nacional de México-Celaya, donde se separaron y seleccionaron, eliminando las estructuras libres de daño mecánico o biológico. Se dividieron en lotes de planta entera, flor, tallo y hoja, posteriormente

los lotes se sometieron a un proceso de deshidratación en un secador de convección forzada (Binder, Modelo FD115-UL, Bohemia, NY, USA), a una temperatura de 40°C, durante 6 h. Las muestras deshidratadas se molieron, se tamizaron a través de la malla 40 (tamaño de partícula 425 µm) y se almacenaron en frascos de vidrio con tapa hermética.

### Obtención de extractos oleosos

Cada sección de la planta (hoja, flor y tallo) y la P. E. fueron sometidas (por separado), a la extracción con los disolventes hexano, acetona, cloroformo y metanol (por triplicado), en un equipo de extracción soxhlet (20 reflujos). Posteriormente se retiraron los sólidos de la planta mediante filtración al vacío. Los extractos fueron recuperados en viales ámbar y se inyectó gas nitrógeno hasta la evaporación del disolvente y finalmente fueron almacenados en refrigeración (4°C).

### Actividad antimicrobiana

Las bacterias empleadas fueron *Staphylococcus aureus* (50F), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 17978), *Acinetobacter baumannii* (A164), *Pseudomonas aeruginosa* (PA14) y *Pseudomonas aeruginosa* (INP-42). Las cepas fueron aisladas de casos clínicos y donadas por Dr. Rodolfo García Contreras, de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Las cepas fueron mantenidas viables en Agar Métodos Estándar (Bioxon, Becton Dickinson, México), en refrigeración (4°C) hasta su uso. Se empleó la técnica de difusión en agar usando discos de papel, conforme a lo descrito por Gutiérrez *et al.* (2016) y Morales *et al.* (2013) con modificaciones. Una vez que las cepas fueron activadas, en cada placa se colocó el inóculo de cada cultivo bacteriano (aproximada de  $1 \times 10^6$  UFC/mL) y se extendieron uniformemente en la superficie del agar. Enseguida fueron colocados los discos sobre el agar. Finalmente, los extractos fueron colocados en cada disco (1 mg/disco). Una vez que los extractos se fijaron en los discos, se incubaron las placas durante 24 h a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ . Transcurrido este tiempo, se observó si hubo formación de halos de inhibición bacteriana.

Posteriormente, se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos que formaron halos de inhibición. Las cepas fueron activadas en tubos con caldo LB, a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 18 h. Posteriormente los cultivos fueron ajustados hasta obtener una suspensión final de  $1 \times 10^5$  UFC/mL de cada cepa bacteriana. Por triplicado se prepararon tubos con las diferentes bacterias y se agregaron los extractos oleosos para evaluar concentraciones de 2, 4, 6, 8 y 10 mg/mL. Como control positivo se empleó caldo LB y como control negativo el inóculo de cada bacteria. Las muestras fueron incubadas a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 24 h. La CMI, se definió como la concentración más baja, de los extractos que inhibieron el crecimiento de microorganismos (ausencia de turbidez).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los extractos oleosos de hoja, flor, tallo y P. E. de retama negra fueron obtenidos, con hexano, cloroformo, acetona y metanol. La mayor actividad antimicrobiana de todos los extractos fue ante la bacteria Gram positiva *S. aureus*, tanto para la cepa ATCC 43300 como para el asilado clínico 50F. Para la flor, tallo y P. E., los extractos acetónicos produjeron inhibición ante algunas cepas, mientras que el extracto obtenido con cloroformo de la hoja inhibió a *S. aureus* (Tabla 1). En este caso, la polaridad de los disolventes de extracción podría estar involucrada en el resultado obtenido, debido a que el crecimiento de *S. aureus* se vio inhibido por los disolventes de polaridad intermedia, mientras que los extractos metanólicos y hexánicos (mayor y menor polaridad, respectivamente) no

presentaron actividad antibacteriana. Dicha actividad se atribuye a la presencia de compuestos afines a disolventes de polaridad intermedia, tales como terpenos (monoterpenos y sesquiterpenos) y aceites esenciales. Otras investigaciones han reportado la inhibición del crecimiento de *S. aureus*, por la presencia de compuestos terpénicos, alcaloides, entre otros (Cuca *et al.*, 2011). Por otra parte Cuervo *et al.* (2019) reportaron que el extracto acetónico de *Drimys granadensis*, inhibió a *S. aureus*, atribuyendo dicha actividad a la presencia de compuestos polares.

Con respecto a la CMI para *S. aureus* (Tabla 2), se puede ver que para los extractos de flor-acetona, hoja-cloroformo y P.E.-acetona fue de 8 mg/mL, mientras que el extracto del tallo-acetona, presentó CMI con 10 mg/mL (Tabla 2). Por otro lado, los extractos que tuvieron actividad frente a *A. baumannii* 164, fueron los de tallo empleando hexano y acetona como disolventes de extracción (Tabla 1). Dicho efecto pudiera atribuirse a la presencia de compuestos terpénicos presentes en tallo (Manzano *et al.*, 2013). En cuanto a la CMI, el extracto hexánico presentó actividad con 4 mg/mL, mientras que el extracto con acetona, a los 8 mg/mL (Tabla 2).

Finalmente, para la bacteria Gram negativa *P. aeruginosa*, el único extracto que presentó inhibición fue el de P. E. empleando acetona como disolvente de extracción (Tabla 1), la CMI efectiva fue a partir de los 4 mg/mL (Tabla 2). Hoskeri & Krishna (2011), obtuvieron actividad antibacteriana de esta cepa empleando extractos acuosos y metanólicos de retama negra, reportando a los extractos acuosos con una mayor eficiencia.

**Tabla 1.** Actividad antibacteriana de extractos de retama negra.

Planta	Parte de la planta	Tipo de extracto	<i>P.aeruginosa</i> 14	<i>P.aeruginosa</i> 42	<i>A.baumannii</i> ATCC	<i>A.baumannii</i> 164	<i>S.aureus</i> ATCC	<i>S.aureus</i> 50F
<i>Flaveria trinervia</i> (Spreng.) C. Mohr	Flor	He	-	-	-	-	-	-
		Cl	-	-	-	-	-	-
		Ac	-	-	-	-	+	+
		Me	-	-	-	-	-	-
	Hoja	He	-	-	-	-	-	-
		Cl	-	-	-	-	+	+
		Ac	-	-	-	-	-	-
		Me	-	-	-	-	-	-
	Tallo	He	-	-	-	+	-	-
		Cl	-	-	-	-	-	-
		Ac	-	-	-	+	+	+
		Me	-	-	-	-	-	-
	Planta entera	He	-	-	-	-	-	-
		Cl	-	-	-	-	-	-
		Ac	+	-	-	+	+	+
		Me	-	-	-	-	-	-

\*He=Hexano, Cl=Cloroformo, Ac=Acetona, Me=Metanol. (+) representa inhibición bacteriana, y (-) crecimiento bacteriano.

**Tabla 2.** Concentración mínima inhibitoria de extractos oleosos de retama negra (mg\*mL<sup>-1</sup>)

Planta	Parte de la planta	Tipo de extracto	<i>P.aeruginosa</i> 14	<i>P.aeruginosa</i> 42	<i>A.baumannii</i> ATCC	<i>A.baumannii</i> 164	<i>S.aureus</i> ATCC	<i>S.aureus</i> 50F
<i>Flaveria trinervia</i> (Spreng.) C. Mohr	Flor	Ac	-	-	-	-	8	8
	Hoja	Cl	-	-	-	-	8	8
	Tallo	He	-	-	-	4	-	-
		Ac	-	-	-	8	10	8
Planta entera	Ac	4	-	-	-	8	8	

## CONCLUSIÓN

Los extractos oleosos de la retama negra presentaron diferente actividad antibacteriana en función al disolvente de extracción utilizado, así como de la bacteria sobre la cual fue validada su actividad. Los extractos de flor, tallo y planta entera, empleando acetona como disolvente de extracción, inhibieron el crecimiento de *S. aureus*. Para la bacteria *A. baumannii* el extracto hexánico y acetónico del tallo, y el extracto acetónico de P.A presentaron actividad antibacteriana. Únicamente el extracto de P.A., con acetona, presentó actividad contra *P. aeruginosa*. Las CMI oscilaron entre los 4 mg/mL y 10 mg/mL. El extracto del tallo y de P. E. tuvieron mayor espectro de actividad antimicrobiana contra las bacterias Gram positivas y Gram negativas utilizadas en el presente trabajo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aksel, B. (2010). Bioactive compounds in plants –benefits and risks for man and animals. *The Norwegian Academy of Science and Letters*. Oslo. ISBN 978-82-7099-583-7
- Armas, M.R. & Gajewski, P. (2020). *Medicina interna basada en la evidencia 2019/20*. (3ª ed.). Versión electrónica disponible en: <https://empendium.com/manualmibe/chapter/B34.II.3..html>
- Canales, M.M., Hernández, D.T., Caballero, N.J., Romo de Vivar, R.A., Durán, D.A. & Lira, S.R. (2006). Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional de las plantas medicinales en San Rafael, Coaxatlán, Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla, México. *Acta Botánica Mexicana* 75, 21-43. ISSN: 0187-7151
- Cuca, S.L.E., Coy, B, C.A.; Coy, B. E.D. & Lozano, M. J.M. (2011). Actividad antibacteriana de terpenoides y alcaloides aislados de tres plantas colombianas. *Revista Cubana de Farmacia* 45(2), 275-282.
- Cuervo, S.D., Vanegas, C.J., Corzo, B.D. & Correa, M.F. (2019). Evaluación de la capacidad bactericida de extractos vegetales de distinta polaridad de *Drimys granadensis*. *Revista peruana de biología* 26 (1), 135-142. doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v26i1.15917>
- Dreser, A., Wirtz, J.V., Corbett, K.K. & Echániz, G.(2008) Uso de antibióticos en México: revisión de problemas y políticas. *Salud pública de México* 50 (4), 480-487.
- Galván, J.M., Rajas, O., & Aspa, J. (2015). Revisión sobre las infecciones no bacterianas del aparato respiratorio: neumonías víricas. *Archivos de bronconeumología*, 51(11), 590-597.
- Gutiérrez, A. E.J., Rangel, V. E., Gómez, A.C.A., Falfán, C. R.N., Rodríguez, M. M.L., Godínez, O. A., Cortés, L.H. & Castro, R. J. (2016). Antibacterial effect of roselle extracts (*Hibiscus sabdariffa*), sodium hypochlorite and acetic acid against multidrug-resistant *Salmonella* strains isolated from tomatoes. *Lett. Appl. Microbiol.* 62, 177-184



- Hoskeri, H.J. & Krishna, V. (2011). Anthelmintic and Bactericidal Activity of Extracts from *Flaveria trinervia* Spring C. Mohr. *European J Med Plants* 1(4), 153-161.
- Joy, H. H., Krishna, V., Vinay Kumar, B., Shridar, A. H., Ramesh Babu, K., & Sudarshana, M. S. (2012). In Vivo prophylactic effects of oleanolic acid isolated from chloroform extract of *Flaveria trinervia* against ethanol induced liver toxicity in rats. *Archives of Pharmacal Research*, 35(10), 1803–1810. doi:10.1007/s12272-012-1013-y
- Joy, H. & Krishna, V. (2011). Anthelmintic and Bactericidal Activity of Extracts from *Flaveria trinervia* Spring C. Mohr. *European Journal of Medicinal Plants* 1(4): 153-161.
- Manzano, S.P., Miranda, M.M., Rodney M.de O.P., Orellana, L.T., Abreu P.P. & Peralta G.E. (2013). Estudio químico de los compuestos lipídicos de las hojas, tallos y flores de *Vernonanthura patens* (Kunth) H. Rob. (Asteraceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 18(4), 575-585.
- Morales, C. M., Hernández, M.J., Leyva, R.G., Salinas, M.Y., Soto, R.L. & Castro, R.J. (2013). Influence of variety and extraction solvent on antibacterial activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyxes. *Journal of Medicinal Plants Research*. 7(31), 2319-2322.
- OPS. (2021). La carga de enfermedades respiratorias crónicas en la Región de las Américas, 2000-2019. *Organización Panamericana de la Salud*. (Fecha de consulta: Mayo 2022). Disponible en: <https://www.paho.org/es/enfermedades-no-transmisibles-salud-mental/portal-datos-enfermedades-no-transmisibles-salud-4>
- Osuna, L., Tapia-Pérez, M.E., Jiménez-Ferrer, J.E., Carrillo-Quiróz, B.A. & Silva-Sánchez, J. (2008). Screening of *Alternanthera repens*., *Boerhavia coccinea*., *Flaveria trinervia*., *Tournefortia densiflora*., and *Vitex mollis*. Extracts to Evaluate their Antibacterial Activity and Effect on Smooth Muscle. I. *Pharmaceutical Biology*, 43(9), 749-753. DOI: 10.1080/13880200500406412
- Ramos, M.A., Pintos, P., & Muñoz, R.E. (2018). Protocolo diagnóstico y tratamiento empírico de la neumonía en el paciente inmunocomprometido. *Medicine – Programa de formación médica continuada acreditado* 12(55), 3281-3284. doi:10.1016/j.med.2018.04.016
- Tapia, P.M.E., Tapia, C.A., Cedillo, R.R., Osuna, L. y Meckes, M. (2003). Screening of Mexican Medicinal Plants for Antiprotozoal Activity – Part II. *Pharmaceutical Biology* 41(3), 180-183.
- Umadevi, S., Mohanta, G. P., Kalaichelvan, V. K. & Manavalan R. (2006). Studies on wound healing effect of *flaveria trinervia* leaf in mice. *Indian J Pharm Sci*, 68 (1), 106-108. doi: 10.4103/0250-474X.22979.
- Umadevi, S., Mohanta, G.P., Balakrishna, K., y Manavalan, R. (2005). Phytochemical Investigation of the Leaves of *Flaveria trinervia*. *Natural Product Sciences* 11(1), 13-15.
- WHO. (2017). Foro de las Sociedades Respiratorias Internacionales. El impacto global de la Enfermedad Respiratoria (2ª Ed.). *Asociación Latinoamericana de Tórax*. México.
- WHO. (2021). Neumonía. (Fecha de consulta: Mayo 2022). Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/pneumonia>

## Identificación molecular de *Contraecum rudolphii* (Nematoda: Anisakidae) en peces de importancia comercial de tres localidades en Nuevo León, México.

A.C. González-Morales\*<sup>1</sup>, Z.J. Molina-Garza<sup>1</sup>, L. Galaviz-Silva<sup>1</sup>, A.K. Olvera-Leal<sup>1</sup> y J.A. Delgado-Garduño<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Patología Molecular y Experimental, Departamento de Zoología de Invertebrados No Artrópoda. Ave Universidad s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 66455. San Nicolás De los Garza, Nuevo León, México.

\*[acgm\\_92@hotmail.com](mailto:acgm_92@hotmail.com)

### RESUMEN

Los anisákidos son parásitos nematodos de la familia Anisakidae cuyo ciclo biológico se desarrolla en hospedadores acuáticos. La anisakidosis humana es causada por la ingesta de pescado crudo o insuficientemente cocido infectado con larvas de tercer estadio (L3) de los géneros Anisakis, *Pseudoterranova*, *Contraecum* e *Hysterothylacium*. Por lo tanto, el diagnóstico molecular constituye una herramienta muy útil para la identificación definitiva de estos parásitos. Actualmente se han descrito diversas entidades genéticamente aisladas dentro del género *Contraecum sensu lato*, la distribución y ecología de este grupo sigue siendo un desafío en el país. En la presente investigación se ha recopilado información basada en datos de secuencias de ADN registradas anteriormente en el Gen Bank sobre la identificación de la especie *C. rudolphii* en organismos acuáticos *Micropterus salmoides* e *Ictalurus punctatus*. Estos datos corroboran la presencia de *C. rudolphii* en peces que habitan cuerpos de agua dulce salobre, dentro de tres sitios diferentes del Estado de Nuevo León, México.

**Palabras clave:** Parásitos, zoonosis, contraecosis, organismos acuáticos, detección, hospedero accidental.

### ABSTRACT

The anisakids as nematode parasites of the Anisakidae family whose life cycle takes place in aquatic hosts. Human anisakidosis is caused by the ingestion of raw or undercooked fish infected with third-stage larvae (L3) of the genera Anisakis, *Pseudoterranova*, *Contraecum*, and *Hysterothylacium*. Therefore, molecular diagnosis is a very useful tool for the definitive identification of these parasites. Currently, several genetically isolated entities have been described within the genus *Contraecum sensu lato*, the distribution and ecology of this group continues to be a challenge in the country. In the present investigation, information has been compiled based on data from DNA sequences previously registered in the Gen Bank on the identification of the species *C. rudolphii* in aquatic organisms *Micropterus salmoides* and *Ictalurus punctatus*. These data corroborate the presence of *C. rudolphii* in fish that inhabit brackish freshwater bodies, within three different sites in the State of Nuevo León, Mexico.

**Keywords:** Parasites, zoonoses, contraecosis, aquatic organisms, detection, accidental host.

## INTRODUCCIÓN

México es un país importante a escala mundial por su riqueza pesquera, ya que cuenta con una extensión considerable de litoral, lagunas salobres, esteros y mantos acuíferos continentales. Actualmente se conocen en México un total de 2,763 especies, lo que representa un 9.8% de las especies de peces conocidas en el mundo, tanto marinas como dulceacuícolas. Las especies mexicanas están comprendidas en 53 órdenes de los 62 reconocidos para todo el mundo, lo que implica que un 85% de la diversidad mundial está representada en el país. Además, en nuestro territorio se encuentran 265 familias y 967 géneros de un total de 515 (51.4%) y 4,494 (21.5%), respectivamente (Nelson *et al.*, 2006). En la zona marina y estuarina se han detectado hasta el momento poco más de 2,100 especies de peces tanto para el Pacífico mexicano como para las áreas del golfo de México y el Caribe (Espinoza-Pérez, 2014).

Ecológicamente los parásitos son una parte esencial de la comunidad acuática y la mayoría de los individuos de las poblaciones de peces silvestres o en cultivo, están infectados con uno o más parásitos (Al-Zubaidy, 2009).

Los nemátodos de la familia Anisakidae son parásitos de cuerpo no segmentado, cilíndrico, alargado, ligeramente afilado en los extremos, aproximadamente de unos 3 cm de longitud, menos de 1 mm de diámetro y de color blanquecino; constituido por los géneros *Anisakis*, *Hysterothylacium*, *Pseudoterranova* y *Contracaecum*. Los cuales son de importancia económica por encontrarse en especies de pescado de consumo y su localización geográfica es prácticamente global. Ocasionalmente se han hallado larvas en peces de aguas dulces. El primer caso de anisakiosis humana se describió en Holanda en 1955 y desde entonces se han documentado casos en todo el mundo (Arenal-Vera *et al.*, 1991).

Las larvas de *A. simplex* y *P. decipiens* se localizan preferentemente en el estómago, sin embargo, hasta 30-40% de los casos de infección por *A. simplex*, se localiza también en el intestino. Tradicionalmente la anisakiosis humana se ha dividido en anisakiosis gástrica y anisakiosis intestinal dependiendo de la zona afectada del aparato digestivo. La anisakiosis gástrica se caracteriza por dolor de estómago, náuseas y vómitos que aparecen a las pocas horas de ingerir pescado crudo parasitado. Si no se diagnostica correctamente los síntomas pueden permanecer desde varias semanas hasta dos años. En la anisakiosis intestinal, los síntomas (dolor abdominal, náuseas y vómitos) aparecen aproximadamente a los siete días de la ingestión del pescado parasitado. Las lesiones de la anisakiosis humana se han clasificado en cinco tipos: respuesta a un cuerpo extraño, reacción flemonosa, lesión tipo absceso, lesión absceso-granulomatosa y lesión granulomatosa (Fernández de Corres *et al.*, 1996; Degese, 2015).

En varios estados de México se ha encontrado al género *Contracaecum*, al parasitar una gran variedad de hospederos, incluyendo diversas especies de peces (Juárez-Arroyo, 1986; Juárez-Arroyo & Salgado-Maldonado, 1987; Meléndez & Rosas, 1995; Mendoza *et al.*, 1996; Pérez-Ponce de León *et al.*, 1996; Castillo-Sánchez *et al.*, 1998; Mendoza-Pamero *et al.*, 2007; Perez-Talamantes, 2008).

El parasitismo es fundamentalmente una asociación ecológica, que puede definirse como una relación entre dos organismos (hospedador y parásito) en la que el parásito es dependiente metabólicamente de su hospedador (Mehlhorn & Piekarski, 1998). Esta forma de vida representa más de la mitad de toda la diversidad animal, lo que se debe en gran parte a la especificidad de cada parásito frente a cada hospedador (Tompkins & Clayton, 1999). Los peces de cultivo no se escapan de estas relaciones, las altas densidades, las condiciones ecológicas simplificadas y los reducidos tiempos de residencia,

favorecen la transmisión de parásitos que infectan directamente al hospedador (Bakke & Harris, 1998).

Los estudios de *Contracaecum* en el estado de Nuevo León a nivel molecular son escasos y no se tiene un registro de estas especies para poder identificar y hacer comparaciones con las especies presentes y así, determinar si son endémicas o exóticas traídas de otras granjas acuícolas de los estados vecinos de Nuevo León. Por lo que, el presente estudio pretende ser una contribución en la identificación de la especie de *Contracaecum rudolphii* en estadio temprano de larva con el mínimo de muestra, mediante técnicas moleculares.

## MATERIALES Y MÉTODOS

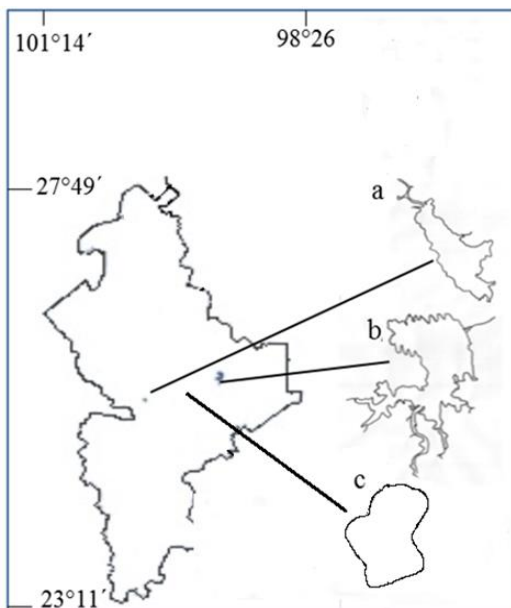
### Área de estudio

El presente estudio se realizó en dos presas y una laguna del Estado de Nuevo León, México (Fig. 1).

La Presa El Cuchillo-Solidaridad se localiza en el municipio de China, N.L., a 110 Km, al Noreste de Monterrey, en las coordenadas geográficas 25° 38' Latitud Norte y 99° 14' Longitud Oeste.

La Presa Rodrigo Gómez (La Boca) se localiza en Santiago N.L., ubicada aproximadamente a 30Km al Oriente de Linares, en las coordenadas 25°24' Latitud Norte y 100° 10' Longitud Oeste.

La laguna artificial de Ciudad Deportiva está ubicada en Monterrey N.L., en la Av. Churubusco entre las calles Ing. Francisco Beltrán y Jesús M. Garza en las coordenadas 25° 41' 19" al Noreste y 100° 16' 15" al Oeste (CONAGUA, 2013).



**Figura 1.** Ubicación de presas muestreadas en el Estado de Nuevo León, México. a. Presa Rodrigo Gómez (La Boca), b. Presa El Cuchillo-Solidaridad y c. Laguna artificial de Ciudad Deportiva.

### **Colecta de organismos**

En las localidades de estudio se obtuvieron peces de la especie *Micropterus salmoides* e *Ictalurus punctatus* que son capturados por pescadores locales del mes de agosto a septiembre del 2019. Éstos se mantuvieron en acuarios conectados con aireadores para poder ser trasladados a UANL-FCB en el laboratorio de Patología Molecular y Experimental ubicado entre 80 y 267 km de la localidades y analizados para realizar los estudios correspondientes.

### **Técnica de Disección**

Las técnicas utilizadas para disección fueron las descritas por Hoffman (1967), Conroy y Armas de Conroy, (1987) y Thoesen (1994). Galaviz *et al.* (2012) para el procesamiento de los parásitos. A los pescados se les practicó una incisión transversal ventral con unas tijeras de punta roma para no dañar los órganos internos, los cuales se colocaron en solución salina al 0.65%. Después se abrieron con agujas de disección con ayuda de un estereoscopio marca Leica EZ4D para buscar los nematodos que se encuentren en la luz del intestino, estómago y ciegos intestinales. Estos nematodos se colocaron en alcohol etílico 70% para su conservación y extracción de ADN.

### **Extracción del ADN**

Para la extracción de ADN, la cual se realizó mediante el protocolo del DNAzol® (Molecular Research Center, Inc 2001) de la siguiente manera: las muestras y DNAzol se pusieron en un tubo en tubos Eppendorf de 1,5 ml en una proporción de 200ml y 800ml respectivamente. Se incubaron durante 24 horas a 4 °C. A continuación, se añadió etanol absoluto frío al sobrenadante en una proporción de 1:1, se incubó a temperatura ambiente durante 15 min, se centrifugó a 5000 rpm durante 5 min y se decantó el sobrenadante; después de esto, se realizaron dos lavados más con 300 µl de etanol frío al 70%, se dejó secar el exceso de alcohol del tubo a temperatura ambiente durante 15 min, se agregaron 100 µl de agua libre de nucleasas y se cuantificó el extracto de ADN con un espectrofotómetro Nanodrop 2000 (Invitrogen, Carlsbad, CA) y se almacenó a - 20 ° C (Galaviz-Silva *et al.*, 2013).

### **Técnica de PCR punto final**

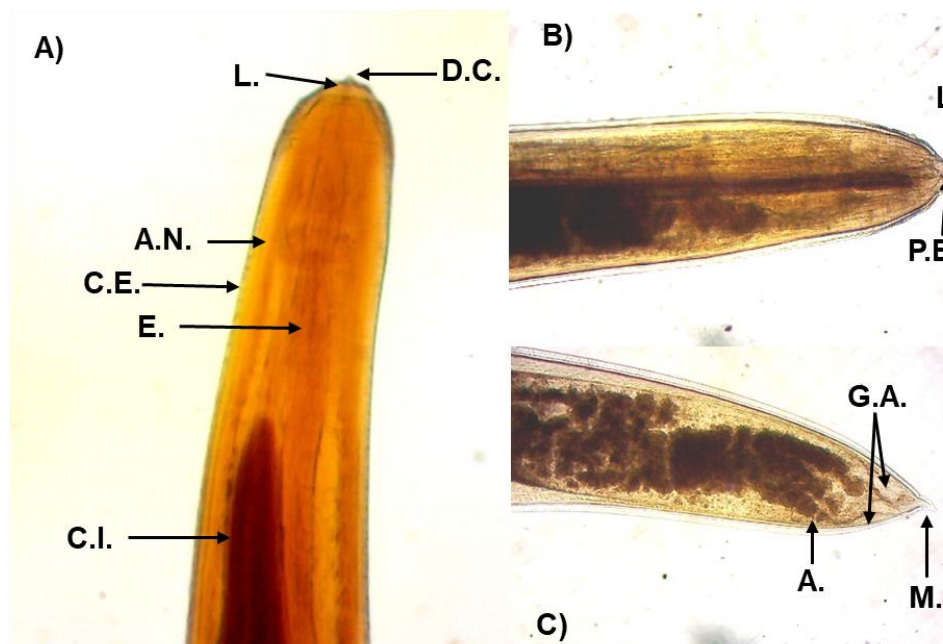
La amplificación de la región ITS1 se llevó a cabo utilizando los primers reportados por Shamsi *et al.* (2009) SS1 (Forward; 5'-GTTTCCGTAGGTGAACCTGCG-3') y NC13R (Reverse: 5'-GCTGCGTTCTTCATCGAT-3') y la región ITS-2 SS2 (Forward; 5'-TTGCAGACACATTGAGCACT-3') y NC2 (Reverse: 5'-TTAGTTTCTTTTCCCTCCGCT-3'). Para la reacción de PCR punto final, se utilizó el Kit de BIOLASE DNA Polymerase (BIOLINE) con sus concentraciones correspondientes: [10 mM] 10X NH4 Buffer, [3 mM] MgCl2, [250µM] dNTP MIX, 2 µ de muestra, [50 pmol] de cada iniciador (NC2, NC5) y 2U Taq polimerasa para una reacción final de 50 µl y un termociclador (Labnet) con las siguientes condiciones: después de una desnaturalización inicial de 95°C por 10 min. seguirán 35 ciclos de 95°C por 30 seg (desnaturalización), 52° por 30 seg (alineamiento), 72° por 1.15 min (extensión) y una extensión final de 72° por 7 min. Se tomó una muestra de 2 µl de ADN de la reacción de PCR y se sometió a corrimiento en gel al 1% de agarosa-TBE, con 1 µl de bromuro de etidio para su revelado en la cámara de luz UV. El medio de la cámara de electroforesis fue el buffer de TBE al 0.5%, el cual se corrió con un voltaje de 120 V, 250 mA por un tiempo de 50 min.

### Secuenciación de ADN con el método de Sanger

Para la secuenciación del ADN, se utilizó el kit Big Dye Terminator Cycle Sequencing de Applied Biosystems (AB), el cual utiliza didesoxinucleótidos (ddNTPs) (terminadores) marcados con fluorocromos. Los fragmentos de DNA sintetizados y marcados son separados por tamaño mediante electroforesis capilar en un secuenciador de AB. La secuenciación de los productos de PCR se realizó en la Unidad de Biología Molecular del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM, a cargo de la Dra. Laura Ongay.

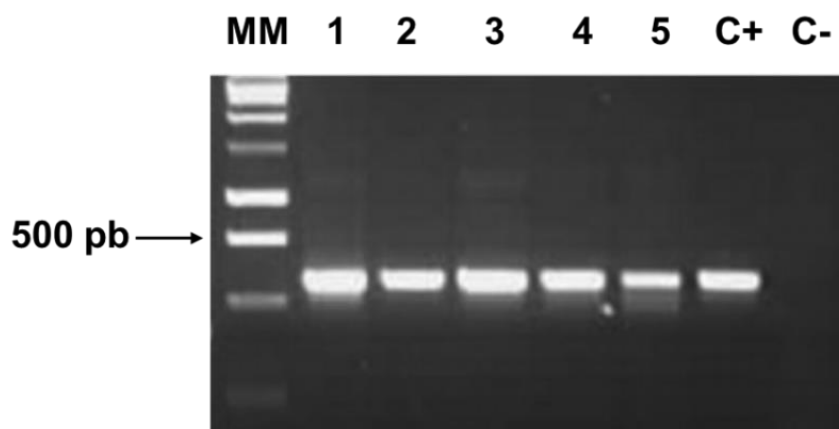
### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron parásitos de diferentes peces *Micropterus salmoides* e *Ictalurus punctatus*, los cuales se observaron al estereoscopio y microscopio, se identificaron morfológicamente pertenecientes al género *Contracaecum* (Fig. 2).



**Figura 2.** A-B) Parte anterior de un ejemplar de *Contracaecum* spp. aislado en *Micropterus salmoides*, señalando el diente cuticular (D.C.), labios (L.), poro excretor (P.E.), anillo nervioso (A.N.), cutícula estriada (C.E.), esófago (E.), ciego intestinal (C.I.) y C) parte posterior, donde se señalan las glándulas anexas (G.A.), el ano (A.) y mucrón (M.) (10X).

El producto de la amplificación de la región ITS de las larvas colectadas se muestra en la Figura 3. Las secuencias que se obtuvieron variaron entre los 408 pb a los 477 pb, mostrando una identidad nucleotídica de un 88-92% con una muestra del género *Contracaecum rudolphii* (Genbank FJ467620.1), de acuerdo con el análisis del algoritmo BLAST.



**Figura 3.** Fragmento ADN mitocondrial ITS. (MM) Marcador molecular (100 pb), (1–5) Larvas L3 colectadas, (C+) control positivo, (C-) Control negativo.

Se realizó la comparación del tamaño de las bandas de amplificación de las regiones conservadas (ITS) de las larvas y su respectiva secuenciación para generar tablas de comparación de especies. Las secuencias fueron obtenidas del Gen Bank de especies de *Contracaecum* descritas con anterioridad.

**Tabla 1.** Especies comparadas y sus respectivas claves GenBank.

Especie	Clave GenBank
<i>Contracaecum rudolphii</i>	FJ589791.1
<i>Contracaecum spp.</i>	AY821752.1
<i>Contracaecum rudolphii</i>	FJ467620.1
<i>Contracaecum rudolphii</i>	FJ467619.1
<i>Contracaecum bioccai</i>	JF424598.1

Se secuenciaron las bandas y se obtuvo las secuencias correspondientes a las muestras y se llevaron al programa Blast para generar secuencias con un orden de 5' a 3' identificándose como *Contracaecum rudolphii* (Nematoda: Anisakidae).

```

CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

gi|269996981|gb|F3589792.1| .....ATCGAGCTAAACCAAAAAGT 20
gi|269996980|gb|F3589791.1| .....ATCGAGCTAAACCAAAAAGT 20
gi|56714152|gb|AY821752.1| TTTCTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTCGAGCTAAACCAAAAAGT 50
gi|237856642|gb|F3467620.1| .....ATCGAGCTAAACCAAAAAGT 20
gi|237856641|gb|F3467619.1| .....ATCGAGCTAAACCAAAAAGT 20
gi|331686770|gb|JF424598.1| .....TAGT 4
6_NC5.ab1 .....
7_NC51.ab1 .....

gi|269996981|gb|F3589792.1| CTCCCTACGTGCATAAATTCACATTTGCGCGTAATCGTGAGCCATGCAGCG 70
gi|269996980|gb|F3589791.1| CTCCCTACGTGCATAAATTCACATTTGCGCGTAATCGTGAGCCATGCAGCG 70
gi|56714152|gb|AY821752.1| CTCCCTACGTGCATAAATTCACATTTGCGCGTAATCGTGAGCCATGCAGCG 100
gi|237856642|gb|F3467620.1| CTCCCTACGTGCATAAATTCACATTTGCGCGTAATCGTGAGCCATGCAGCG 70
gi|237856641|gb|F3467619.1| CTCCCTACGTGCATAAATTCACATTTGCGCGTAATCGTGAGCCATGCAGCG 70
gi|331686770|gb|JF424598.1| CTCCCTACGTGCATAAATTCACATTTGCGCGTAATCGTGAGCCATGCAGCG 54
6_NC5.ab1 .....TTGCACTACTTCCATTTGCGAGTGCTCGTGAGCCATGCAGTA 42
7_NC51.ab1 -TCCGTACTTGCACTACTTCCATTTGCGAGTGCTCGTGAGCCATGCAGTA 49
*****.....**.....

gi|269996981|gb|F3589792.1| AGTCATACACATGTGGTGGCAGCCGTGGCTGTTTTTCATTGG-CTGAC 119
gi|269996980|gb|F3589791.1| AGTCATACACATGTGGTGGCAGCCGTGGCTGTTTTTCATTGG-CTGAC 119
gi|56714152|gb|AY821752.1| AGTCATACACATGTGGTGGCAGCCGTGGCTGTTTTTCATTGG-CTGAC 148
gi|237856642|gb|F3467620.1| AGTCATACACATGTGGTGGCAGCCGTGGCTGTTTTTCATTGG-CTGAC 119
gi|237856641|gb|F3467619.1| AGTCATACACATGTGGTGGCAGCCGTGGCTGTTTTTCATTGG-CTGAC 119
gi|331686770|gb|JF424598.1| AGCCATACACATGTGGTGGCAGCCGTGGCTGTTTTTCATTGG-CTGAC 103
6_NC5.ab1 GAGCACGCACATGTGGTGGCAGCCGTGGCTGTTGCTTGGTGGCGGAC 92
7_NC51.ab1 GAGCACGCACATGTGGTGGCAGCCGTGGCTGTTGCTTAGTTGG-CGAC 98
..**.....*****.....*****.....**.....

gi|269996981|gb|F3589792.1| AATGGCTATGGCTTGC.TGTGTGTGGAGGGGAAGTGAAGTATCCGATATG 169
gi|269996980|gb|F3589791.1| AATGGCTATGGCTTGC.TGTGTGTGGAGGGGAAGTGAAGTATCCGATATG 169
gi|56714152|gb|AY821752.1| AATGGCTATGGCTTGC.TGTGTGTGGAGGGGAAGTGAAGTATCCGATATG 199
gi|237856642|gb|F3467620.1| AATGGCTATGGCTTGC.TGTGTGTGGAGGGGAAGTGAAGTATCCGATATG 169
gi|237856641|gb|F3467619.1| AATGGCTATGGCTTGC.TGTGTGTGGAGGGGAAGTGAAGTATCCGATATG 169
gi|331686770|gb|JF424598.1| AATGGCTACTTGTGTCATGTTGAGGGGAAGTGAAGTATCCGATATG 153
6_NC5.ab1 AATGGCTACTTGTGTCATGTTGAGGGGAAGTGAAGTATCCGATATG 142
7_NC51.ab1 AATGGCTACTTGTGTCATGTTGAGGGGAAGTGAAGTATCCGATATG 148
*****.....**.....*****.....*****.....**.....
    
```

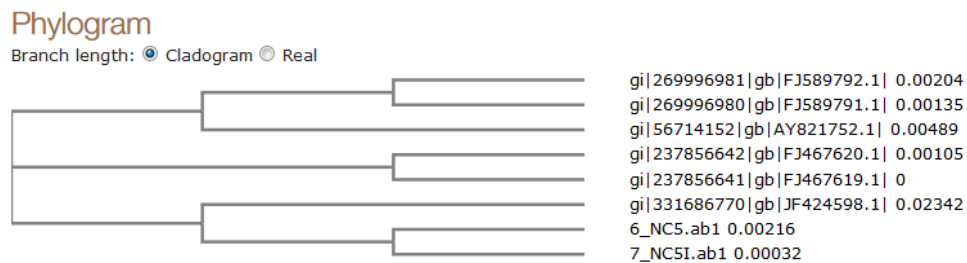
**Figura 4.** Alineación de secuencias de ADN ribosómico regiones ITS (408 pb) de *C. rudolphii*.

Los resultados de las secuencias de los ejemplares analizados para este trabajo fueron depositados en el banco de genes del NCBI bajo el número de acceso: NCBI GU265865.1 GI: 283971005 “*Contraecum rudolphii* clone rancho El Coronel small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence” 408 bp linear DNA.

Estos resultados nos indican que nuestras larvas pertenecen a la especie de *Contraecum rudolphii* después de hacer una comparación en la base de datos del GenBank mediante Blast de nucleótidos.

Los análisis de PCR en estos tipos de estudios son hechos cuando la especie ya está en fase adulta y ha sido identificada morfológicamente, gracias a este estudio, se recomienda que se utilice como base para futuras investigaciones en diversas especies de hospederos y determinar más fácilmente que tipo de larva está presente e intentar brindar un diagnóstico certero y tratamiento temprano.

Los dendogramas nos indican que las secuencias de los ejemplares identificados (NC5.ab1) son filogenéticamente cercanos a *C. rudolphii* con los números de acceso GU265865.1 GI: 283971005 “*Contraecum rudolphii* clone rancho El Coronel small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence” 408 bp linear DNA.



**Figura 5.** Dendograma de la región ITS (408 pb) de género *Contraecum*.



No existen estudios previos relacionados con la secuenciación de *Contracaecum* en Nuevo León, solo se han encontrado referencias sobre la abundancia presente en el Estado, pero ninguna llega a especie. Por lo cual, estos resultados nos dan base para poder comparar mediante los ITS las diferentes especies presentes, aunque se encuentren en su forma larvaria y así poder tener un resultado concreto al momento de determinar que especie abunda en el estado de Nuevo León (Kijewska *et al.*, 2002).

Comprobamos que las técnicas de PCR punto final pueden ser utilizadas en larvas de *Contracaecum* con un mínimo de muestra, lo que generó un aporte para determinar cualquier otro género de la familia Anisakidae.

### CONCLUSIÓN

Después de haber realizado las técnicas de PCR y Secuenciación, concluimos que son técnicas específicas, muy útiles para identificar género y especie de larvas de *Contracaecum* en etapa temprana de desarrollo, sin la necesidad de esperar la forma adulta para determinar mediante sus características morfológicas, la especie que se estudia o está dando un problema en granjas acuícolas del estado de Nuevo León y así poder determinar su origen endémico o exótico.

### BIBLIOGRAFÍA

- Al-Zubaidy, A. B. (2009). Prevalence and densities of *Contracaecum* sp. larvae in Liza abu (Heckel, 1843) from different Iraqi water bodies. *Marine Science*. 20:3-17
- Arenal-Vera, J.J., Marcos-Rodríguez, J.L., Borrego-Pintado, M.H., Bowakin-Dib, W., Castro-Lorenzo, J., Blanco-Álvarez, J.I. (1991). Anisakiasis aguda como causa de apendicitis aguda y cuadro reumatológico: primer caso en la literatura médica. *Rev. Esp. Enf. Digest.*, 79: 355-358
- Bakke TA, Harris PD. (1998). Diseases and parasites in wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations. *Can J Fish Aquat Sci.*, 55:247-26.
- Choc-ML, Jiménez-RA, Arguedas-CD, Dolz G. (2020). *Contracaecum multipapillatum* (Nematoda: Anisakidae) en peces de aguas continentales de Guanacaste, Costa Rica e Izabal, Guatemala. *Revista Colombiana de Ciencia Animal RECIA*, 12(2):e767. <https://doi.org/10.24188/recia.v12.n2.2020.767>
- Conroy DA, Armas de Conroy G. (1987). Manual de Métodos de Diagnóstico en Ictiopatología con Especial Referencia a los salmónidos. FAO/Programa Cooperativo Gubernamental GCP/RLA/075/ITA. Apoyo a las Actividades Regionales de Acuicultura para América Latina. Documento de Campo No. 4.22.
- Degese, M. F. (2015). Identificación molecular de nematodos Anisákidos de impacto en la salud pública. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de San Martín. Buenos Aires, Argentina
- Espinosa-Pérez, H. (2014). Biodiversidad de peces en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85: 450-459
- Fernández de Corres, L., Audicana, M.T., del-Pozo, M.D., Muñoz, D., Fernández, E., Navarro, J.A., García, M., Díez, J. (1996). *Anisakis simplex* induces not only anisakiasis: report on 28 cases of allergy caused by this nematode. *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.*, 6: 315-319.
- Galaviz Silva, L., Z.J.Molina Garza, F.J.Iruegas Buentello y N.Salinas López. L. (2012). Parasitología Clínica, Manual de Laboratorio. Galaviz Silva (Ed.). Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México.
- Hoffman G. (1976). Parasites of North America Freshwater Fishes. University of California. Press, Berkeley. Los Angeles, California, USA.

- Juárez. (1986). Helmintos de la lisa *Mugil cephalus* Linneus, en Topolombo, Sinaloa SEDEMAR. Dirección General de Oceanografía, Topolombo, Sinaloa. 56 pp.
- Juárez-Arroyo J. y G. Salgado-Maldonado. (1987). Helminths of the "lisa" *Mugil cephalus* at Topolombo, Sinaloa, Mexico. *Anales del Instituto de Biología*, 60 (3): 279-298.
- Kijewska, A., Rokicki, J., Sitko, J., & Węgrzyn, G. (2002). Ascaridoidea: a simple DNA assay for identification of 11 species infecting marine and freshwater fish, mammals, and fish-eating birds. *Experimental Parasitology*, 101(1), 35-39.
- Mehlhorn H, Piekarski G. (1998). Grundriss der Parasitenkunde. Ed. Gustav Fisher.
- Meléndez, S. Y M. Rosas. (1995). Algunos aspectos ecológicos de los helmintos que afectan a las especies de peces endémicas de Pátzcuaro Michoacán, México. Tesis, Facultad de Ciencias, UNAM, México. 83 pp.
- Mendoza-Garfias, B., García-Prieto, L. y Pérez, G. (1996). Helmintos de la "acúmara" *Algansealacustrisen* el Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. *Anales del Instituto de Biología*, 67: 77—88.
- Mendoza-Palmero, C., H. Espinosa-Pérez, and G. Salgado-Maldonado. (2007). Helmintos parásitos de peces dulceacuícolas. Pages 179–191 in A. Lot-Helgueras, ed. Guía Ilustrada de la Cantera Oriente: Caracterización Ambiental e Inventario Biológico. Coordinación de la Investigación Científica, Secretaría Ejecutiva de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria, Universidad Nacional Autónoma de México, D. F., Mexico.
- Nelson, J. S. (2006). *Fishes of the World*. 4a ed. John Wiley & Sons, Nueva York. 601 pp.
- Pérez-Ponce de León, G., L. García-Prieto, D. Osorio-Sarabia and V. León-Règnon. (1996). Listados faunísticos de México VI. Helmintos parásitos de peces de aguas continentales de México. México D.F.: Serie Listados Faunísticos del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. 100 p.
- Pérez-Talamantes, R. (2008). Abundancia de *Contracaecum* sp. en *Micropterus salmonoides* (Lecepede, 1802) colectados en el rancho "El Coronel", Dr. Coss, Nuevo León, México. Tesis. Facultad de Ciencias Biología. UANL.
- Shamsi, S., Norman, R., Gasser, R. y Beveridge, I. (2009). Evidencias genéticas y morfológicas de la existencia de especies hermanas dentro de *Contracaecum rudolphii* (Hartwich, 1964) (Nematoda: Anisakidae) en Australia. *Investigación de parasitología*, 105 (2), 529-538.
- Shamsi, S., Norman, R., Gasser, R. y Beveridge, I. (2009). Redescrición y caracterización genética de *Contracaecum* spp. (Nematoda: Anisakidae) seleccionadas de varios huéspedes en Australia. *Investigación de Parasitología*, 104 (6), 1507-1525.
- Thoesen, JC. (1994). *Suggested Procedures for the Detection and Identification of Certain Finfish and Shellfish Pathogens* (eds) 4thV.1. Yamaguti S. 1968. *Systema Helminthum*. Vol IV. Monogenea and Aspidocotyla. Interscience Publ, New York. 699.
- Tompkins J, Clayton D. (1999). Host resources govern the specificity of swift let lice: Size matters. *J Anim Ecol.*, 68: 489-500.

## **Intensidad de helmintos parásitos de *Astyanax mexicanus* (DE FILIPPI, 1853) colectados en la presa Rodrigo Gómez, Santiago, Nuevo León.**

A.K. Leal-Olvera\*<sup>1</sup>, L. Galaviz-Silva<sup>1</sup>, Z.J. Molina-Garza<sup>1</sup>, A.C. González-Morales<sup>1</sup> y J.A. Delgado-Garduño<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Patología Molecular y Experimental, Departamento de Zoología de Invertebrados No Artrópoda. Ave Universidad s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 66455. San Nicolás De los Garza, Nuevo León, México.

\*[karen\\_lealo96@hotmail.com](mailto:karen_lealo96@hotmail.com)

### **RESUMEN**

A nivel mundial, la acuicultura ha aumentado su impacto social y económico a través de la producción de alimentos, la contribución a los medios de subsistencia y la generación de ingresos. La presencia de parásitos puede influir en la dificultad de la comercialización del producto y en la mortalidad de los peces. En la presente investigación se idéntico los helmintos encontrados en *Astyanax mexicanus* para determinar la abundancia y prevalencia de su helmintofauna, así como calcular la asociación de la intensidad de los parásitos con su factor de condición. Se realizó la disección y el examen óptico de todos los órganos interno con ayuda de tijeras y se tiñeron mediante la técnica de Hematoxilina de Van Cleave y de Carmin Acético de Semichon. Se realizó una prueba de la chi-cuadrada para determinar si existe una diferencia significativa entre hospederos infectados y no infectados machos-hembras. La mayor intensidad media pertenece al trematodo *Asococtyle* mientras que, la mayor abundancia y prevalencia calculados pertenece al trematodo *Clinostomum complanatum*. Se observó que no existe diferencia significativa en la carga parasitaria entre machos y hembras, pero si existe una diferencia significativa en el peso de los hospederos entre el sexo de estos.

**Palabras clave:** Parásitos, zoonosis, abundancia, organismos acuáticos, helmintofauna, prevalencia.

### **ABSTRACT**

Globally, aquaculture has increased its social and economic impact through food production, contribution to livelihoods, and income generation. The presence of parasites can influence the difficulty of marketing the product and the mortality of the fish. In the present investigation, the parasites found in *Astyanax mexicanus* were identified to determine the abundance and prevalence of its helminth fauna, as well as to calculate the association of the intensity of the parasites with their condition factor. Dissection and optical examination of all internal organs were performed with the help of scissors, and they were stained using the Van Cleave Hematoxylin and Semichon Acetic Carmin technique. A chi-square test was performed to determine if there is a significant difference between infected and uninfected male-female hosts. The highest average intensity belongs to the *Asococtyle* trematode while the highest abundance and prevalence calculated belongs to the *Clinostomum complanatum* trematode. It was observed that there is no significant difference in the parasite load between males and females, but there is a significant difference in the weight of the hosts between their sexes.

**Keywords:** Parasites, zoonosis, abundance, aquatic organisms, helminth fauna, prevalence.

**Área:** Microbiología y biotecnología.

## INTRODUCCIÓN

El crecimiento de la acuicultura en todo el mundo siempre implica la expansión de las áreas cultivadas, granjas de cultivo de mayor tamaño, mayor densidad de individuos en los cultivos y la utilización de recursos alimenticios a menudo producidos fuera del área regional. A nivel mundial, la acuicultura ha aumentado su impacto social y económico a través de la producción de alimentos, la contribución a los medios de subsistencia y la generación de ingresos (FAO, 2011).

Cada especie de organismo de vida libre alberga, al menos, una especie de parásito, lo que habla de la importancia del conocimiento de los parásitos como parte de la biota en cada región. En general, los parásitos de peces tienen gran importancia, la cual podemos resumir en tres puntos principales: económica, médica y biológica.

En el ámbito biológico, existen claras evidencias de que muchos parásitos en peces tienen la capacidad de inducir morbilidad, en sus hospederos y aun otros, mortalidad. Existen pérdidas económicas causadas por parásitos cuando la morbilidad se relaciona y en la mayoría de los casos así sucede, con el crecimiento y capacidad reproductiva de los peces hospederos, produciendo pérdidas de peso, así como la reducción de su fecundidad y un incremento en la mortalidad de las crías (Esch y Fernandez, 1993).

Por otra parte, se presentan efectos negativos en la comercialización del producto cuando los parásitos se alojan en hábitats tales como la superficie del cuerpo, la cavidad corporal o bien la musculatura, produciendo un aspecto desagradable para el consumidor.

En cuanto a la importancia médica, cabe señalar que existen numerosos casos en donde distintos tipos de parásitos infectan al hombre vía ingestión de carne de pescado, la cual alberga las formas larvares de dichos organismos (Esch y Fernandez, 1993).

*Astyanax mexicanus* es un pequeño pez de la familia Characidae nativa de regiones subtropicales y templadas de América del Norte, Central y del Este en su mayoría de México, Texas y Nuevo México (Culver, 2012). Aunque la sardinita plateada no es una especie económicamente importante en términos de consumo directo, si puede ser una de las principales especies forrajeras para otras especies carnívoras, y ha sido introducida junto a la lobina negra (*Micropterus salmoides*), siendo esta última usada ampliamente para la pesca deportiva (Rico-Mora, 1984; Morales-Mejía, 1988).

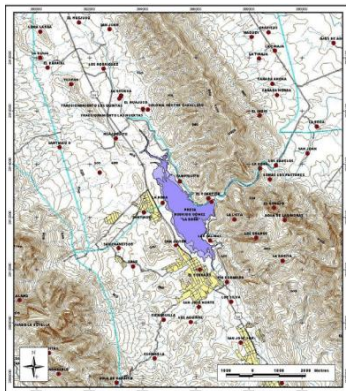
En esta especie se ha encontrado la presencia de diversos parásitos como lo son: *Wallinia chavarriae* (Choudhury *et al.*, 2001), *Bothriocephalus acheliognathi* (Gutiérrez-Cabrera, 2004), *Urocleidoides strombicirrus*, *Clinostomum complanatum*, *Rhabdochona mexicana* (Mugica-Ruiz y Caspeta-Mandujó, 2009), *Contacaecum* sp., *Spiroxis* sp. (Espinal-Carrion y López-López, 2010), entre otros. En este sentido, la presente investigación constituye un elemento fundamental para el conocimiento de problemas parasitarios potenciales en la población mexicana al señalar la distribución actual y hospederos de aquellos helmintos que pueden producir una zoonosis, para de esta manera implementar medidas de profilaxis ante ello.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### A) Descripción del área de estudio

Presa Rodrigo Gómez (La Boca).

El nombre oficial de la Presa de La Boca es la Presa Rodrigo Gómez. Se terminó de construir en 1963 con el propósito de abastecer las necesidades de agua potable de la ciudad de Monterrey y su área metropolitana. Tiene una superficie de 450 hectáreas y almacena alrededor de 40 millones de metros cúbicos de agua, captando el agua de lluvias que se acumulan en la Sierra Madre Oriental y la Sierra de la Silla (símbolo de la ciudad de Monterrey). Se encuentra justo al lado de la Carretera Nacional México-Laredo y forma parte de Santiago, Nuevo León (Figura 1). Se ubica entre las coordenadas UTM X Mínima 383871.168 X Máxima 386780.921 con Y Mínima 2810047.796 Y Máxima 2815299.763 (Torres & Barajas, 2004).



**Figura 1.** Presa de la Boca, Santiago, Nuevo León.

### **B) Colecta del material biológico**

#### Recolección de los peces

La colección del material biológico se realizó con redes de 60 m de largo con 2 m de ancho y se transportó vivo al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas en la Universidad Autónoma de Nuevo León, en transportadores con aireación por personal de SAGARPA del estado de Nuevo León.

### **C) Análisis de laboratorio**

En el laboratorio se realizó un chequeo de peso y medidas de los hospederos, enseguida se visualizó con el apoyo de un estereoscopio en búsqueda de ectoparásitos para después realizar la disección con ayuda de unas tijeras.

Los ejemplares de trematodos y sanguijuela se aplanaron, enseguida se lavaron con solución salina y se colocaron en portaobjetos y por encima 2 cubreobjetos, se dejó en reposo total por 24 horas para así asegurar bien que el parásito se aplane correctamente.

Después de las 24 horas se extrajeron con cuidado y se realizaron lavados con agua destilada para almacenarlos en alcohol al 70%.

En el caso de los nematodos se colocaron en viales con lactofenol con el fin de transparentarlos.

Después se realizó la tinción de trematodos mediante la técnica de Hematoxilina de Van Cleave, las sanguijuelas mediante la técnica de Carmin Acético de Semichon y copépodos con Rosa de Bengala según descritas por Salgado-Maldonado (2009) para después ser montadas entre cubre y portaobjetos añadiendo resina.

Para determinar la estructura de la comunidad de metazoarios y su relación con el hospedero se estimó diversos índices ecológicos según el criterio de Bush *et al.* (1997).

**Abundancia.-** Número total de metazoarios encontrados en la comunidad y/o por hospedero analizado.

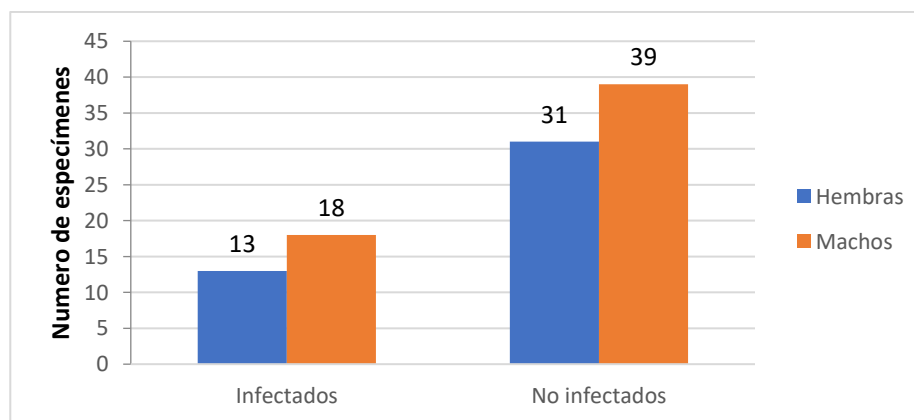
**Prevalencia.-** Número de hospederos infectados con una o más especies de parásitos o grupo taxonómico dividido por el número de hospederos examinados.

**Intensidad.-** Número total de parásitos de una especie en particular encontrados en una muestra, dividido entre el número de hospederos infectados con ese parásito.

La comparación de las intensidades de las especies de endoparásitos involucrados se hizo uso del programa de SPSS, la prueba de *t* de student se realizó para ver la relación con respecto a la sede del factor de condición, sexo e intensidad y la prueba de la chi-cuadrada para determinar si existe una diferencia significativa en la proporción de hospederos *A. mexicanus* infectados y no infectados entre machos-hembras.

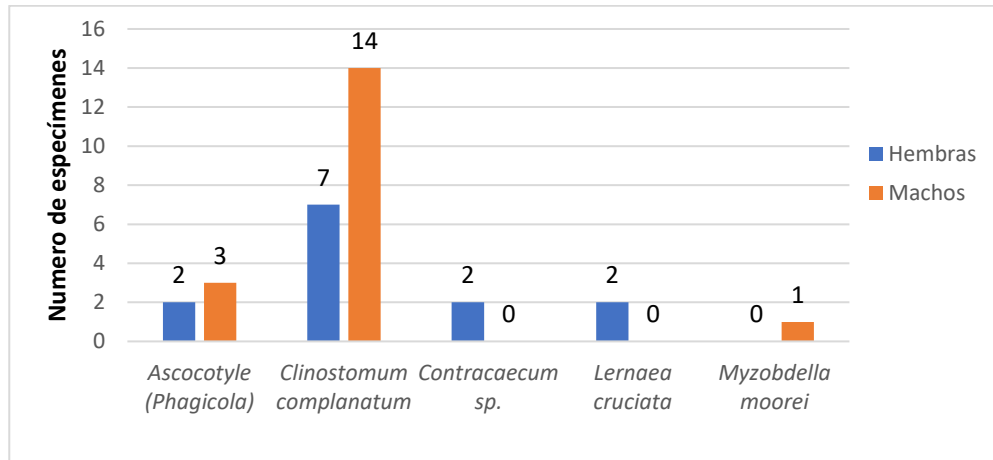
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se analizaron un total de 101 especímenes, de los cuales 45 eran hembras y 56 eran machos. De los 101 especímenes se pudo observar que 14 hembras y 17 machos se encontraban infectados, dando un total de 31 especímenes infectados (Gráfica 1).



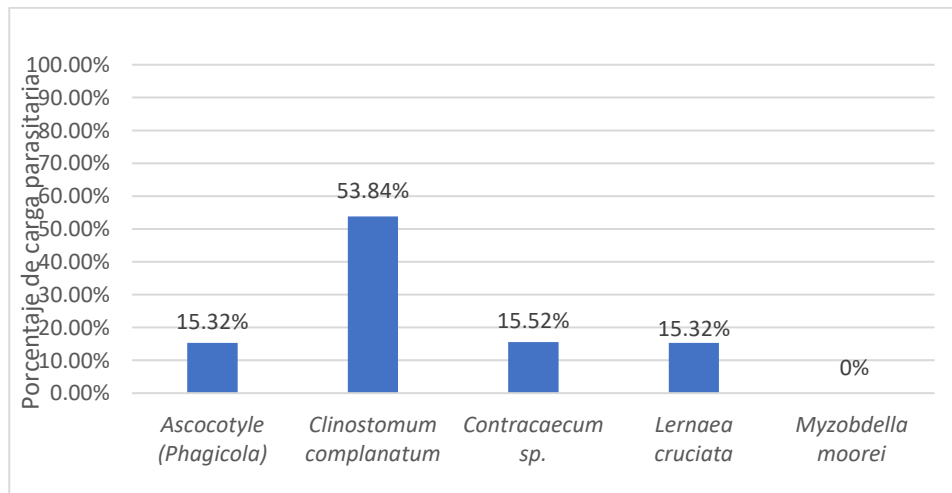
**Gráfica 1.** Número total de especímenes infectados y no infectados de hembras y machos analizados.

En la Gráfica 2 se observa la frecuencia parasitaria en los ejemplares positivos, donde se puede observar que *Clinostomum complanatum* presentó la mayor frecuencia, infectando a 21 hospederos 8 hembras y 13 machos, mientras que *Myzobdella moorei* presentó la menor frecuencia, infectando a 1 macho. Mugica-Ruiz y Caspeta-Mandujó (2009) encontraron en branquias la especie de *Clinostomum complanatum* en *A. aeneus*, sin embargo, para los otros parásitos no se encontraba la presencia en este hospedero hasta la fecha de elaboración del proyecto.



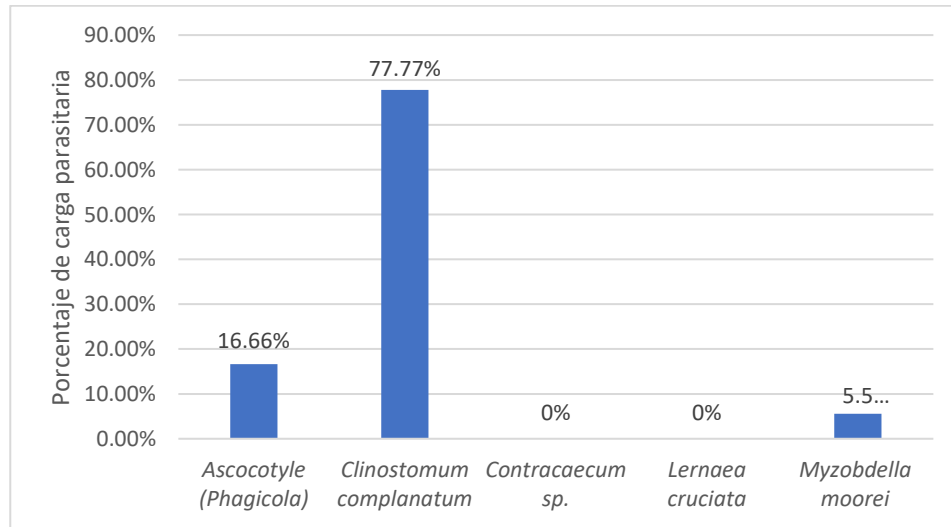
**Gráfica 2.** Frecuencia parasitaria de diversos parásitos en los especímenes infectados.

En cuanto al porcentaje de la carga parasitaria que se presentó en hembras, *Ascocotyle (Phagicola)* se presentó con un 15.32%, *Clinostomum complanatum* se presentó con un 53.84%, *Contraecum sp.* se presentó con un 15.52%, *Lernaea cruciata* se presentó con un 15.32% y *Myzobdella moorei* con un 0% (Gráfica 3).



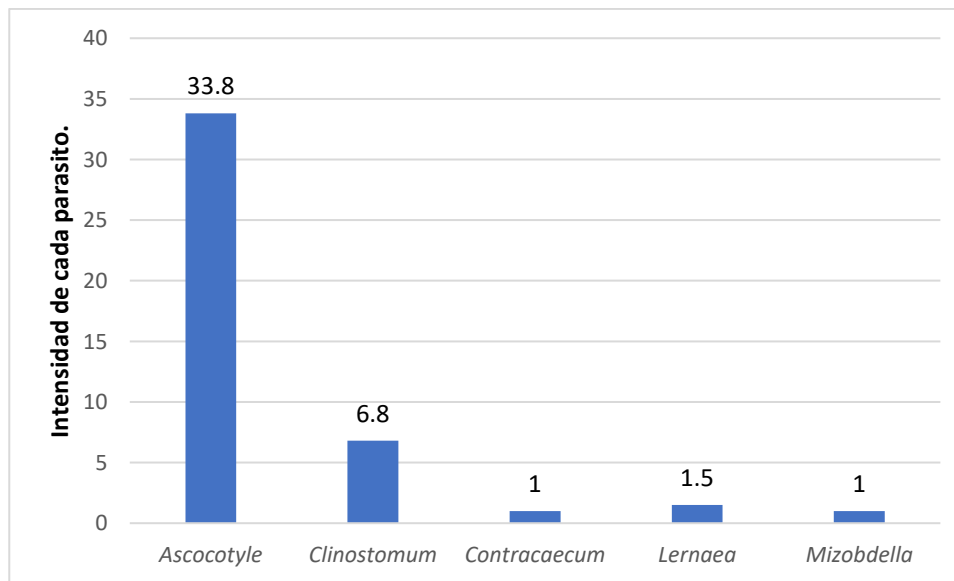
**Gráfica 3.** Porcentaje de carga parasitaria en hembras.

Muestra la frecuencia parasitaria que se presentó en machos, *Ascocotyle (Phagicola)* se presentó con un 16.66%, *Clinostomum complanatum* se presentó con un 77.77%, *Contraecum sp.* y *Lernaea cruciata* se presentaron con un 0% y *Muzobdella moorei* se presentó con un 5.55% (Gráfica 4).



**Gráfica 4.** Porcentaje de carga parasitaria en machos.

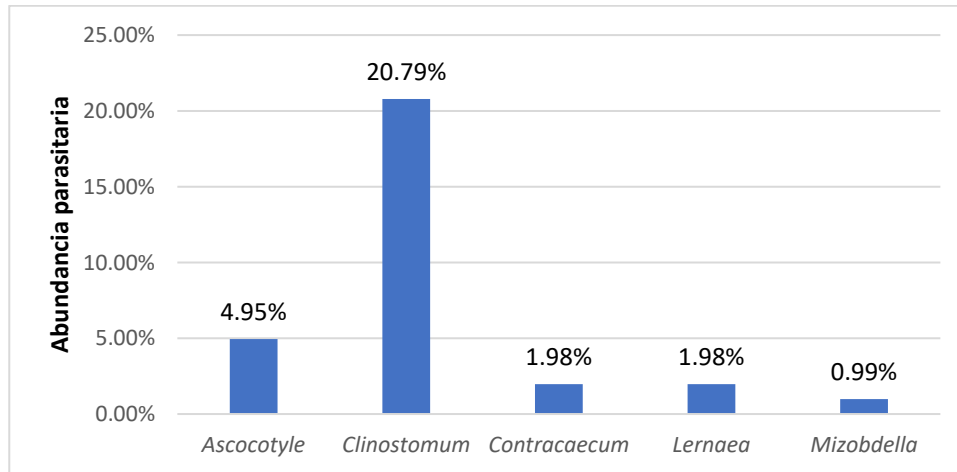
Muestra la intensidad media que presentaron los parásitos, *Ascocotyle (Phagicola)* presenta una intensidad media de 33.8, *Clinostomum complanatum* fue de 6.8, *Contracaecum sp.* fue de 1, *Lernaea cruciata* fue de 1.5 y *Mizobdella moorei* fue de 1 (Gráfica 5). Gutiérrez *et al.*, (2004) obtuvo una prevalencia del 2% y 2.2% y una intensidad de 3 y 4 parásitos por pez infectado, lo cual, al ser comparada con nuestra intensidad, podemos observar que intensidad de las especies de *Ascocotyle (Phagicola)* y *Clinostomum complanatum* fue mayor mientras que la de *Contracaecum sp.*, *Lernaea cruciata* y *Myzobdella moorei* fue menor.



**Gráfica 5.** Intensidad media parasitaria obtenida de los 31 especímenes infectados.

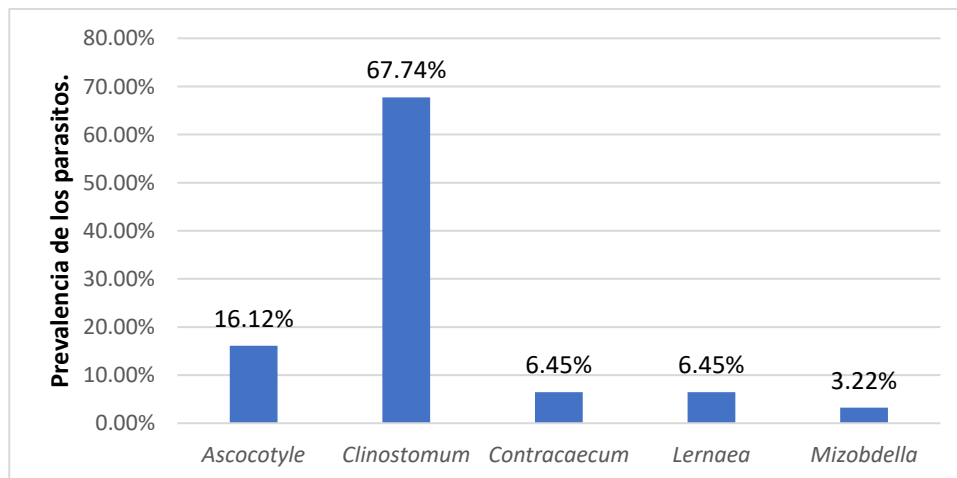
Muestra la abundancia que presentaron los parásitos, *Ascocotyle (Phagicola)* se presentó con una abundancia del 4.95%, *Clinostomum complanatum* con un 20.79% siendo la mayor abundancia reportada, *Contracaecum sp.* presentó un 1.98% al igual que *Lernaea cruciata* y *Myzobdella moorei* se presentó con un 0.99% (Gráfica 6).





**Gráfica 6.** Abundancia parasitaria obtenida de los 31 especímenes infectados.

Muestra la prevalencia de los parásitos en los hospederos, *Ascocotyle* (Phagicola) obtuvo una prevalencia del 16.12%, *Clinostomum complanatum* un 67.75%, *Contracaecum* sp. con un 6.45% al igual que *Lernaea cruciata* y *Myzobdella moorei* con un 3.22% (Gráfica 7).



**Gráfica 7.** Prevalencia de los parásitos obtenida de los 31 especímenes infectados.

Muestra la prueba de chi-cuadrada para determinar si existe una diferencia significativa en la carga parasitaria entre machos y hembras, el resultado fue de 0.553 demostrando que no existe diferencia significativa (Tabla 1).

**Tabla 1.** Chi-cuadrada de la carga parasitaria entre machos y hembras.

<b>Pruebas de chi-cuadrada</b>					
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrada de Pearson	.007 <sup>a</sup>	1	.935		
Corrección de continuidad <sup>b</sup>	.000	1	1.000		
Razón de verosimilitud	.007	1	.935		
Prueba exacta de Fisher				1.000	.553
Asociación lineal por lineal	.007	1	.935		
N de casos válidos	101				

- a. 0 casillas (0.0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 13.81.
- b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

En el estudio se puede observar la ausencia de cestodos, mientras estudios como los realizados por Gutiérrez-Cabrera (2004), Pulido *et al.* (2005), Perez *et al.* (2013) encontró a *Bothriocephalus acheilognathi* como cestodo recurrente en los diversos trabajos.

Los copépodos identificados, *Lernaea cruciata*, y la sanguijuela *Myzobdella moorei*, se localizaron únicamente en hospederos hembra, a falta de resultados no se puede determinar si existe una preferencia de estos 2 ectoparásitos hacia el sexo femenino, por lo que se recomienda realizar más estudios sobre este hospedero.

La infección dada en el sexo separado en 2 grupos conforme al peso de los especímenes, menor o igual a la media y mayor a la media. El grupo de peces cuyo peso es menor o igual a la media, se observó un recuento de 10 hembras infectadas y 13 no infectados. Para los machos, el recuento fue de 13 infectados y 26 no infectados. Para el grupo de peces cuyo peso es mayor a la media 4 fueron de hembras que estaban infectadas y 18 no infectadas, mientras que los machos presentaron 4 infectados y 13 no infectados.

Se usó la prueba de chi-cuadrada para determinar si existe una diferencia significativa en el peso de los hospederos entre el sexo de estos, el resultado fue de 0.45 demostrando que, sí existe una diferencia significativa (Tabla 2). Sin embargo, en los resultados de la prueba de chi-cuadrada se demostró que no existe diferencia significativa en la carga parasitaria entre machos y hembras, por lo cual la diferencia de peso se debe más a ser macho y hembra y no tanto a la carga parasitaria.

**Tabla 2.** Chi-cuadrada de sexo y peso.

<b>Pruebas de chi-cuadrada</b>					
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrada de Pearson	3.615 <sup>a</sup>	1	.057		
Corrección de continuidad <sup>b</sup>	2.875	1	.090		
Razón de verosimilitud	3.619	1	.057		
Prueba exacta de Fisher				.067	.045
Asociación lineal por lineal	3.579	1	.059		
N de casos válidos	101				

a. 0 casillas (0.0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 17.38.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

## CONCLUSIÓN

De la intensidad media calculada se observó que el mayor calculo pertenece al trematodo *Asococtyle* (Phagicola) longa, sin embargo, la abundancia y prevalencia calculados, la mayor cantidad pertenece al trematodo *Clinostomum complanatum*. Además, se observó que no existe diferencia significativa en la carga parasitaria entre machos y hembras, pero si existe una diferencia significativa en el peso de los hospederos entre el sexo de estos, por lo cual la diferencia entre los pesos de los machos y las hembras no se deben a la carga parasitaria si no al sexo de los especímenes.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bush, A.O., K.D. Lafferty, J. M. Lotz, & A. W. Shostak. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *Journal of Parasitology*, 83:575-583.
- Choudhury A., Hartvigsen Daverdin R., Brooks D. (2001). *Wallinia chavarrie* N. sp. (trematoda: Marcoderoididae) in *Astyanax aeneus* (Gunther, 1860) and *Bryconamericus scleroparius* (Regan, 1908) (osteichthyes: characidae) from the area de conservation Guanacaste, Costa Rica. *The journal parasitology*, 88(1):107-112.
- Culver D., & William B. W., (2012). *Encyclopedia of CAVES*. Segunda edición. AP. pp.37.
- De Filippi, F. (1853). "Nouvelles espèces de poissons". *Rev. Mag. Zool*, 5:164-171.
- Esch, G.W. & Fernández, J.C. (1993). *Functional biology of parasitism: Ecological and evolutionary implications*. Editorial Cambridge, Chapman & Hall, pp.33.
- Espinal-Carrion T., & López-López E., (2010). Helminths and lipid peroxidation in *Astyanax aeneus* (Pisces: Characidae) from a river in the humid subtropics of southeastern Mexico, Laboratorio de Ictiología y Limnología, Departamento de Zoología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Dis Aquat Org, 88:215–224.
- FAO. (2011). Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura Ediciones. Disponible en: (<http://www.fao.org/docrep/014/i1750s/i1750s.pdf>).

- Gutiérrez-Cabrera, E. (2004). Presencia de *Bothriocephalus acheliognathi* en la ictiofauna del río Metztitlan y la laguna de Metztitlan Hidalgo, México, Pullido- Flores G., tesis de licenciatura en biología, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Pérez-Ponce de León G., Mendoza-Garfías B., Rosas-Valdez R. & Choudhury A. (2013). New host and locality records of freshwater fish helminth parasites in river basins north of the Transmexican Volcanic Belt: another look at biogeographical patterns, Departamento de Zoología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84: 556-562.
- Pulido-Flores, G., Monks, S., & Gordillo-Martínez., J. A. (2005). Monitoreo de bajo costo en la evaluación de la calidad ambiental. Centro de Investigaciones Químicas. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, *Revista Internacional de Ciencias Ambientales*, 21:578- 583.
- Morales-Mejía, J. (1988). Bionomía y ciclo de vida de la sardina plateada *Astyanax mexicanus* (Filippi, 1853) en la presa Rodrigo Gómez, “La Boca”, Santiago, Nuevo León, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, México. pp.52.
- Mugica-Ruiz, E., Caspeta-Mandujó, J. (2009). Helmintos parásitos de *Astyanax aeneus* del río Cuautla, Centro de Investigaciones Biológicas/Facultad de Ciencias Biológicas. UAEM, 6:57-60.
- Rico-Mora, R. (1984). Contribución al conocimiento de la biología de *Astyanax fasciatus mexicanus* (Filippi) (Pisces: Characinidea) en la presa Zicuiran, La Huacana, Mich. Tesis de licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, México. pp. 53.
- Salgado, M. G. (2009). Manual de prácticas de Parasitología con énfasis en helmintos parásitos de peces de agua dulce y otros silvestres de México. Instituto de Biología UNAM. pp. 9-18.
- Torres, M. M., Barajas, M. L. (2004). Descripción de la cuenca hidrográfica del río San Juan, Presa la Boca, Presa el Cuchillo, Nuevo León. Fondo Mixto CONACyT-Gobierno del Estado de Nuevo León. Disponible en: (<http://www.bioecologia.org/docs/cuenca.pdf>).

## Efecto del aceite esencial de orégano y sus fracciones concentradas en el crecimiento de *Aspergillus brasiliensis* (*niger*)

A.G. Cazares-Rodríguez<sup>1</sup>, J. Rodríguez-Rodríguez<sup>\*\*2</sup>, E. Sánchez-García<sup>3</sup>, J. De Lara-Novella, K. García-Alanís<sup>1</sup>, C. Leos-Rivas<sup>3</sup> y S. Castillo-Hernández<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ciencia de Alimentos; <sup>3</sup> Departamento de Química; Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L. Pedro de Alba S/N, Niños Héros, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. CP 66455. <sup>2</sup> Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. Escuela de Ingeniería y Ciencias. Av. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, Tecnológico C.P. 64849, Monterrey, Nuevo León, México.

\*[sandra.castillohohn@uanl.edu.mx](mailto:sandra.castillohohn@uanl.edu.mx); \*\*[jrr@itesm.mx](mailto:jrr@itesm.mx)

### RESUMEN

La inocuidad de los alimentos es una necesidad crítica a nivel mundial. Algunos hongos deteriorantes como *Aspergillus brasiliensis* (*niger*) producen micotoxinas en las materias primas (granos principalmente) y esto llega al alimento terminado, provocando complicaciones en la salud. La incidencia de brotes en los alimentos obliga a investigar nuevos métodos para la conservación alimentaria, por otro lado, también existe una gran demanda de productos naturales, es por esto, que el uso de aceites esenciales como conservadores naturales cobra especial importancia en la industria alimenticia, ya que éstos son reconocidos como seguros (GRAS) para ser usados en alimentos. Los aceites esenciales de orégano constituyen una alternativa como potenciales agentes antioxidantes y antimicrobianos prolongando la vida útil. El objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos de las fracciones concentradas de orégano sobre el crecimiento de *A. brasiliensis* (*niger*). Se realizaron pruebas de difusión en disco, determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), concentración mínima fungicida (CMF) y evaluación morfológica del hongo a concentraciones menores a la CMF. Los resultados muestran una actividad antimicrobiana con halos de inhibición en rangos de 3.6-5.8 cm. La CMI y CMF mostraron rangos de 6 a 600 ppm, mientras que la evaluación morfológica, evidenció una alta inhibición de la conidiogénesis.

**Palabras claves:** Antifúngica, aceites esenciales, conidiogénesis, fracciones concentradas, sustancias GRAS.

### ABSTRACT

Food safety is a critical need globally. Some spoilage fungi such as *Aspergillus brasiliensis* (*niger*) produce mycotoxins in raw materials (mainly grains) and this reaches the finished food, causing health complications. The incidence of outbreaks in food forces to investigate new methods for food preservation, on the other hand, there is also a great demand for natural products, which is why the use of essential oils as natural preservatives is especially important in the food industry since these compounds are recognized as safe (GRAS) to be used in food. Oregano essential oils are an alternative as potential antioxidant and antimicrobial agents, prolonging shelf life. The objective of the present study was to evaluate the effects of concentrated fractions of oregano on the growth of *A. brasiliensis* (*niger*). Disk diffusion tests, determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) and morphological evaluation of the fungus were carried out at concentrations lower than the MFC. The results show a preliminary activity in ranges of 3.6-5.8cm. The MFC was in ranges of 6 to 600 ppm, while the morphological evaluation showed a high inhibition of conidiogenesis.

**Keywords:** Conidiogénesis, GRAS, essential oils, spoilage fungi, carvacrol, thymol and conidia or spore suspension.

## INTRODUCCIÓN

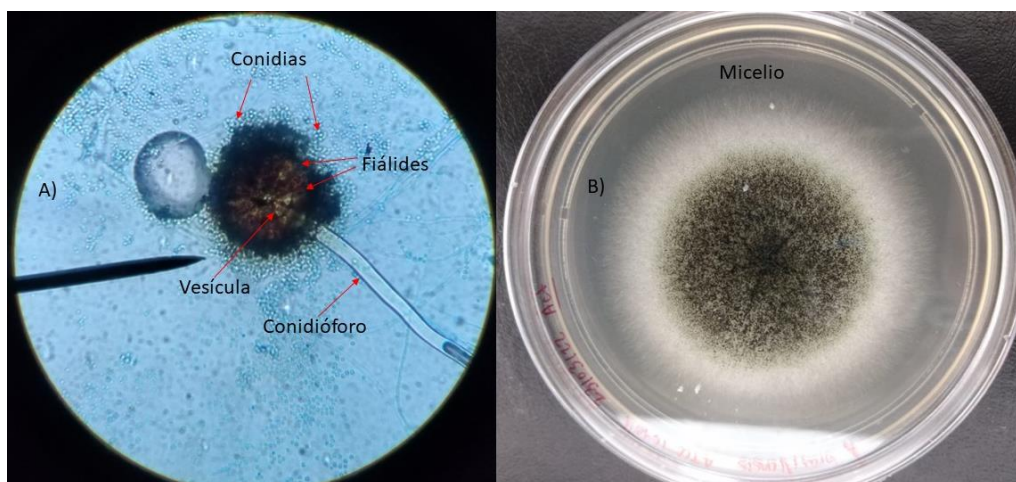
Uno de los principales géneros asociados en la contaminación de alimentos es *Aspergillus* spp., se considera de gran interés científico y de importancia en la salud pública (González, 2009). Para la economía agrícola representa un gran reto debido a que este género fúngico provoca serios problemas durante la producción y almacenamiento de granos, generando así, pérdidas económicas graves, también llegando a ocasionar intoxicaciones de gravedad, debido a la producción de micotoxinas; se ha demostrado que en casos que no son diagnosticados a tiempo pueden causar la muerte o en su defecto cáncer de hígado por acumulación crónica de las mismas (De Menezes *et al.*, 2020).

La especie *A. niger* se conoce como “moho negro” se encuentra distribuido en el medio ambiente, en suelo, en frutas y verduras, pero principalmente en los cereales y granos (Carrillo, 2003). En cuanto a su morfología microscópica (Fig. 1) presenta una cabeza aspergilar de tonos negro a negro grisáceo, negro café, son globosas, radiadas o divididas formando columnas de cadenas de conidios irregulares o bien definidas, así mismo, los conidióforos son de color hialino a café, típicamente lisos, las vesículas son globosas, hialinas o de color café claro a oscuro, los conidios son elípticos, lisos o espinosos, mientras que la morfología macroscópica, el micelio es aéreo, algodonoso o lanoso de color verde negruzco (Vega *et al.*, 2002). La característica más importante es que produce una micotoxina llamada ocratoxina A, esta toxina ha sido estudiada por su capacidad patogénica en humanos, ya que tiene actividad nefrotóxica, inmunotóxica, neurotóxica y cancerígena (Young *et al.*, 2019).

El desarrollo de procesos de conservación de los alimentos surge de la necesidad de extender su vida útil debido a que los microorganismos deteriorantes no solo alteran las propiedades organolépticas, sino que también hacen peligroso su consumo (Gramajo, 2019). Los recientes brotes de enfermedades transmitidas por alimentos han potenciado la búsqueda de nuevas y mejores alternativas para inhibir el crecimiento tanto de hongos como de bacterias en los alimentos (Vignola *et al.*, 2020). Dentro de estas nuevas formas se encuentran los aceites esenciales (AE), los cuales se obtienen de diferentes partes de la planta como metabolitos secundarios mediante procesos distintos ya sea por pulverización, destilación, arrastre en corriente de vapor o el uso de disolventes orgánicos, además se encuentran conformados por compuestos orgánicos volátiles y según las propiedades de cada aceite la susceptibilidad de los microorganismos variará (Rueda *et al.*, 2018).

Se considera que el aceite esencial de orégano es uno de los antisépticos naturales altamente efectivos, además, su uso no potencia mutaciones que dan lugar a cepas resistentes. Entre los compuestos fenólicos que componen parte del aceite de orégano y que le otorgan sus propiedades se encuentran el carvacrol y el timol (Evangelista *et al.*, 2018). El carvacrol es el responsable del olor, así como de evitar la proliferación de bacterias, mientras que el timol actúa como desinfectante y fungicida. La composición del aceite puede variar dependiendo de diversos factores como tipo de cultivo, época del año del cultivo, tipo de suelo, además del tipo de orégano en cuestión (Rostro-Alanís *et al.*, 2019). Existen diversas especies de orégano originarios de diversos lugares como Asia o Europa. El orégano mexicano *Poliomintha longiflora*, es una de las especies más importantes en nuestro país. A pesar de existir algunos estudios sobre la actividad antifúngica del orégano, existen muy pocos sobre el orégano mexicano fraccionado. Por lo anterior, esta investigación tiene como objetivo evaluar el

efecto del aceite esencial de *Poliomintha longiflora* y sus fracciones concentradas sobre el crecimiento de *A. brasiliensis (niger)* y de esta forma, aportar datos para determinar la interacción de los compuestos presentes sobre la actividad antifúngica.



**Figura 1.** A) Morfología típica microscópica de *A. brasiliensis (niger)* 40x con la técnica de la cintilla en tinción de azul de lactofenol. B) Morfología macroscópica de 5 días de incubación en PDA a 27°C (Fotografías originales obtenidas en el laboratorio de alimentos funcionales).

## Materiales y métodos.

### Aceites esenciales (AE).

El aceite esencial de orégano y las fracciones concentradas fueron obtenidas mediante tecnología de arrastre de vapor, y fueron proporcionados por la empresa Or-Lag. La solución madre de AE fue preparada con Dimetil sulfóxido (DMSO, 60/40 v/v respectivamente) para solubilizarlo. Para los ensayos se utilizó el aceite esencial de orégano puro (AEP) como punto de comparación con las fracciones obtenidas F1, II, III, IV, FR (fracción residual).

### Cepa fúngica, inóculo y condiciones de cultivo.

La cepa fúngica que se utilizó en este estudio fue *Aspergillus brasiliensis (niger)* ATCC 16404 que fue obtenida de la colección American Type Culture Collection (ATCC). La cepa fue conservada a 27°C en medio Agar Papa Dextrosa (PDA). Para su activación se sembró por picadura central en placas Petri conteniendo agar PDA incubándose durante 5 días (para su esporulación) a la temperatura arriba mencionada. Posteriormente las conidias fúngicas fueron extraídas con un asa y suspendidas en solución salina conteniendo 0.05% de tween 80 (v/v). Finalmente, las conidias fúngicas se contabilizaron en una cámara de Newbauer y fueron ajustadas a una concentración de  $3 \times 10^6$  conidias/mL para posteriores análisis (Torres-Alvarez *et al.*, 2020).

### **Prueba de difusión en disco.**

La prueba de difusión en disco se realizó de acuerdo con Torres-Alvarez *et al.*, 2020, utilizando placas petri conteniendo agar PDA estéril. Primeramente, se inoculó la placa petri con 100µL de las conidias suspendidas y ajustadas a  $3 \times 10^6$  conidias/mL. Posteriormente se colocó en el centro de la placa papel filtro estéril impregnado con la fracción de AE de orégano. Las placas se incubaron durante 5-7 días a 27°C y se midieron los halos de inhibición en centímetros (cm).

### **Concentración mínima inhibitoria (CMI) y fungicida (CMF).**

El ensayo de CMI y CMF, se realizó en placas de 96 pozos de acuerdo con la metodología reportada por Rosas-Taraco *et al.* (2011) con algunas modificaciones. Se colocaron 270 µL de caldo PDA en cada pozo previamente inoculado al 1% (v/v) con las conidias previamente ajustadas a  $3 \times 10^6$ . Posteriormente se colocaron 30 µL del aceite esencial diluido en DMSO (60/40 v/v). Se realizaron diluciones seriadas para obtener concentraciones que variaron desde 6 hasta 0.000006% (60,000-0.06 ppm). Las placas de 96 pozos se incubaron a 27°C/5 días. Para confirmar la ausencia de crecimiento, se sembró una alícuota de cada pozo mediante la técnica de goteo reportada por Miles and Misra y se incubó de la misma manera antes mencionada. Como control se utilizó caldo con DMSO sin adición del orégano. La CMI se consideró como aquella concentración menor que causara un daño visible en la morfología macroscópica y microscópica del hongo, mientras que la CMF aquella que inhibiera completamente el crecimiento fúngico. Los resultados derivados de estos análisis se reportan de forma preliminar, ya que en estos momentos nos encontramos acortando rangos de concentraciones puntuales para obtener las desviaciones estándar y diferencias significativas. Es por ello, que los resultados obtenidos no presentan desviaciones estándar.

### **Morfología Macroscópica y Microscópica.**

Para la determinación de la morfología macroscópica, se consideraron cambios en la coloración del hongo, mientras que para la microscópica se observó mediante una tinción de azul de lactofenol observándose en un microscopio Leica a una amplitud de 40x. Como control se utilizó la morfología macroscópica y microscópica del hongo sin ningún tratamiento, incubado en agar PDA durante 5 días a 27°C (Figura 1).

### **Análisis estadístico.**

Los datos se sometieron a un análisis de varianza utilizando el paquete estadístico SPSS Statistics 22, con un nivel de confianza del 95% y un test post-hoc de Tukey.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Actividad antifúngica.**

Las pruebas preliminares de difusión en disco indicaron que las fracciones III, IV y FR, presentaron actividad antifúngica, siendo la FIV aquella significativamente mayor ( $58 \pm 0.0$  mm) comparada con el AEP ( $54.5 \pm 0.15$ ) (Tabla I). La FIII y FR presentaron actividad significativamente menor comparadas con el AEP y FIV (Tabla I).



**Tabla I.** Diámetros de inhibición obtenidos como resultado de la actividad antifúngica del AE de orégano y sus fracciones concentradas.

Fracción	Identificación	Inhibición en (mm)
Aceite de orégano puro	AEP	54.5±0.15 <sup>a</sup>
Fracción 1	FI	NI
Fracción 2	FII	NI
Fracción 3	FIII	36.5±1.35 <sup>c</sup>
Fracción 4	FIV	58±0.0 <sup>b</sup>
Fracción residual	FR	42.5±0.75 <sup>c</sup>

De acuerdo con (Borrego *et al.*, 2012) para considerar que los AEs presentan actividad antifúngica el diámetro de los halos de inhibición deben ser superiores a 11 mm. En el caso de las fracciones III, IV y FR, los diámetros se encuentran por encima de esta medida, por lo que se consideraron para análisis posteriores, de CMI y CMF.

Los resultados preliminares de la CMI y CMF reportados en ppm se encuentran en la Tabla II. La CMI definida como la concentración mínima que causó cambios macroscópicos en coloración, y reducción del crecimiento estuvo en rangos de 60-6 ppm, mientras que la CMF definida como aquella concentración que inhibió por completo el crecimiento, varió en rangos de 600-60 ppm. De acuerdo con los resultados preliminares observados, la FIV y FR mantienen la misma actividad que el AEP, mientras que la FIII es menor. De acuerdo a Torres-Alvarez *et al.*, (2020), la actividad antifúngica puede estar influenciada por los compuestos presentes en cada fracción, los cuales pueden interactuar sinérgicamente. Al fraccionar el AEP se producen cambios en la composición de cada fracción obtenida y esto puede influir en su actividad antifúngica. Rostro-Alanís *et al.* (2019) reportan diferencias importantes en el contenido de compuestos al fraccionar aceite esencial de orégano, en donde las principales diferencias es la variación en los compuestos mayoritarios de cada fracción, así mismo de los monoterpenos oxigenados. Estos hallazgos reportados previamente podrían estar relacionados con la variabilidad en los efectos antifúngicos reportados en este estudio.

**Tabla II.** Resultados preliminares de la concentración fúngica inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Fungicida (CMF).

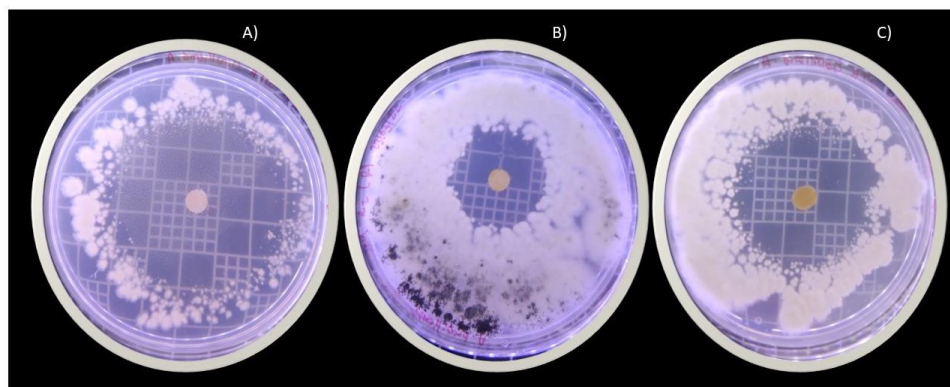
Fracción	CMI (ppm)	CMF (ppm)
AEP	6	60
FI	ND	ND
FII	ND	ND
FIII	60	600
FIV	6	60
FR	6	60

Los resultados son preliminares, por lo que no se reportan desviaciones estándar.

ND: No determinado

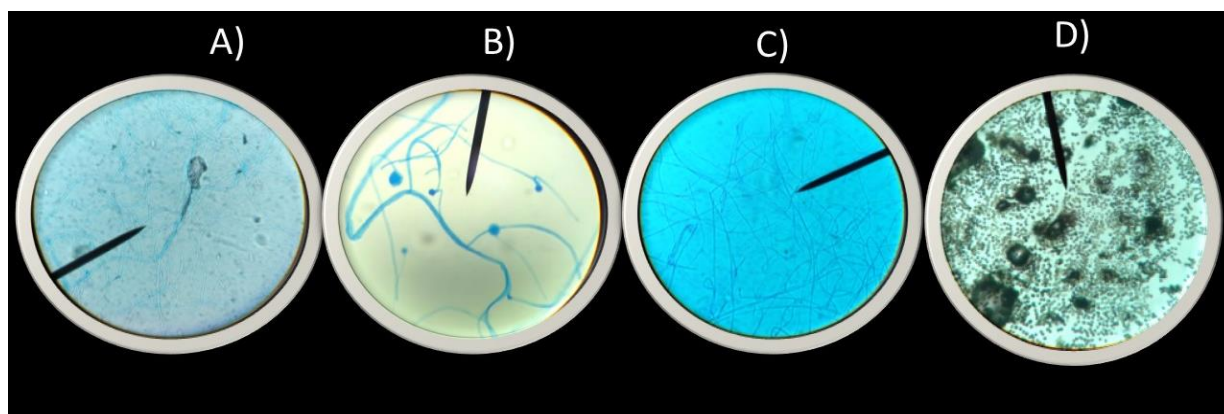
**Efectos en la morfología macroscópica y microscópica.**

Tomando como base la morfología original y típica de *Aspergillus brasiliensis* (*niger*) sin adición de AEs (Fig. 1), uno de los cambios macroscópicos más importantes, fue un crecimiento pobre no homogéneo además de la ausencia de la coloración típica del hongo alrededor de los halos de inhibición en la prueba de difusión en disco (Fig. 2), así como en la CMI. Esto podría indicar una inhibición de la conidiogénesis. Al realizar el análisis microscópico se comprobó este hallazgo (Fig. 3). Resulta de interés dicha inhibición porque la germinación de los conidios es la manera más común de reproducción, pues a través de este mecanismo los hongos son capaces de colonizar otras partes del sustrato dañado ya que los conidios son esparcidos por el aire con mayor facilidad y pueden viajar de esta forma largas distancias (Cepero de García, 2012). Esto podría indicar que los compuestos volátiles tienen un efecto importante sobre el hongo, que, a pesar de presentar crecimiento macroscópico, no tiene la capacidad de producir conidias.



**Figura 2.** Halos de inhibición obtenidos de la prueba de difusión en disco. A) FIV, B) FR, C) AEP. Nótese la morfología macroscópica: ausencia de coloración, crecimiento pobre y no-homogéneo.

Se ha reportado que el carvacrol y el timol, podrían interferir en alguna etapa del ciclo replicativo del hongo (Ramos & Rojas, 2020). Sin embargo, podría existir una sinergia en los compuestos presentes en cada fracción aquí estudiada, las cuales serán analizadas próximamente para confirmar esta teoría.



**Figura 3.** Morfología microscópica analizada mediante tinción de lactofenol con la técnica de cintilla. Los resultados presentados corresponden al quintodía de incubación en PDA a 27°C. A) FIV, B) FR, C) AEP D) Control (sin tratamiento). Nótese la ausencia total de conidias, fiálides y vesícula en A) y C), mientras que en B) se observan muy pocas vesículas sin conidias. Por otra parte, obsérvese en D) conidias, conidióforos, vesículas y fiálides.

### CONCLUSIÓN

El AEP y las FIV, FR de *Poliomintha longiflora* inhiben el desarrollo de *A. brasiliensis (niger)*, afectando el ciclo de reproducción de dicho organismo. El grado de inhibición varió de acuerdo con el tipo de fracción, siendo la FIV la que presentó mayor actividad antifúngica, por lo que futuros estudios serán llevados a cabo para la identificación de los compuestos presentes en dichas fracciones.

### BIBLIOGRAFÍA

- Borrego, S. (2012). *Factores externos del deterioro en el patrimonio documental*. Editorial Académica Española, España.
- Carrillo, L. (2003). Los hongos de los alimentos y forrajes. Universidad Nacional de Salta, Argentina, 118, 20.
- Cepero de García, M. C. (2012). *Biología de hongos*. Ediciones Uniandes-Universidad de los Andes.
- Evangelista-Martínez, Z., Reyes-Vázquez, N., & Rodríguez-Buenfil, I. (2018). Evaluación antimicrobiana de aceites esenciales de plantas contra microorganismos patógenos: Estudio in vitro del aceite de orégano combinado con conservadores alimenticios convencionales. *Acta universitaria*, 28(4), 10-18.
- De Menezes Filho, A. C. P., de Sousa, W. C., de Oliveira Filho, J. G., & de Souza Castro, C. F. (2020). Efecto antifúngico por el aceite esencial de las hojas y tallos de *Schinus molle* sobre las cepas de *Aspergillus* sp. *Revista Cubana de Farmacia*, 53(3), 1-14.
- González Salgado, A. (2009). Diagnóstico y control de especies de " *Aspergillus*" productoras de ocratoxina A.
- Gramajo, M. G. P. (2019). Aplicación de los métodos de conservación de alimentos. *Revista Ingeniería y Ciencia*, 1(15).
- Ramos-Velasquez, D. A., & Rojas-Bustamante, L. (2020). Revisión sistemática: actividad antifúngica de los aceites esenciales sobre fitopatógenos.
- Rosas-Taraco, A., Sánchez, E., García, S., Heredia, N., & Bhatnagar, D. (2011). Extracts of *Agave americana* inhibit aflatoxin production in *Aspergillus parasiticus*. *World Mycotoxin Journal*, 4(1), 37-42.

- Rostro-Alanis, M. D. J., Báez-González, J., Torres-Alvarez, C., Parra-Saldívar, R., Rodríguez-Rodríguez, J., & Castillo, S. (2019). Chemical composition and biological activities of oregano essential oil and its fractions obtained by vacuum distillation. *Molecules*, 24(10), 1904.
- Rueda-Puente, E. O., Juvera-Bracamontes, J. J., Romo-López, I. G., & Holguín-Peña, R. J. (2018). Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales de orégano y tomillo contra *Ralstonia solanacearum*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9 (SPE20), 4251-4261.
- Torres-Alvarez, C., Castillo, S., Sánchez-García, E., Aguilera-González, C., Galindo-Rodríguez, S. A., Gabaldón-Hernández, J. A., & Báez-González, J. G. (2020). Inclusion complexes of concentrated orange oils and  $\beta$ -cyclodextrin: Physicochemical and biological characterizations. *Molecules*, 25(21), 5109.
- Vega, A. S., Valdés, L. F., & Rendón, A. C. (2002). Caracterización de una cepa nativa de *Aspergillus niger* y evaluación de la producción de ácido cítrico. *Revista Universidad EAFIT*, 38(128), 33-42.
- Vignola, M. B., Serra, M. A., & Andreatta, A. E. (2020). Actividad antimicrobiana de diversos aceites esenciales en bacterias benéficas, patógenas y alterantes de alimentos. *Revista Tecnología y Ciencia*, (37), 92-100.
- Young, G. D., Rodríguez, F. J., & Piedra, J. M. S. (2019). Ocratoxina A en café. *Revista Ciencia y Salud Integrando Conocimientos*, 3(3), ág-21.

## Desarrollo de un recubrimiento comestible a base de quinoa y quitosano reforzado con aceites esenciales de hierba limón y canela encapsulados en partículas de sílice mesoporosa

P.I. Bautista-Espinoza\*<sup>1</sup>, P. Di Pierro<sup>2</sup>, S.L. Amaya-Llano<sup>1</sup>, E. Mares-Mares<sup>3</sup>, B.E. García-Almendarez<sup>1</sup>, G. De la Cruz-Velázquez<sup>4</sup> y C. Regalado-González<sup>1</sup>

**1** Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n C.P. 76010, Santiago de Querétaro, Querétaro, México. **2** Università degli Studi di Napoli Federico II, Corso Umberto I, 40, 80138, Naples, Italy. **3** Tecnológico Nacional de México, Carretera Guanajuato-Puentecillas km 10.5, C.P 36242, Guanajuato, Guanajuato, México. **4** Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Unidad Querétaro, Cerro Blanco 141, Colinas del Cimatario, C.P. 76090, Santiago de Querétaro, Querétaro, México. \*[pbautista06@alumnos.uaq.mx](mailto:pbautista06@alumnos.uaq.mx).

### RESUMEN

La contaminación por hongos es común en la industria de la panificación y para prevenirla se han usado aditivos alimentarios, los cuales se ha cuestionado recientemente. Los agentes antifúngicos naturales podrían ser una alternativa para evitar el deterioro en el pan, cuando se aplican como parte de un recubrimiento para extender su vida de anaquel. El objetivo del presente trabajo fue diseñar y caracterizar un recubrimiento comestible a base de quitosano (QT), proteína de quinoa (QU) y mezcla de aceites esenciales de canela (CA) y hierba limón (HL) para evaluar su actividad en pan artesanal. Se usó un diseño factorial 2<sup>2</sup> usando la relación QT:QU (1:4 y 1:9 w/w) y los aceites esenciales (1:1 y 1:2 HL:CA v/v). Se determinaron las propiedades fisicoquímicas, mecánicas, estructurales y antifúngicas de los recubrimientos. El tratamiento con relación 1:4 (QT:QU) inhibió al 63% el crecimiento de *Rhizopus stolonifer*, con tamaño de partícula de 2.81±0.13 µm, índice de polidispersión de 0.77±1.4 y potencial ζ de 26.4±1.3 mV. Los tratamientos 1:4 y 1:9 (QT:QU) demostraron propiedades mecánicas similares, aunque el recubrimiento 1:4 demostró tener una estructura más homogénea. Se espera que el recubrimiento comestible diseñado otorgue un impacto positivo en la vida de anaquel del producto.

**Palabras clave:** Recubrimientos comestibles, canela, hierba limón, aceite esencial, quinoa, sílice mesoporosa.

### ABSTRACT

Fungi spoilage is common problem in the bakery industry, which may be prevented by using food additives, but their use has been questioned. Natural antifungal agents could be an alternative to avoid spoilage in bread, when applied as coating to extended its shelf life. The aim of this work was to design and characterize an edible coating based on chitosan (QT), quinoa protein (QU) and a mixture of cinnamon (CA) and lemongrass (HL) essential oils to evaluate its performance on sourdough bread. A 2<sup>2</sup> factorial design using QT:QU ratios of (1:4 and 1:9 w/w) and steam distilled essential oils (1:1 and 1:2 HL:CA, v/v). The physicochemical, mechanical, structural and antifungal properties of the films were evaluated. The treatment at 1:4 ratio (QT:QU) inhibited 63% of the radial growth of *Rhizopus stolonifer*, showed small particle size 2.81±0.13 µm, polydispersity index 0.77±1.4, and ζ potential of 26.4±1.3 mV. Treatments showed similar mechanical properties, the film using 1:4 weight ratio showed more homogeneous structure. It is expected that the designed edible coating provides a positive impact in the product's shelf life.

**Keywords:** Edible coating, cinnamon, lemongrass, essential oil, quinoa, mesoporous silica.

## INTRODUCCIÓN

El pan es un alimento de vital importancia a nivel mundial, consumido en la dieta de millones de personas, por lo cual se ha convertido en una fuente significativa de ingresos, siendo la industria de la panificación una de las más prolíferas (Vargas y Simsek, 2021). No obstante, puede sufrir deterioro principalmente por hongos de las familias *Rhizopus*, *Penicillium* y *Aspergillus* (García y Copetti, 2019), conduciendo a importante desperdicio. Para combatir el desperdicio, se utilizaron durante mucho tiempo conservantes como las sales benzoicas y propiónicas. Sin embargo, las nuevas tendencias de los consumidores apuntan a consumir alimentos cada vez con menos sustancias químicas sintéticas, por lo cual la industria ha iniciado estudios orientados al diseño de matrices de origen natural con propiedades antifúngicas y antimicrobianas para su aplicación en la protección de los alimentos. Los recubrimientos (RC) y películas comestibles (PC) se han presentado como una de las mejores alternativas para la protección de alimentos. Se trata de matrices delgadas, compuestas por polímeros, lípidos o carbohidratos (Galus *et al.*, 2020), las cuales, además de ofrecer protección como barrera a vapor de agua y gases, pueden actuar como vehículo de sustancias antimicrobianas o antifúngicas (Díaz-Montes y Castro-Muñoz, 2021). La principal diferencia entre un RC y una PC es que el primero se aplicará directamente en el alimento, mientras que la segunda es una matriz preformada.

El quitosano es un biopolímero producido por la desacetilación de la quitina, conformado por unidades de  $\beta$ -(1-4)-2-acetamido-D-glucosa y  $\beta$ -(1-4)-2-amino-D-glucosa. Es uno de los biopolímeros más utilizados en la formación de PC y RC, ya que además de otorgar una permeabilidad selectiva a gases ( $\text{CO}_2$  y  $\text{O}_2$ ), tiene buenas propiedades mecánicas y antimicrobianas (Adiletta *et al.*, 2021). No obstante, los RC resultantes de este biopolímero son altamente permeables al agua. La quinoa (*Chenopodium quinoa*) es una semilla nativa de Sudamérica, valorada especialmente por su amplio contenido de proteína y buen balance de aminoácidos. Diversos estudios han demostrado que las PC obtenidas de proteína de quinoa y quitosano demuestran un incremento en las propiedades mecánicas de los mismos.

Los aceites esenciales son un conjunto de sustancias volátiles provenientes de las plantas o semillas, generalmente compuestos de terpenos y compuestos fenólicos. La hierba limón (*Cymbopogon citratus*), también conocida como té, hierba o zacate de limón, es una planta perteneciente a la familia de las *Poaceae*. Su aceite esencial está principalmente compuesto por dos terpenos, geranial y neral (Balti *et al.*, 2018). Se ha intentado explicar las propiedades antifúngicas debido a la capacidad de estos terpenos de atravesar la membrana mitocondrial y provocar alteraciones en el interior de las células (Sattary *et al.*, 2020). Por otro lado, la canela (*Cinnamomum verum*) una especia perteneciente de la familia de las *Lauraceae*, del género *Cinnamomum*, presenta un potencial antimicrobiano y antiinflamatorio.

Las partículas de sílice mesoporosa están formadas por dióxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ), con un tamaño nanométrico, que contienen una estructura porosa, la cual les sirve para almacenar y liberar sustancias. En las PC, estos compuestos se agregan como vehículos acarreadores de sustancias y para reforzar la red polimérica (Cui *et al.*, 2021). El objetivo del presente trabajo fue diseñar una película comestible a base de quitosano y proteína de quinoa, reforzada con partículas de sílice mesoporosa y aceites esenciales de hierba limón y canela para evaluar su aplicación en un pan.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales

#### Material biológico

*Rhizopus nigricans* (ATCC 6227b); la canela (*Cinnamomum zeylanicum*) (país de origen Sri Lanka) y la hierba limón (*Cymbopogon citratus*) (país de origen México) fueron obtenidas de la Central de Abastos de Irapuato, Guanajuato.

#### Medios de cultivo

Agar bacteriológico, peptona bacteriológica, rosa bengala y caldo papa-dextrosa (CPD) (Bioxon, CDMX, México). El sulfato magnésico, fosfato de potasio, dextrosa, aminopropiltriectoxisilano, hidróxido de sodio, cloranfenicol y tetraetil ortosilicato se obtuvieron de Sigma (St- Louis, MO, EE.UU.). El sulfato de sodio anhidro se adquirió de Hach Company (Loveland, CO, EE.UU.). El bromuro de cetil trimetil amonio (CTAB) se obtuvo de Illinois Tool Works (IL, EE.UU.). El etanol absoluto se obtuvo de J.T. Baker (CDMX, México).

### Métodos

#### Extracción del aceite esencial de hierba limón

El aceite esencial de hierba limón (AEL) se obtuvo por medio de destilación agua vapor utilizando un hidrodestilador UAQ-001 (Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México). Se usaron 300 g del material fresco en 5 L de agua destilada en un tiempo de 2 h. La capa oleosa del destilado obtenido se secó con sulfato de sodio anhidro. El AEL se esterilizó por filtración usando una unidad Swinnex con membrana de polifluoruro de vinilideno (PVDF) de tamaño de poro de 0.45  $\mu\text{m}$  (Millipore, Burlington, MA, EUA) y se almacenó en viales protegidos de la luz a 4 °C, para su posterior uso (Hernández-Hernández *et al.*, 2014). Para la extracción del aceite esencial de canela primero se sometió a un pretratamiento con un procesador ultrasónico VCX 500 (Sonics Materials, Newtown, CT, USA). Los parámetros del proceso fueron: 100 g de materia prima/L de agua destilada, 70% de amplitud, pulsos de 27:33 s (encendido:apagado) por 10 min. El agua usada en este proceso se usó para la posterior extracción del AE, con 300 g del material sonicado en 5 L de agua destilada, en un tiempo de 3 h, mediante un hidrodestilador (UAQ-001). La capa oleosa del destilado obtenido se secó con sulfato de sodio anhidro. El AEL se esterilizó por filtración usando la unidad Swinnex con membrana de polifluoruro de vinilideno (PVDF) de tamaño de poro de 0.45  $\mu\text{m}$  (Millipore), y se almacenó en viales protegidos de la luz a 4 °C.

#### Síntesis de partículas de sílice mesoporosa (SMP)

Se preparó una solución de 240 mL de agua destilada y 1.75 mL de NaOH 2 N y 0.5 g de CTAB como el agente generador de poros, para dispersar mediante un baño ultrasónico (Baño ultrasónico 8892, VelaQuin, CDMX, México) a temperatura ambiente, durante 5 min. La suspensión se calentó a 80°C en agitación constante (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) y después se adicionaron 2.5 mL de tetraetil ortosilicato (TeOS) gota a gota por medio de un embudo de separación durante 5 min, después se dejó en agitación continua durante 2 h. El resultante sólido se separó por medio de filtración y se lavó con etanol absoluto, dos veces, después se secó a temperatura ambiente. El polvo resultante se calcinó en una mufla (Thermolyne, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA,

USA) a 500 °C durante 5 h. Para la funcionalización de las partículas, 5.85 mL de 3-aminopropiltrietoxisilano (APTES) se añadieron a 6 mL de etanol absoluto (ETOH). A la solución se le agregaron 0.5 g de partículas y se dejó en agitación toda la noche. La solución después fue filtrada dos veces con etanol absoluto y las partículas recolectadas y secadas a temperatura ambiente (Fernandez-Bats *et al.*, 2018). Una vez sintetizadas y cargadas con aceite, las partículas fueron llevadas a análisis por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM).

### **Incorporación de los aceites esenciales a las partículas de sílice mesoporosa (NSM)**

Se agregó una relación 1:1 (p/p) de partículas de sílice mesoporosa (NSM): AEC o NSM:AEL, según correspondiera. Se les agregaron 5 mL de EtOH y se dejaron en agitación en campana de flujo laminar por 12 h. Una vez pasado este tiempo, se recolectaron las partículas y se resguardaron a temperatura ambiente en frascos cerrados hasta su posterior uso (Fernandez-Bats *et al.*, 2018).

### **Obtención del extracto proteico de la harina de quinoa**

Se trituraron las semillas de quinoa con un molino de café Krups (CDMX, México), se colocaron en agua destilada (proporción 1:1 QU-Agua). La suspensión se ajustó a pH 11 en agitación durante una h para solubilizar las proteínas. Se llevó a centrifugación a 3200 rpm durante 20 min a 4°C en una centrífuga Avanti (Beckman, IN, USA). Se recuperó el sobrenadante y se ajustó a pH 4.5 para precipitar la proteína, dejándose en agitación por 30 min, para centrifugar nuevamente (3200 rpm, 20 min, 4°C). Se recuperó la pastilla y se colocó en un horno (Binder, Herrenberg, Alemania) a 50°C para su secado. Se obtuvieron los parámetros de proteína total, humedad y cenizas (AOAC, 1984).

### **Diseño experimental para la elaboración de la solución filmogénica**

Se aplicó un diseño factorial completo 2<sup>2</sup> con tres réplicas y tratamientos aleatorios. Los factores a evaluar fueron la relación QU:QT y de AEC:AEL. Cada factor se evaluó en dos niveles, proporción de QU:QT de 1:4 y 1:9 (p/p) y el efecto de las mezclas de AEL:AEC (1:1 y 2:1 v/v) (tabla 1) (Quiroz, 2021).

**Tabla 1.** Factores y niveles de la solución filmogénica.

Factor	Niveles	
Proteína de quinoa: quitosano	4:1	9:1
Aceite esencial de canela: aceite esencial de hierba limón	1:1	2:1

### **Preparación de las soluciones filmogénicas**

Las soluciones filmogénicas se realizaron en una proporción 4:1 y 9:1 QU:Qt respectivamente. La solución de QT se preparó al 1%, añadiendo ácido láctico al 0.5% (v/v) y agua destilada. La solución de QU se preparó con agua destilada, ajustando el pH a 11 durante una hora en agitación constante. Se incorporó el quitosano y se ajustó el pH a 4, dejando la solución en agitación por 30 min. Posteriormente se les añadió la emulsión de aceites esenciales o las partículas de sílice mesoporosa cargadas según fuera el tratamiento y se sellaron con glicerol como plastificante. Todas las soluciones fueron homogeneizadas durante 2 min a 9500 rpm y 1 min a 6500 rpm en un homogeneizador de alta velocidad IKA T25-ULTRA-TURRAX (Wilmington, DW, EE.UU.). Después de la homogenización,



se redujo el tamaño de partícula por medio de un sonicador de alta intensidad Sonics (CN, USA), con una sonda de 3 mm de diámetro Vibra-Cell VCX 500 (Newtown, CT, USA). Se sonicó durante dos periodos de 1.5 min a una amplitud de 70%, utilizando un baño de hielo para evitar el aumento de la temperatura. Para finalizar, se utilizó el método de vertido (casting) de las soluciones filmogénicas para la formación de las películas comestibles (Quiroz, 2021), en placas Petri y se secaron 12 h a 30°C.

### **Determinación de las propiedades de los recubrimientos**

#### **Espesor**

El espesor se midió con un micrómetro digital Mitutoyo (Kanagawa, Japón). Se realizaron 10 mediciones de manera aleatoria en cada película, se calculó el promedio de las mediciones para calcular el espesor de las películas (Giosafatto *et al.*, 2014).

#### **Solubilidad**

Las películas comestibles se llevaron a peso constante secando a 60°C por 24 h, luego se pesaron y se colocaron en tubos Falcon junto con 50 mL de agua destilada. Se colocaron en una incubadora con agitador orbital a 25°C durante 24 h. Después, fueron filtradas con papel filtro, secadas a 60°C por 24 h (Vahedikia *et al.*, 2019). La solubilidad fue calculada de la siguiente manera (ec 1):

$$\text{Solubilidad \%} = \frac{(\text{Peso seco inicial de la PC} - \text{Peso seco final de la PC})}{\text{Peso seco inicial de la PC}} \times 100 \quad (1)$$

#### **Potencial $\zeta$ , tamaño de partícula e índice de polidispersión**

El tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial  $\zeta$  de las soluciones filmogénicas fueron medidas con un Zetasizer Nano ZS (ZEN 3600 Malvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido). Cada medición se realizó por triplicado en cada muestra (1 mL por muestra). Todas las mediciones se realizaron por triplicado, aplicando un voltaje de 200 mV. El potencial  $\zeta$  se calculó utilizando la ecuación de Henry y Smoluchowski (Duca *et al.*, 2019).

#### **Color y opacidad**

Se usó un colorímetro portátil NR60CP (Shenzen, China). Los parámetros evaluados fueron la luminosidad ( $L^*$  blanco a negro), el espectro verde a rojo ( $a^*$ ) y el espectro amarillo a azul ( $b^*$ ). El equipo fue calibrado en fondo negro y blanco y se tomaron como mediciones 10 puntos de cada película (Quiroz, 2021). Para calcular el valor de opacidad, se hicieron mediciones del parámetro  $L^*$  en fondo negro y blanco. El valor de opacidad se calculó según la ec. (2) (Cecchini *et al.*, 2017):

$$\text{Opacidad} = \frac{L^*(\text{Fondo negro})}{L^*(\text{fondo blanco})} \times 100 \quad (2)$$

#### **Microscopía electrónica de barrido (SEM) de las PC**

Las películas fueron cubiertas con una capa fina de oro y se analizaron en un microscopio electrónico de barrido EVO-50 (Carl Zeiss UltraPlus, Alemania) para analizar su microestructura superficial (Arredondo *et al.*, 2016). Se tomaron microfotografías de diferentes secciones a 10,000, 5,000 y 2,500 aumentos.

### Actividad antifúngica de las películas contra *Rhizopus stolonifer*

Se determinó la actividad antifúngica de las películas comestibles por medio del cálculo del índice de inhibición antifúngica (Olicón-Hernández *et al.*, 2019). Se creció *Rhizopus stolonifer* en placas de agar PDA por 72 h. Después de este tiempo, círculos de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> de diámetro fueron cortadas de la placa con el hongo ya esporulado. Se colocaron las películas sobre nuevas placas de agar y se inocularon con los círculos de agar en el centro de la película. El índice antifúngico se calculó usando la ec. (3):

$$\text{Índice Antifúngico (\%)} = \left(1 - \frac{Da}{Db}\right) \times 100 \quad (3)$$

### Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua de las películas se determinó siguiendo el método estándar ASTM E96-00 conocido como el método de la copa. Las muestras fueron cortadas en forma circular con un diámetro de 41 mm. Para realizar el análisis, se llenó parcialmente con agua destilada la celda de permeabilidad, se colocó la muestra circular y la celda fue sellada utilizando su tapadera horadada colocando la película entre empaques de silicón. El área total para la transferencia de vapor de agua fue de 0.00090 m<sup>2</sup>. Posteriormente la celda conteniendo la película se introdujo en la cámara de permeabilidad con control de temperatura, la cual se mantuvo a 30 °C. Para mantener un gradiente de humedad relativa a través de la película, dentro de la cámara de permeabilidad se colocó sílica gel (previamente desecada). La pérdida de peso se determinó gravimétricamente durante un lapso de 12 h.

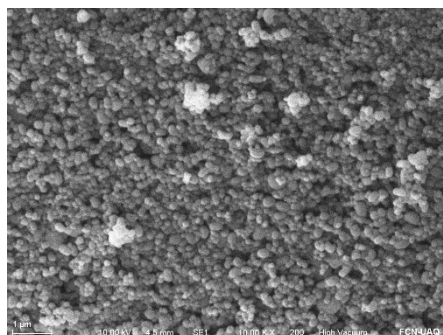
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Extracción del aceite esencial de hierba limón y de canela

Para el aceite esencial de hierba limón, se obtuvo un rendimiento de 1.09% ± 0.10, un rendimiento menor al reportado por Kumoro *et al.*, (2021) que reportan rendimientos del 1.5%. Para el AEC, el rendimiento fue de 1.33% ± 0.01. Ambos valores corresponden a lo reportado por Xi *et al.*, (2020) quienes reportan que el rendimiento general de los aceites esenciales es menor al 5% del peso total de la materia prima.

### Síntesis de las partículas de sílice mesoporosa (PSM)

Con un rendimiento de 90.8%, las partículas de sílice mesoporosa se formaron, observándose como un polvo blanco. La micrografía de SEM (Fig 1) muestra que la morfología de las partículas es circular, con tamaños entre 120 y 180 nm.



**Figura 1.** Partículas de sílice mesoporosa encapsulada.

### **Incorporación de los aceites esenciales a las partículas de sílice mesoporosa**

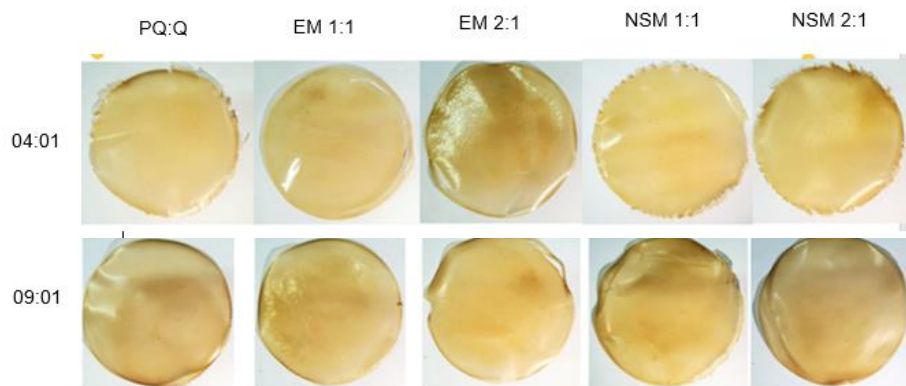
La incorporación de los aceites esenciales cambió el color de las partículas de blanco a amarillo oscuro (para canela) y amarillo pálido (para hierba limón) (Fig 2).



**Figura 2.** Partículas de sílice mesoporosa cargados con aceites esenciales.

### **Obtención de las soluciones filmogénicas**

Se obtuvieron 10 películas (Fig. 3), de color amarillo pálido, observándose que las películas con emulsión de AE y con nanopartículas presentan tonalidades un poco más oscuras que las películas que solo tienen QT y proteína de QU.



**Figura 3.** Películas comestibles obtenidas.

## Caracterización de las soluciones filmogénicas

### Espesor

Se observó una diferencia significativa en las películas que son adicionadas con partículas de sílice mesoporosa (grosor de 30 a 60  $\mu\text{m}$ ) comparadas con las que no tienen partículas (espesor de 100 a 180  $\mu\text{m}$ ). Los cambios en el espesor podrían deberse a una interacción entre los biopolímeros y las partículas (Ghiasi *et al.*, 2020).

### Solubilidad

Los valores de solubilidad obtenidos oscilan entre 50 y 80%, indicando que los tratamientos tienen una estabilidad intermedia en su matriz de polímeros. La solubilidad disminuyó a medida que se integraban los AE (Fig. 4), lo cual parece confirmar que las NSM refuerzan la red de polímeros disminuyendo su solubilidad en agua.

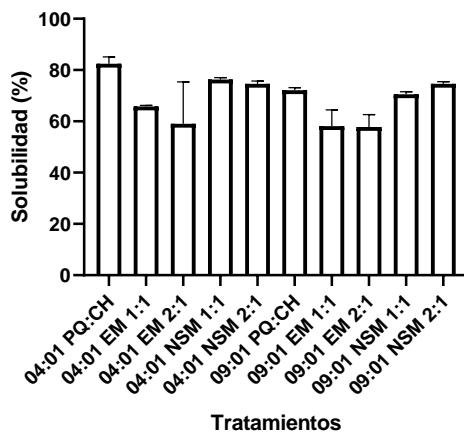


Figura 4. Solubilidad de los tratamientos.

### Color y opacidad

Los valores de los tratamientos 9:1 fueron ligeramente más altos en el caso de la luminosidad ( $L^*$ ), y más bajos en los valores  $a^*$  y  $b^*$ . La relación de luminosidad con el aumento de tonalidad podría deberse al incremento de sólidos totales en las PC. Todas demostraron valores de opacidad de menos del 50%. La diferencia encontrada entre tratamientos fue en las películas a las que les fueron añadidas las NSM, ya que aquellas con la formulación 4:1 mostraron valores de 36 y 43%, mientras que la formulación 9:1 tuvo valores de 27 a 29%.

### Potencial $\zeta$ , índice de polidispersión y tamaño de partícula

En las soluciones filmogénicas, todos los tratamientos exhibieron valores cercanos a 1, indicando que todas las soluciones son muy polidispersas. Las soluciones filmogénicas que reportaron mayores tamaños de partícula fueron aquellas que estaban adicionadas con emulsiones. Para el potencial  $\zeta$  las soluciones filmogénicas tuvieron todos valores arriba de 10 mV, salvo los tratamientos 9:1 EM 2:1 (QU:QT; AEL:AEC) y 09:01 NSM 1:1 (Tabla 1).

**Tabla 1.** Potencial  $\zeta$ , índice de polidispersión y tamaño de partícula de los tratamientos.

Tratamiento	Tamaño de partícula (d.nm)	Índice de polidispersión (PI)	Potencial $\zeta$ (mV)
04:01 PQ:CH	2810.67 ± 139.15 <sup>a</sup>	0.790 ± 0.07 <sup>a</sup>	41.20 ± 6.51 <sup>a</sup>
04:01 EM 1:1	3889.00 ± 319.01 <sup>a</sup>	0.774 ± 0.11 <sup>a</sup>	39.93 ± 4.37 <sup>a</sup>
04:01 EM 2:1	4992328.67 ± 8632256.59 <sup>b</sup>	0.875 ± 0.21 <sup>a</sup>	23.75 ± 3.44 <sup>b</sup>
04:01 NSM 1:1	2103.67 ± 443.04 <sup>a</sup>	0.772 ± 0.28 <sup>a</sup>	31.30 ± 3.14 <sup>ab</sup>
04:01 NSM 2:1	1626.67 ± 108.42 <sup>c</sup>	0.991 ± 0.01 <sup>a</sup>	26.37 ± 1.28 <sup>b</sup>
09:01 PQ:CH	1920.67 ± 406.74 <sup>ac</sup>	0.840 ± 0.13 <sup>a</sup>	27.17 ± 1.20 <sup>ab</sup>
09:01 EM 1:1	2755.33 ± 126.06 <sup>a</sup>	1.000 ± 0.00 <sup>a</sup>	22.13 ± 4.60 <sup>b</sup>
09:01 EM 2:1	22353333.33 ± 5582296.42 <sup>d</sup>	0.736 ± 0.22 <sup>a</sup>	3.83 ± 1.54 <sup>c</sup>
09:01 NSM 1:1	7751.67 ± 2031.78 <sup>c</sup>	1.000 ± 0.00 <sup>a</sup>	8.61 ± 1.04 <sup>c</sup>
09:01 NSM 2:1	1937.67 ± 82.00 <sup>ac</sup>	1.000 ± 0.00 <sup>a</sup>	21.47 ± 3.00 <sup>ab</sup>

### Propiedades mecánicas

Los valores de resistencia a la tensión variaron entre 4 y 28 MPa. Se ha reportado que las NSM refuerzan la estructura de la red de polímeros, aumentando así las propiedades mecánicas. Los valores de porcentaje de elongación dieron como resultado valores de 15 y 24%. El módulo de Young dio valores altos, lo cual indica una alta flexibilidad las muestras (Tabla 2).

**Tabla 2.** Propiedades mecánicas de los recubrimientos.

Tratamiento	Resistencia a la tensión (Mpa)	Elongación (%E)	Módulo de Young (Mpa)
04:01 PQ:CH	5.833 ± 0.487 <sup>a</sup>	2.257 ± 0.436 <sup>a</sup>	400.752 ± 0.552 <sup>a</sup>
04:01 EM 1:1	8.072 ± 0.079 <sup>b</sup>	24.671 ± 0.090 <sup>b</sup>	141.770 ± 0.351 <sup>b</sup>
04:01 EM 2:1	6.627 ± 0.065 <sup>c</sup>	15.794 ± 0.242 <sup>c</sup>	214.963 ± 0.496 <sup>c</sup>
04:01 NSM 1:1	9.746 ± 0.285 <sup>d</sup>	10.105 ± 0.078 <sup>d</sup>	332.603 ± 0.084 <sup>d</sup>
04:01 NSM 2:1	28.76 ± 0.070 <sup>e</sup>	15.918 ± 0.135 <sup>c</sup>	722.482 ± 0.076 <sup>e</sup>
09:01 PQ:CH	4.871 ± 0.060 <sup>a</sup>	21.089 ± 0.020 <sup>e</sup>	134.555 ± 0.136 <sup>f</sup>

09:01 EM 1:1	6.148 ± 0.012 <sup>c</sup>	16.581 ± 0.090 <sup>c</sup>	195.909 ± 0.078 <sup>g</sup>
09:01 EM 2:1	5.114 ± 0.064 <sup>a</sup>	14.387 ± 0.299 <sup>c</sup>	165.321 ± 2.343 <sup>h</sup>
09:01 NSM 1:1	7.834 ± 0.154 <sup>b</sup>	6.264 ± 0.054 <sup>a</sup>	393.975 ± 4.922 <sup>i</sup>
09:01 NSM 2:1	6.895 ± 0.100 <sup>c</sup>	14.548 ± 0.009 <sup>c</sup>	187.156 ± 0.665 <sup>j</sup>

### Actividad antifúngica de las películas diseñadas contra *Rhizopus stolonifer*

Se mostraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos. Los tratamientos con relación 4:1 (QU:QT) fueron los que demostraron mayores índices antifúngicos (de 18 a 98%), mientras que los tratamientos de relación 9:1 mostraron valores del 0 al 60%. En ambos tratamientos se observa un aumento en la actividad cuando se integran los aceites esenciales, lo cual parece indicar que la mezcla de aceites esenciales ofrece protección contra el hongo en conjunto con el QT y la proteína QU. Las películas con mayor actividad reportada fueron aquellas donde se agregó el aceite esencial emulsificado. Por otro lado, el aceite encapsulado en partículas de sílice mesoporosa demostró valores menores comparados con el aceite emulsificado, sin embargo, esto podría deberse a que las NSM liberan su carga de una manera más lenta.

### CONCLUSIÓN

Se realizó con éxito la formulación de los recubrimientos comestibles. Se eligió la formulación 4:1 QU:QT adicionadas de aceites esenciales encapsuladas en NSM, por sus altas capacidades antifúngicas así como por las propiedades mecánicas y de solubilidad que demostró. Se espera que este recubrimiento tenga un impacto positivo en la vida de anaquel de un producto de panificación.

### BIBLIOGRAFÍA

- Adiletta, G., Di Matteo, M., & Petriccione, M. (2021). Multifunctional role of chitosan edible coatings on antioxidant systems in fruit crops: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 2633.
- Balti, M. A., Hadrich, B., Kriaa, K., & Kechaou, N. (2018). Lab-scale extraction of essential oils from Tunisian lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*). *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 124, 164-173.
- Dhumal, C. V., & Sarkar, P. (2018). Composite edible films and coatings from food-grade biopolymers. *Journal of Food Science and Technology*, 55(11), 4369-4383.
- Díaz-Montes, E., & Castro-Muñoz, R. (2021). Edible films and coatings as food-quality preservers: An overview. *Foods*, 10(2), 249.
- El Sawi, S. A., Ibrahim, M. E., El-Rokiek, K. G., & El-Din, S. A. S. (2019). Allelopathic potential of essential oils isolated from peels of three citrus species. *Annals of Agricultural Sciences*, 64(1), 89-94.
- Escamilla-García, M., Delgado-Sánchez, L. F., Ríos-Romo, R. A., García-Almendárez, B. E., Calderón-Domínguez, G., Méndez-Méndez, J. V., & Regalado-González, C. (2019). Effect of transglutaminase cross-linking in protein isolates from a mixture of two quinoa varieties with chitosan on the physicochemical properties of edible films. *Coatings*, 9(11), 736.

- Galus, S., Arik Kibar, E. A., Gniewosz, M., & Kraśniewska, K. (2020). Novel materials in the preparation of edible films and coatings—A review. *Coatings*, *10*(7), 674.
- Garcia, M. V., & Copetti, M. V. (2019). Alternative methods for mould spoilage control in bread and bakery products. *International Food Research Journal*, *26*(3), 737-749.

## **Estabilidad térmica de las bacterias ácido-lácticas bajo la influencia de un emulsificante a base de monoacilgliceroles.**

L. Huerta-González\*<sup>1</sup>, F. López-Valdez<sup>1</sup> y S. Luna-Suárez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorios de Biotecnología Alimentaria y de Biotecnología Agrícola. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional (CIBA-IPN). Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala. 90700, México. \*[lhuertaglez@gmail.com](mailto:lhuertaglez@gmail.com) o [lhuertag@ipn.mx](mailto:lhuertag@ipn.mx)

### **RESUMEN**

El efecto de los lípidos sobre la inactivación térmica de las células bacterianas y de las esporas se ha reportado en medios de calentamiento no acuosos. En estas condiciones, los lípidos aumentan la resistencia al calor de las bacterias, lo que ha llevado a la conclusión de que los lípidos pueden proteger a las células bacterianas y a las esporas del posible daño provocado por el tratamiento térmico. Sin embargo, no todos los lípidos parecen tener el mismo efecto protector sobre la resistencia al calor de las bacterias. Tal es el caso de los monoacilgliceroles, de los cuales se ha reportado actividad bactericida principalmente sobre organismos Gram-positivos. Sin embargo, se han realizado muy pocos estudios para determinar su influencia y aplicaciones junto con un posible tratamiento térmico. En la presente investigación se estudió la inactivación de bacterias ácido-lácticas al someterlas a un tratamiento térmico en presencia de un emulsionante a base de monoacilgliceroles. El objetivo fue identificar su efecto sobre cuatro cultivos iniciadores ampliamente utilizados, y cómo esta combinación de factores permitiría la aplicación de un tratamiento térmico, asegurando la conservación de nutrientes cuya presencia en los productos lácteos fermentados es altamente deseable.

**Palabras clave:** Tasa de muerte térmica, bacterias ácido-lácticas, monoacilgliceroles, productos fermentados.

### **ABSTRACT**

The effect of lipids on thermal inactivation of bacterial cells and spores has been reported in non-aqueous heating media. Under these conditions, lipids have been reported to increase the heat resistance of bacteria, which has led to the generally accepted belief that lipids can protect bacterial cells and spores from possible damage caused by heat treatment. However, not all lipids seem to have the same protective effect on the heat resistance of bacteria. Such is the case of monoacylglycerols, of which bactericidal activity has been reported mainly on Gram-positive organisms. However, very few studies have been conducted to determine its influence and applications in conjunction with possible heat treatment. In the present research, the inactivation of lactic acid bacteria was studied by subjecting them to a thermal treatment in the presence of an emulsifier based on monoacylglycerols. The objective was to identify its effect on four widely used starter cultures, and how this combination of factors would allow the application of a heat treatment, ensuring the conservation of nutrients whose presence in fermented dairy products is highly desirable.

**Keywords:** Thermal death rate, lactic acid bacteria, monoacylglycerols, fermented products.



## INTRODUCCIÓN

El efecto de los lípidos en la inactivación térmica de bacterias y de esporas ha sido ampliamente reportado en medios no acuosos (Yang *et al.*, 2020; Aldrete-Tapia & Torres, 2020). En estas condiciones, se ha observado que los lípidos aumentan la resistencia de las bacterias al calor, lo que ha llevado a la creencia generalmente aceptada de que los lípidos pueden proteger a las células y esporas bacterianas de posibles daños provocados por el tratamiento térmico. Sin embargo, no todos los lípidos parecen tener el mismo efecto protector. Tal es el caso de los monoacilglicérols, los cuales muestran actividad bactericida, por lo que se han estudiado para la inactivación de organismos patógenos, ya sea Gram-positivos como *S. aureus* y *L. monocytogenes*, o bien Gram-negativos como *S. typhimurium* (García *et al.*, 2007; Yoon *et al.*, 2018; Kozak *et al.*, 2018; Yosief *et al.*, 2020).

Sin embargo, se han realizado muy pocos estudios para determinar el uso de los monoacilglicérols en conjunto con un posible tratamiento térmico. Esta combinación podría tener ciertas ventajas, por ejemplo, en la fabricación de productos fermentados de larga duración. En estos productos, se utiliza un tratamiento térmico posterior a la fermentación, para prolongar la vida de anaquel del producto mediante la inactivación de los cultivos ácido-lácticos, sus enzimas y otros posibles microorganismos como levaduras y mohos. Sin embargo, el tratamiento térmico provoca pérdidas de nutrientes y colores, además de alterar las propiedades de sabor y textura de los productos (Lewis & Deeth, 2009; Tamime & Robinson, 2007). En este contexto, la combinación de monoacilglicérols junto con el tratamiento térmico podría conducir a procesos térmicos menos severos, pero más eficientes, obteniéndose productos de mayor calidad, por ejemplo, tratamientos térmicos que conserven la actividad de la enzima  $\alpha$ -D-galactosidasa, cuya presencia en los productos lácteos fermentados es particularmente deseable por los consumidores con deficiencia de esa enzima (Nagendra, 2017; Voidarou *et al.*, 2021).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Preparación de emulsiones.

Se prepararon emulsiones de leche descremada reconstituida (RSM) de acuerdo con la Tabla 1. Se incorporaron aceite de maíz (MO), aceite de palma (PO), grasa de leche anhidra (AMF) o aceite de semilla de palma hidrogenado (HPKO) como fuente de grasa. Se utilizó RECODAN™ (Danisco A/S) como agente emulsionante (C.E.). La emulsificación de los ingredientes se realizó a 70 - 75 °C utilizando un homogeneizador de etapa única Rannie a una presión de homogeneización de 100 bar. El tamaño de las partículas de grasa se estandarizó a una moda entre 1,23  $\mu$ m y 1,58  $\mu$ m en todas las emulsiones preparadas, usando un medidor de partículas y gotas Malvern, serie 2600c (Malvern Instruments). Todas las emulsiones se esterilizaron a 121°C durante 15 minutos.

**Tabla 1.** Composición de las emulsiones para las pruebas de inactivación térmica.

Emulsión	Leche descremada en polvo	Emulsificante Recodan™	Grasa (4 tipos)	Agua peptonada	Lactosa	Agua pura
Leche reconstituida descremada (RSM)	8.5					91.5
RSM+C.E.	8.5	0.2				91.3
RSM+C.E.+grasa	8.5	0.2	4			87.3
RSM+grasa	8.5		4			87.5

### **Inoculación de emulsiones.**

Se preparó una suspensión microbiana que contenía de  $10^9$  a  $10^{10}$  UFC mL<sup>-1</sup> mediante la adición de cultivo iniciador tipo DVI a 10 mL de leche reconstituida libre de grasa a 25°C. Se permitió que la suspensión se reactivara durante 1 h a 37 °C. Pasado ese tiempo, se tomó 1 mL de la suspensión microbiana y se agregó a 99 mL de cada emulsión previamente preparada y esterilizada, ahora considerada como medio de calentamiento.

### **Determinación de parámetros de muerte térmica de bacterias ácido-lácticas (LAB).**

Se realizaron tratamientos térmicos a 62.5°C en leche descremada reconstituida y leche descremada reconstituida con 0.2% de C.E. para *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Los ensayos posteriores se realizaron utilizando *S. thermophilus*, ya que fue la bacteria ácido-láctica que mostró mayor resistencia térmica. Se probaron otras temperaturas (60°C, 65°C y 68°C), pero se observó que la temperatura de 62.5°C era la que permitía una mejor observación del efecto sinérgico por la presencia de los acilglicerolos. El pH se ajustó a 6.6 ya que permitía una buena estabilidad de las emulsiones RSM. Para todos los ensayos se determinaron los tiempos de reducción decimal (valores D) y el número de grados que se debería de aumentar la temperatura para lograr una reducción de diez veces en el valor D (valores Z). Los ensayos se realizaron por cuadruplicado y se reportó tanto la media como la desviación estándar.

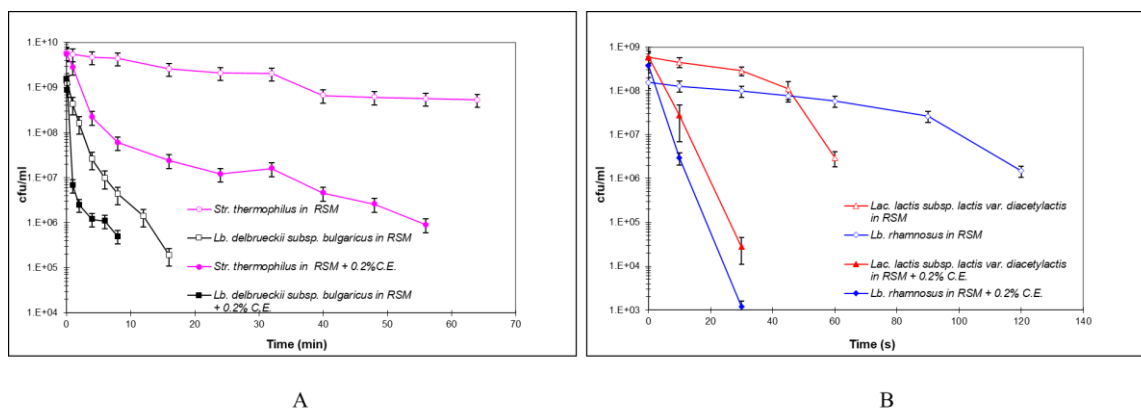
### **Enumeración de sobrevivientes.**

El número de sobrevivientes al tratamiento térmico se determinó mediante siembra en superficie usando la técnica de spiral plating. La siembra se realizó en medio M17, seguido de incubación aeróbica a 37 °C por 48 h para *S. thermophilus*, y a 30 °C por 48 h para *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*. Asimismo, se utilizó medio MRS acidificado, seguido de incubación anaeróbica a 37 °C por 72 h para *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, y a 45 °C durante 72 h para *L. rhamnosus*. Todos los medios de cultivo se obtuvieron de Unipath Ltd. La lactosa se obtuvo de Difcon Laboratories. El recuento de colonias se realizó utilizando un contador de colonias láser automático (Spiral System Instruments Inc.).

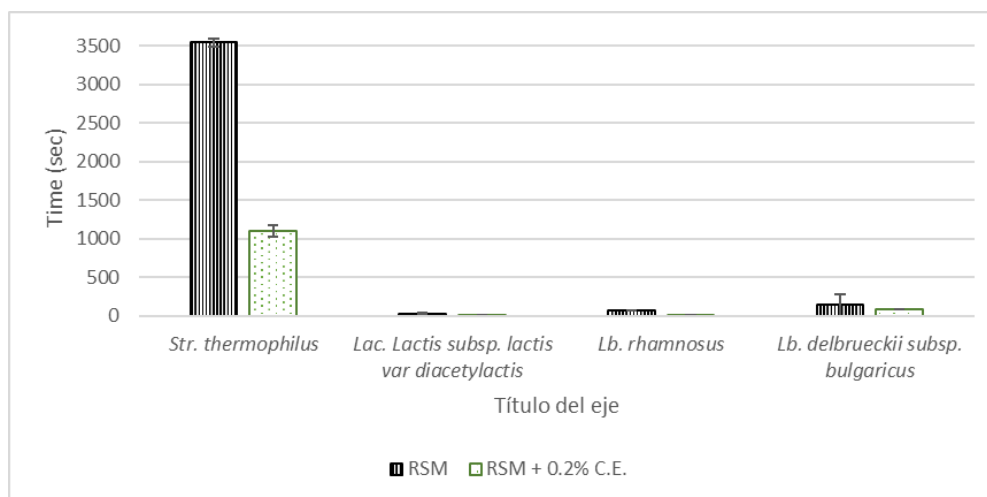
## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Parámetros de muerte térmica de LAB en emulsiones RSM.**

El número de sobrevivientes durante el tratamiento térmico a 62.5 °C, en emulsiones RSM y emulsiones RSM + 0.2% E.C., para *S. thermophilus*, *L. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*, *L. rhamnosus* y *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, se muestran en las Figura 1. El tiempo de reducción decimal (valores D) se muestra en la Figura 2. *S. thermophilus* presentó la mayor resistencia térmica, y permitía observar mejor los cambios por efecto de C.E.



**Figura 1.** Curvas de muerte térmica a 62.5°C de LAB en emulsiones RSM y emulsiones RSM+0.2% C.E. A) *Str. Thermophilus* y *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; B) *L. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*, y *L. rhamnosus*.



**Figura 2.** Valores D (tiempo de reducción decimal) a 62.5 °C para las cuatro especies de LAB en emulsiones RSM y RSM+0.2% C.E.

**Influencia de la cepa en la termorresistencia bacteriana.**

La Tabla 2 muestra los valores D obtenidos durante el tratamiento térmico en emulsiones RSM, de dos cepas diferentes de *S. thermophilus*, códigos TA054 y TA060. El análisis de varianza mostró que, para la misma cepa bacteriana, no hubo una diferencia significativa en los valores D obtenidos de diferentes emulsiones. Sin embargo, la cepa TA060 presentó mayor resistencia térmica que la cepa TA054. Los resultados destacaron el hecho de que los valores D son específicos de la cepa bacteriana que se utilice.

**Tabla 2.** Valores D para *S. thermophilus* TA054 y TA060

Strain	Temp (°C)	SM+CE+PO	Std. Dev.	SM+CE+MO	Std. Dev.	SM+CE+AMF	Std. Dev.	SM+CE+HPKO	Std. Dev.
TA054	62.5	11.1 ± 0.46		12.2 ± 0.93		11.5 ± 0.29		11.2 ± 0.36	
TA054	65	3.8 ± 0.49		3.1 ± 0.27		3.2 ± 0.14		3.4 ± 0.10	
TA060	62.5	47.5 ± 1.90		47.6 ± 2.22		49.2 ± 1.13		47.8 ± 1.01	
TA060	65	8.7 ± 0.15		8.1 ± 0.30		8.4 ± 0.20		9.0 ± 0.21	

## CONCLUSIÓN

Los resultados anteriores mostraron el efecto sinérgico de un emulsificante a base de monoacilglicérols en la termorresistencia de las bacterias ácido-lácticas. La adición de grasa láctea anhidra o cualquier grasa vegetal redujo el efecto bactericida del emulsificante.

Derivado de los resultados observados, podría argumentarse que el efecto potenciador en la inactivación térmica de bacterias no fue causado por una lesión por calor mejorada de las células bacterianas, sino por una inactivación química potenciada por calor. El daño a la pared celular bacteriana y la membrana celular parece ser el mecanismo más probable, lo cual concuerda con lo reportado por Yoon *et al.* (2018), quienes señalaron que el comportamiento lítico de los ácidos grasos y los monoglicéridos sobre la membrana se deriva de sus propiedades anfipáticas, lo que puede provocar la desestabilización de la membrana y la formación de poros, con la consecuente inhibición del crecimiento de células bacterianas (acción bacteriostática) o la muerte celular (acción bactericida). También se debe considerar que los ácidos grasos tienen el potencial de interrumpir la cadena de transporte de electrones al unirse a los transportadores de electrones o alterar la integridad de la membrana, así como interferir con la fosforilación oxidativa al disminuir el potencial de membrana y el gradiente de protones.

Los resultados obtenidos en esta investigación podrían guiar el rediseño de procesos térmicos menos severos que prolongaran igualmente la vida de anaquel de productos fermentados bajos en grasa, favoreciendo a la vez la conservación de sus características organolépticas y de sus beneficios nutricionales, y reduciendo al mismo tiempo los costos asociados a la etapa de tratamiento térmico del producto.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aldrete-Tapia, J.A., & Torres, J.A. (2020). Enhancing the Inactivation of Bacterial Spores during Pressure-Assisted Thermal Processing. *Food Eng Rev.*
- García, M., Amalaradjou, M. A. R., Nair, M. K. M., Annamalai, T., Surendranath, S., Lee, S., Hoagland, T., Dzurec, D., Faustman, C., & Venkitanarayanan, K. (2007). Inactivation of *Listeria monocytogenes* on frankfurters by monocaprylin alone or in combination with acetic acid. *Journal of Food Protection*, 70(7), 1594-1599.
- Kozak, S. M., Brown, S. R., Bobak, Y., & D'Amico, D. J. (2018). Control of *Listeria monocytogenes* in whole milk using antimicrobials applied individually and in combination. *Journal of Dairy Science*, 101(3), 1889-1900.
- Lewis, M. J., & Deeth, H. C., (2009). *Heat treatment of milk. In: Milk Processing and Quality Management.* Edit. by Adrian Y. Tamime. Society of Dairy Technology series. Blackwell Publishing, Ltd. United Kingdom.
- Nagendra, P. S. (2017). *Yogurt in Health and Disease Prevention.* Academic Press, Elsevier, London, United Kingdom.
- Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (2007). *Tamime and Robinson's Yoghurt, Science and Technology* (Third Edition). Woodhead Publishing. Series in Food Science, Technology and Nutrition. Washington, DC.
- Voidarou, C., Antoniadou, M., Rozos, G., Tzora, A., Skoufos, I., Varzakas, T., Lagiou, A., and Bezirtzoglou, E. (2021). Fermentative Foods: Microbiology, Biochemistry, Potential Human Health Benefits and Public Health Issues. *Foods*, 10(1), 69.

- Yang, R., Guan, J., Sun, S., Sablani, S. S., & Tang, J. (2020). Understanding water activity change in oil with temperature. *Current Research in Food Science*, 3, 158-165.
- Yoon, B. K., Jackman, J. A., Valle-González, E. R., & Cho, N. J. (2018). Antibacterial free fatty acids and monoglycerides: biological activities, experimental testing, and therapeutic applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), 1114.
- Yosief, H. O., Hussain, S. A., Sarker, M. I., & Annous, B. A. (2020). Efficacy of Fatty Acid Amide Derivatives against *Listeria monocytogenes*. *Chemistry Select*, 5(39), 12261-12265.

## Evaluación en campo del baculovirus PxNPV y sinergismo con cepas de *Bacillus thuringiensis* hacia larvas de *Plutella xylostella* en cultivos de *Brassica oleracea*.

V.M. Carrasco-Baeza\*<sup>1</sup>, L. Pérez-Moreno<sup>1</sup>, C. García-Munguía<sup>1</sup>, J. Ibarra-Rendón<sup>2</sup> y M.C. Del Rincón-Castro<sup>1</sup>

**1** Universidad de Guanajuato, Departamento de Alimentos, km 9 carretera Irapuato-Silao, Apdo. Postal 311, 365000, Irapuato, Guanajuato, México. **2** CINVESTAV Irapuato, km 9.5 Lib. Norte Carretera Irapuato-León, Apdo. Postal 629, 36824, Irapuato, Guanajuato, México. \*[vm.carrasco@ugto.mx](mailto:vm.carrasco@ugto.mx)

### RESUMEN

El brócoli es una hortaliza con mayor importancia económica a nivel mundial y en el estado de Guanajuato una de las problemáticas de producción es la palomilla dorso de diamante *Plutella xylostella*. Actualmente existen formulaciones comerciales de nucleopoliedrovirus y de *Bacillus thuringiensis* con efectos de control en otras plagas, sin embargo poco se ha reportado en *P. xylostella*. Por ello, el objetivo del estudio fue evaluar formulaciones de PxNPV y *B. thuringiensis* para su aplicación en cultivo de brócoli y determinar su efecto en larvas de *P. xylostella*. Se realizó la aplicación de formulaciones líquidas de PxNPV y de *B. thuringiensis* en Irapuato y Dolores Hidalgo, Guanajuato; la primer aplicación de PxNPV ( $3.5 \times 10^{12}$  OBs/ha) y *B. thuringiensis* LBIT-287 (31, 818 mg/ha) fue en cultivo de variedad Avenger y se observó mortalidad de 47.37% en larvas de *P. xylostella*; la segunda aplicación de PxNPV se realizó en repollo cultivar Escazú y se observó mortalidad de 92.31% con  $5 \times 10^{12}$  OBs/ha; por último, una aplicación de PxNPV ( $2.04 \times 10^{13}$  OBs/ha) y *B. thuringiensis* cepa LBIT-229 (666.66 g/ha) para cultivo de brócoli variedad Centennial, arrojó 80% de mortalidad en el caso de PxNPV solo, a diferencia de 50% obtenido en combinación con *B. thuringiensis*.

**Palabras clave:** Baculovirus, *Bacillus thuringiensis*, *Plutella xylostella*, brócoli.

### ABSTRACT

Broccoli is the most economic important crucifer worldwide, in Guanajuato State main production problem is diamondback moth *Plutella xylostella*. Nowadays market includes nucleopolyhedroviruses and *Bacillus thuringiensis* based commercial formulations with reported efficiency against insect pests however, few data available regarding *P. xylostella*. Within this background, the objective of this study was the application of different formulations of PxNPV-LBIV-11 and *B. thuringiensis* in broccoli fields to determine its effect altogether against *P. xylostella* larvae. Different field locations were selected for PxNPV and *B. thuringiensis* application formula in Irapuato and Dolores Hidalgo municipalities; first application was PxNPV ( $3.5 \times 10^{12}$  OBs/ha) and *B. thuringiensis* LBIT-287 (31,818 mg/ha) on Avenger broccoli and 47.37% mortality was observed; second application was performed in Escazú cabbage, PxNPV ( $5 \times 10^{12}$  OBs/ha) mortality in *P. xylostella* larvae was registered in 92.31%; third application of a mixture of PxNPV ( $2.04 \times 10^{13}$  OBs/ha) and *B. thuringiensis* LBIT-229 (666.66 g/ha) was on Centennial broccoli and 80% mortality was observed with PxNPV alone, in contrast only the 50% of mortality was registered when *B. thuringiensis* was sprayed in combination with the baculovirus treatment.

**Keywords:** Baculovirus, *Bacillus thuringiensis*, *Plutella xylostella*, broccoli.

## INTRODUCCIÓN

El brócoli es una de las hortalizas con mayor importancia económica a nivel mundial, es una planta de cultivo anual cuya inflorescencia de color verde, llamada florete, representa su principal carácter comercial; los diez principales países exportadores de brócoli registraron una producción, en conjunto, de 1 millón 145 mil 263 toneladas y México ocupa el segundo lugar en exportación con 245, 023 ton; en el contexto nacional, se reportó una producción total anual de 631, 511 toneladas de brócoli durante 2019, con valor comercial de 3, 821 billones de pesos; de las cuales, Guanajuato concentró la mayor superficie sembrada con 11, 651 ha y una producción de 147, 601 toneladas, que representan el 23.37% del total producido en el país en este año (Soria *et al.*, 2016; Vivanco-Estrada *et al.*, 2017; SIAP, 2019). Sin embargo, uno de los principales problemas en los sistemas agrícolas de producción de brócoli es la presencia de insectos considerados como plaga, que afectan la estructura de las plantas por el daño foliar que provocan sus larvas al alimentarse de ellas, tal es el caso de la palomilla dorso de diamante *Plutella xylostella*, que ocasiona mayores daños y pérdidas económicas en cultivos de crucíferas, en específico: brócoli, esto agravado con la característica de ser uno de los primeros insectos en desarrollar resistencia a los insecticidas químicos de primera elección hasta los de última generación como las diamidas, e incluso a las alternativas de uso con agentes de control biológico; lo cual, resulta en costos elevados de hasta 4-5 billones de dólares al año en todo el mundo (Zalucki *et al.*, 2012; Philips *et al.*, 2014; Webb *et al.*, 2016). Existen en la actualidad diferentes tipos de control que se han implementado para disminuir las poblaciones de *P. xylostella*, dentro de los más utilizados se encuentran el control cultural, control químico y el control biológico; dentro del control cultural, el más utilizado es la irrigación por aspersores y el cultivo de otras especies de crucíferas para que *P. xylostella* tenga otras opciones para su oviposición o fuente de alimento; el control químico con insecticidas, desde los organofosforados, carbamatos y piretroides, hasta los neonicotinoides, lactonas macrocíclicas y diamidas (Gong *et al.*, 2014; Imran, 2018), es el más común de los métodos contra este lepidóptero, pero no ha mostrado eficacia en el control de sus poblaciones, además, los químicos son considerados como una fuente de contaminación al acumularse en suelo y agua, sin mencionar el efecto negativo en las poblaciones de insectos benéficos o enemigos naturales de este lepidóptero (Guo *et al.*, 2013; Agboyi *et al.*, 2016; Bopape *et al.*, 2017). Por lo anterior, dentro del marco de control biológico, aún es factible el desarrollo de formulaciones bioinsecticidas, ya que sigue siendo una necesidad prioritaria para la disminución de diversas poblaciones de insectos plaga presentes en cultivos de crucíferas en el mundo y aunado al hecho de que, en México la producción de brócoli representa una de las mayores fuentes de ingresos y derrama económica en el rubro agrícola y uno de los principales estados productores es Guanajuato, ya que un alto porcentaje del brócoli que se cultiva en esta región está destinado para exportación, esto demanda estándares de calidad e inocuidad que involucran métodos de protección contra plagas, principalmente *P. xylostella*; sin embargo la aplicación indiscriminada de insecticidas químicos supone riesgos a la salud y el desarrollo de resistencia por parte de este insecto, por lo que se hace necesario buscar alternativas a los métodos convencionales como el control biológico con agentes que presenten actividad tóxica hacia este lepidóptero y así obtener resultados favorables en los sistemas de producción agrícola; por esta razón, es relevante la producción de cepas de baculovirus y *Bacillus thuringiensis* como potenciales bioinsecticidas para el diseño de formulaciones adecuadas y su aplicación para el control de poblaciones de *P. xylostella* en cultivos de brócoli.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización del experimento

La etapa experimental del presente estudio se llevará a cabo en condiciones de laboratorio y en condiciones de campo, para la primera fase se realizarán actividades propias en el Laboratorio de Biotecnología Alimentaria y Vegetal de la Universidad de Guanajuato, División Ciencias de la Vida (DICIVA) campus Irapuato-Salamanca, localizada en Ex-Hacienda El Copal, carretera Irapuato-Silao Km 7 en el municipio de Irapuato, Guanajuato, ubicado geográficamente en 20°44'23.1"N 101°20'09.8"O., para la segunda fase se realizarán actividades en campos agrícolas de cultivos de brócoli en los municipios de Irapuato y Dolores Hidalgo, Guanajuato.

### Establecimiento de una colonia de *Plutella xylostella* en condiciones de insectario

Se recolectaron ejemplares de larvas y pupas directamente de campo en cultivos de brócoli en la región de El Copal, Municipio de Irapuato, Gto. Las larvas colectadas fueron destinadas como pie de cría en cuarentena y dispuestas en contenedores de plástico con tapa adaptada con tela organza para ventilación y se alimentaron con hojas de brócoli recién cortadas, lavadas y secas; las pupas colectadas fueron dispuestas en cajas de Petri y se mantuvieron en jaulas entomológicas también en fase de cuarentena hasta que emergieron adultos, que fueron alimentados con una solución de miel de maple al 20% durante los días de la semana y al 10% los días viernes, sábado y domingo; a partir de la emergencia de los primeros adultos, se les colocaron hojas de brócoli frescas, limpias y secas dispuestas en contenedores pequeños de plástico y sujetadas con un algodón, esto con el objetivo de proporcionar superficies adecuadas para la oviposición, las hojas con huevecillos se retiraron de la jaula todos los días y se distribuyeron en contenedores plásticos con tapa; posterior a 24 h, se observó eclosión de larvas, a las cuales se les ofrecieron hojas de brócoli como fuente de alimento. Las larvas de segunda generación se mantuvieron durante 5 días hasta que alcanzaron su desarrollo en pupas, y estas fueron colectadas de cada contenedor, dispuestas en cajas de Petri y se comenzaron a distribuir en jaulas entomológicas para establecer el pie de cría definitivo de adultos, a los que, bajo el proceso anteriormente mencionado, se les mantuvo en condiciones de insectario; las hojas de brócoli con huevecillos se distribuyeron en contenedores de plástico con tapa y se les dio manejo de alimentación, limpieza y selección de pupas como reemplazo de los adultos en jaula.

### **Amplificación masiva de baculovirus P<sub>x</sub>NPV *in vivo* utilizando larvas de *Trichoplusia ni* y producción de complejo espora-cristal de *B. thuringiensis*, para su aplicación en campo**

La amplificación de baculovirus se realizó por infección directa de larvas de *P. xylostella* en contenedores de plástico con dieta artificial, se inocularon 500 µL de solución que contenía cuerpos de oclusión OBs en una concentración de  $1 \times 10^5$  OBs /mL, se distribuyó en toda la superficie con un asa de Drigalski previamente esterilizada por calor con mechero de Bunsen y se dejó secar a temperatura ambiente, posterior a esto, se agregaron 150 larvas de 2º instar de *P. xylostella* que se hayan mantenido sin alimento previo a 24 h, los contenedores se cubrieron con sus respectivas tapas (adaptadas con malla de tela organza para ventilación) y se incubaron por 5 días a temperatura ambiente; diariamente se hizo el monitoreo y revisión de cada contenedor colectando las larvas muertas que fueron maceradas con agua destilada estéril (2mL/larva) en un mortero de porcelana, la solución homogenizada se filtró con un tamíz de tela organza para desechar los fragmentos de tejido de larvas, el filtrado obtenido se sometió a centrifugación de 13000rpm durante 15 minutos a 4° C; el sedimento obtenido se resuspendió en 12mL de agua destilada estéril para lavarse y centrifugarse de nuevo con las condiciones mencionadas, una vez obtenidos los filtrados lavados, se almacenaron a 4° C. Para la determinación de la concentración, se realizó una dilución 1:10 para su observación en cámara de Neubauer con microscopio óptico a 40x, se realizó conteo de cuerpos de oclusión OBs en cinco cuadros de la cámara, centro e izquierdo y derecho superiores e inferiores, el total de OBs se multiplicó por una constante  $2.5 \times 10^5$  y por el factor de dilución para la obtención del número de OBs/mL; para la obtención de complejo espora-cristal de tres cepas de *B. thuringiensis* (LBIT-127, LBIT-287 y LBIT-290), se inició con cultivos en cajas de Petri con agar métodos estándar, se incubaron a 28° C por 24hr y almacenados posteriormente a 4° C. Se prepararon, para cada cepa, 50mL de medio LB (Luria-Bertani) contenido en matraces para ser inoculados y sometidos a incubación orbital a 28° C durante 72-96 hrs, los contenidos de cada matraz fueron monitoreados por observación de una muestra al microscopio 100x para confirmar lisis celular y la presencia de cristales, los contenidos fueron transferidos a tubos de policarbonato y sometidos a centrifugación de 13000rpm, 10 minutos a 4° C. Una vez obtenidos los sedimentos de cada tubo, fueron adicionados con 10mL de agua destilada estéril, homogenizados en vórtex y centrifugados con las mismas condiciones, el sobrenadante se desechó para repetir la adición de agua destilada estéril y repetir los lavados hasta que el sobrenadante se observó claro; al término de los lavados, los tubos se taparon con papel Parafilm®, se congelaron a -20° C y se liofilizaron a -40° C y 120 mT, los liofilizados obtenidos fueron almacenados a 4° C hasta su uso.

### **Establecer la CL<sub>50</sub> de la mezcla del baculovirus P<sub>x</sub>NPV y las cepas LBIT 127, LBIT 287 y LBIT 290 de *Bacillus thuringiensis***

Se implementaron bioensayos para la determinación de CL<sub>50</sub> de baculovirus P<sub>x</sub>NPV y *B. thuringiensis* con stocks de cuerpos de oclusión OBs previamente cuantificados y liofilizado del complejo espora-cristal. Se utilizaron cajas de Petri con dieta artificial y en cada una se inocularon 200µL de cada agente entomopatógeno, para ambos agentes



se manejaron una diluciones seriadas con factor de 0.5. Las dosis de concentración fueron distribuidas con un asa de Drigalski estéril por calor con mechero de Bunsen hasta formar una capa uniforme en la superficie de la dieta artificial, se agregaron 20 larvas de *P. xylostella* de 2º instar y se colocaron, con la tapa, tela de organza y un fragmento de papel para regulación de humedad y se sujetaron por presión con bandas elásticas, también se consideraron cajas Petri con 200 µL de agua destilada estéril en capa de dieta artificial como control negativo; las cajas fueron cubiertas con malla de tela organza y un fragmento de papel para regular humedad, fueron aseguradas por presión con bandas elásticas y después se colocaron todas las cajas en un contenedor de plástico adaptado como cámara de incubación con tapa y malla de tela organza, se dejaron ahí por 5 días y se hizo conteo de larvas muertas a partir del 3er día pos-inoculación.

### **Diseñar formulaciones diferentes del PxNPV y de complejo spora-cristal de *B. thuringiensis*, polvos humectables y líquidas**

Se diseñaron dos tipos diferentes de formulaciones, cada una con ingredientes diversos que contemplaron todos los requisitos y compuestos que debe de tener una mezcla efectiva y óptima para su aplicación a nivel de campo en cultivos de brócoli para el control de poblaciones de *P. xylostella*; de acuerdo a lo reportado por Tamez-Guerra *et al.* (2006). La formulación en presentación de polvos humectables se diseñó con agua destilada estéril 300mL, caolín 500g, talco 50g, ácido naftalen sulfónico 50g, sacarosa 50g y hojas de kale 50g como fagoestimulantes, calcoflúor 0.2g y 7 diferentes concentraciones de solución de extracto crudo de baculovirus PxNPV. Para su preparación, primero se obtuvo la solución de baculovirus PxNPV macerando 150 larvas infectadas en agua destilada estéril, se filtró la solución con un tamíz de tela organza para retirar restos o fragmentos de los insectos, se adicionó el caolín, los fagoestimulantes (deshidratados previamente) y el Tinopal CBS-X, se homogenizó a mano hasta obtener una consistencia semisólida, se colocó en una bandeja de aluminio forrada con papel encerado y se dispersó en una capa fina, se dejó secar por completo a temperatura ambiente y se realizó su trituration con un molino, una vez obtenido el polvo, este se almacenó en frascos opacos de plástico con tapa; para la determinación de concentración se tomó una muestra de 10mg de polvo para diluir en 90µL de agua destilada, se homogenizó en vórtex y se preparó una dilución 1:100 de la cual se tomaron 10µl para su observación en cámara de Neubauer con microscopio óptico 40x para el conteo de los OBs de PxNPV existentes. La formulación de presentación líquida en suspensión se realizó con glicerina 250mL, agua destilada 150mL, hojas de kale 25g y sacarosa 25g, Tinopal CBS-X 0.2g/100mL y como ingrediente activo el concentrado crudo de baculovirus PxNPV. Su preparación consistió en adicionar todos los ingredientes de la siguiente manera: el extracto crudo de PxNPV se adicionó en 150mL de agua destilada estéril, por otro lado el fagoestimulante kale (25g) se deshidrató previamente en mufla a 50° C por 24 h y se trituró, se agregó la sacarosa (25g) y Tinopal CBS-X (1g total); finalmente a esta mezcla se adicionó la glicerina en proporción 1:1 para un volumen total de 500mL y se homogenizó todo el compuesto por agitación para su posterior almacenamiento en frascos de plástico opaco con tapa a temperatura ambiente; para la determinación de la concentración de la suspensión, se realizó una dilución 1:10 y se tomaron 20µl para su observación en cámara de Neubauer con microscopio óptico 40x para el conteo de los OBs de PxNPV existentes (Batista-Filho *et al.*, 2001; Tamez-Guerra *et al.*, 2006).

### **Aplicaciones en condiciones de campo**

Se realizó, por separado, la aplicación de formulaciones líquidas de baculovirus PxNPV y de *Bacillus thuringiensis*, cepa LBIT-287; en un cultivo de brócoli variedad Avenger, ubicado en la localidad Providencia de Pérez, en el municipio de Irapuato, estado de Guanajuato, México; la cual se encuentra en las coordenadas 20°36'58.3"N 101°26'25.0"W a mediana altura de 1721 m sobre el nivel del mar y cuenta con clima templado sub-húmedo. El cultivo tuvo una densidad de siembra de 60, 000 plantas/ha, diseño en tresbolillo y contó con una superficie total de 9557 m<sup>2</sup> (Fig. 1) previo a la aplicación de la formulación de baculovirus PxNPV, se realizó un conteo de larvas de *P. xylostella* presentes, para ello se eligieron 15 plantas al azar para cada entomopatógeno; posterior al conteo previo, la aplicación de las formulaciones fue realizada con una bomba aspersora a gasolina marca Swissmex modelo Forza 25 (Fig. 2), calibrada previamente; la concentración de baculovirus PxNPV asperjada fue de 9.06x10<sup>10</sup> OBs totales en 2000mL de formulación líquida suspensión, suficientes para cubrir 255 m<sup>2</sup>, área representada por 5 camas y en el caso de la cepa LBIT-287 de *Bacillus thuringiensis* la concentración asperjada fue de 105 mg totales en 656.25 mL de formulación líquida suspensión para cubrir un área de 33m<sup>2</sup>.



**Figura 1.** Cultivo de brócoli (*B. oleracea* var *italica*) cultivar Avenger F1, superficie total de 9557m<sup>2</sup>.

También se llevó a cabo una segunda aplicación de baculovirus P<sub>x</sub>NPV, en un cultivo de repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*) cultivar Escazú, en la localidad San Francisco de la Charca, ejido “El Nido”, en el municipio de Irapuato, estado de Guanajuato, ubicado en las coordenadas 20°40'23.7"N 101°23'15.8"W a una altura de 1720 m sobre el nivel del mar, con clima templado sub-húmedo. El cultivo contó con una superficie total aproximada de 1,032 m<sup>2</sup>, diseño tresbolillo y para esta segunda aplicación de baculovirus P<sub>x</sub>NPV se implementó una distribución de bloques completamente al azar con 5 tratamientos y un grupo testigo, todos con un área de 100 m<sup>2</sup> delimitados con cuerda (Fig. 2) y distribuidos de la siguiente manera: tratamiento 1 de 1x10<sup>10</sup> OBs (a razón de 1x10<sup>12</sup> OBs/ha), tratamiento 2 de 3x10<sup>10</sup> OBs (a razón de 3x10<sup>12</sup> OBs/ha), tratamiento 3 (control), tratamiento 4 de 5x10<sup>10</sup> OBs (a razón de 5x10<sup>12</sup> OBs/ha), tratamiento 5 de 8x10<sup>10</sup> OBs (a razón de 8x10<sup>12</sup> OBs/ha) y por último, tratamiento 6 de 1x10<sup>11</sup> OBs (a razón de 1x10<sup>13</sup> OBs/ha). Previo a las aplicaciones se realizó el conteo correspondiente de larvas de *P. xylostella* presentes en el cultivo (Fig. 3) y la evaluación de daño foliar del mismo, la aplicación se realizó con una bomba automática con motor de gasolina, previamente calibrada y equipada con un marco de aspersión con boquillas de cono.



**Figura 2.** Distribución de diseño bloques completamente al azar en cultivo de repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*), para la aplicación de formulaciones líquidas de baculovirus P<sub>x</sub>NPV.



**Figura 3.** Conteo pre-aplicación, presencia de larvas de 4º Instar de *P. xylostella* (flechas).

Se realizó una 3ª aplicación a nivel de campo en cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) cultivar Centennial, en la localidad Santa Rita, rancho “Los Cuates”, en el municipio de Dolores Hidalgo, Guanajuato, ubicado en las coordenadas 21°22'16.7"N 100°88'08.8"W a una altura de 1982m sobre el nivel del mar, con clima templado sub-húmedo. El cultivo contó con una superficie total aproximada de 80,000 m<sup>2</sup>, diseño sencillo en línea y para esta tercera aplicación de baculovirus PxNPV y Bt se utilizó una concentración de 3.06x10<sup>10</sup> OBs y 981.81mg respectivamente con lo que se cubrió una superficie total de 600 m<sup>2</sup> representados por 6 camas, cada tratamiento estuvo conformado por 3 repeticiones (3 camas); ambas concentraciones fueron asperjadas por separado con una mochila aspersora manual marca Swissmex de 25lt calibrada con anterioridad y equipada con una boquilla de cono; previo a la aplicación, se realizó un conteo de larvas de *P. xylostella* presentes en 10 plantas al azar por cada cama y que mostraran signos evidentes de daño foliar (Fig. 4); como testigo positivo se implementó la aplicación de un insecticida químico diamida Belt® a razón de 0.05L/ha, además de un testigo negativo conformado solo por agua y coadyuvantes de formulación líquida.



**Figura 4.** Presencia de larvas de *P. xylostella* de 2º a 3er Instar (izquierda, flechas) y daño foliar (derecha) en cultivo de brócoli variedad Centennial.

### Análisis estadísticos

Para los datos obtenidos en los bioensayos de laboratorio, se utilizó el análisis Probit del programa estadístico SPSS, para la determinación de dosis respuesta, analizando la correlación entre la intensidad del estímulo (dosis) y la cantidad de organismos que responden; la cantidad de respuestas podrá ser expresada como una probabilidad binomial por sujeto, y la correlación lineal se estimó entre las desviaciones de la distribución de los datos observados, representada como una dosis efectiva media o DL<sub>50</sub>, ya que produce el 50% de la mortalidad en los organismos de estudio (Throne *et al.*, 1995). Con los datos obtenidos del muestreo pos-tratamiento en campo de posteriores aplicaciones, se realizó el cálculo del porcentaje de control de larvas de *P. xylostella* utilizando la fórmula de corrección de Abbott por transformación angular del arco seno y posteriormente se realizará un análisis de varianza (ANDEVA) con diseño multifactorial, donde el Factor A serán los días pos-aplicación y el Factor B será la concentración utilizada, además de una prueba de Tukey al 95% de confianza, con el programa Statgraphics Centurion XVII, con lo que se determinó el mejor tratamiento de control.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Amplificación masiva de baculovirus PxNPV *in vivo* utilizando larvas de *Trichoplusia ni* y producción de complejo espora-cristal de *B. thuringiensis*, para su aplicación en campo

Con la amplificación del baculovirus PxNPV en larvas de 3er Instar de *Trichoplusia ni* (Fig. 5), se obtuvo un total de 50mL de extracto crudo de PxNPV a una concentración de 8.21 x 10<sup>10</sup> OBs/mL, suficientes para la elaboración de 4 formulaciones líquidas en suspensión. En la producción de complejo espora-cristal de *B. thuringiensis*, se

obtuvieron en promedio hasta 6g de liofilizado por cada cepa (LBIT-127, LBIT-287, LBIT-290 y HD-1) cantidad suficiente para el diseño y elaboración de bioensayos para determinación de  $CL_{50}$  y la aplicación en condiciones de campo.



**Figura 5.** Obtención de extracto crudo del baculovirus PxABPV, amplificado *in vivo* en larvas de *Trichoplusia ni* de 3er Instar. a) Plaqueo de concentración PxABPV en dieta artificial, b) Adición de larvas *T. ni* y c) Concentrado macerado de larvas muertas por PxABPV.

**Diseñar formulaciones diferentes del PxABPV y de complejo spora-cristal de *B. thuringiensis*, polvos humectables y líquidas**

Del total de OB's ( $8.21 \times 10^{10}$  en 50mL de extracto crudo) obtenidos en la amplificación de PxABPV, se obtuvo la elaboración de 4 formulaciones en concentración  $2.4 \times 10^8$ ,  $4.8 \times 10^8$ ,  $9.9 \times 10^8$  y  $2 \times 10^9$  OBs/mL, en presentación líquida suspensión de 500mL cada una (Fig. 6), para su posterior aplicación en campo.



**Figura 6.** Formulaciones en presentación líquida suspensión del baculovirus PxABPV para su aplicación en campo en cultivos de brócoli.

Se diseñó la formulación en presentación de polvo humectable (Fig. 7) a razón de  $1.724 \times 10^{11}$  OBs en 153.55g de producto, los cuales serán suficientes para la aplicación en  $575m^2$ , y para *B. thuringiensis* se obtuvo al momento 6000mg totales de complejo spora-cristal liofilizado, que conformaron también una formulación polvo humectable, para su posterior aplicación en campo contra larvas de *P. xylostella*, con el objetivo de evaluar la interacción de ambos entomopatógenos en conjunto.





**Figura 7.** Formulaciones en presentación polvo humectable del baculovirus P<sub>x</sub>NPV y liofilizados de *B. thuringiensis* LBIT-229 para su aplicación en campo en cultivos de brócoli.

**Establecer la CL<sub>50</sub> de la mezcla de baculovirus P<sub>x</sub>NPV y las cepas LBIT 127, 287 y 290 de *B. thuringiensis* mediante bioensayos.**

Se realizaron bioensayos en placa de superficie, para las cepas de *B. thuringiensis* seleccionadas y poder determinar la DL<sub>50</sub> por cuantificación de mortalidad de larvas de *P. xylostella* (Fig. 8) y análisis PROBIT (Cuadro 1) de 6 diferentes dosis a una dilución 0.5, seriadas de la siguiente manera: 500, 250, 125, 62.5, 31.25 y 15.5 ng/cm<sup>2</sup> respectivamente para cada cepa; en el experimento se utilizaron dos testigos, uno positivo con la cepa HD-1 y uno negativo que solamente contenía Tween 80 al 0.02% y Tinopal 0.2% (0.2g/mL).



**Figura 8.** Signos característicos y mortalidad de larvas de *P. xylostella* infectadas por *B. thuringiensis*, bioensayos.

Los resultados de los bioensayos mostraron que, las 4 cepas evaluadas presentaron una variación de mortalidad de 60 a 65 %, siendo las cepas LBIT-290 y LBIT-229 las de mayor efectividad en larvas de 2º Instar de *P. xylostella* con una CL<sub>50</sub> de 179.9 y 173.89 ng/cm<sup>2</sup> respectivamente; por otro lado, las cepas LBIT-127, con una CL<sub>50</sub> estimada de 242.64 ng/cm<sup>2</sup> y LBIT-287 con 251.73 ng/cm<sup>2</sup> fueron menos efectivas, en contraste con el testigo positivo, la cepa HD-1 que presentó hasta 90% de mortalidad con una CL<sub>50</sub> de 147.22 ng/cm<sup>2</sup>.

**Cuadro 1.** Parámetros estadísticos de bioensayos con cepas de *B. thuringiensis* para determinación de CL<sub>50</sub> en larvas de 2º Instar de *Plutella xylostella*.

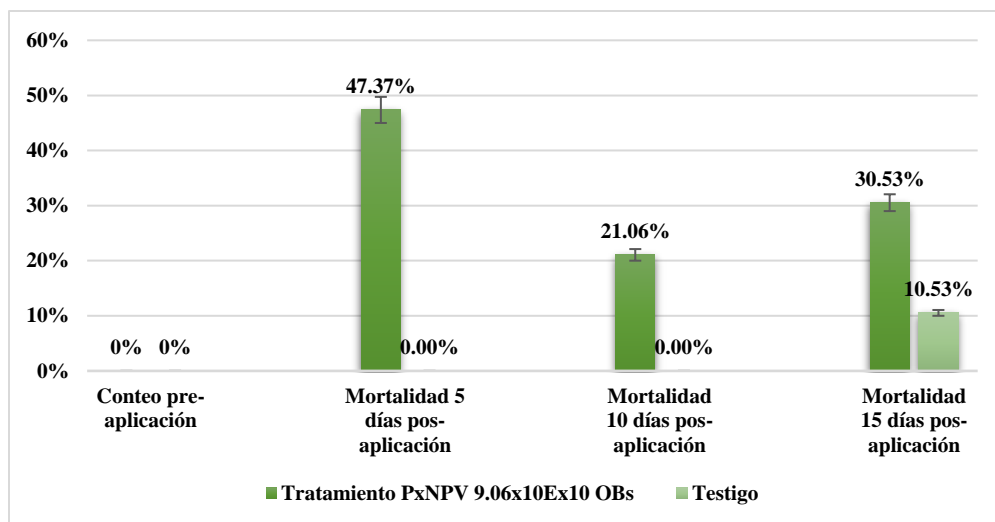
CEPA	IE	Mort%	CL <sub>50</sub> (ng/cm <sup>2</sup> )	X <sup>2</sup>	L.F. (95%)		Pendiente (±SE)
					Bajo	Alto	
<b>LBIT-127</b>	20	60	242.64	5.5	170.17	346.753	2.78 ±0.76
<b>LBIT-287</b>	20	60	251.73	3.78	183.266	346.298	3.41 ±0.90
<b>LBIT-290</b>	20	65	179.90	2.61	128.341	252.405	2.69 ±0.26
<b>LBIT-229</b>	20	65	<b>173.89</b>	2.51	129.207	234.293	3.71 ±0.85
<b>HD-1</b>	20	90	147.22	3.16	105.672	205.129	2.89 ±0.29
<b>Testigo Tween 80 0.02%+Tinopal 0.2%</b>	20	5	--	--	---	---	---

Individuos evaluados (IE), Mortalidad (Mort), Concentración letal media (CL<sub>50</sub>), límites fiduciales (L.F.). Diferentes literales en columna Cepa, indican diferencias significativas entre los tratamientos (P<0.05) utilizando la prueba de Tukey.

**Evaluar a nivel de campo las diferentes formulaciones del P<sub>x</sub>NPV y *B. thuringiensis* en cultivos de brócoli y seleccionar la más efectiva.**

Se realizaron aplicaciones preliminares del baculovirus P<sub>x</sub>NPV y de una cepa de *B. thuringiensis* en condiciones de campo en dos diferentes localidades del municipio de Irapuato, Guanajuato; la primer aplicación de baculovirus y *B. thuringiensis* fue en cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) cultivar Avenger y la segunda aplicación de baculovirus se realizó en cultivo de repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*) cultivar Escazú; además de una

tercera aplicación de PxNPV y *B. thuringiensis* en cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) cultivar Centennial.



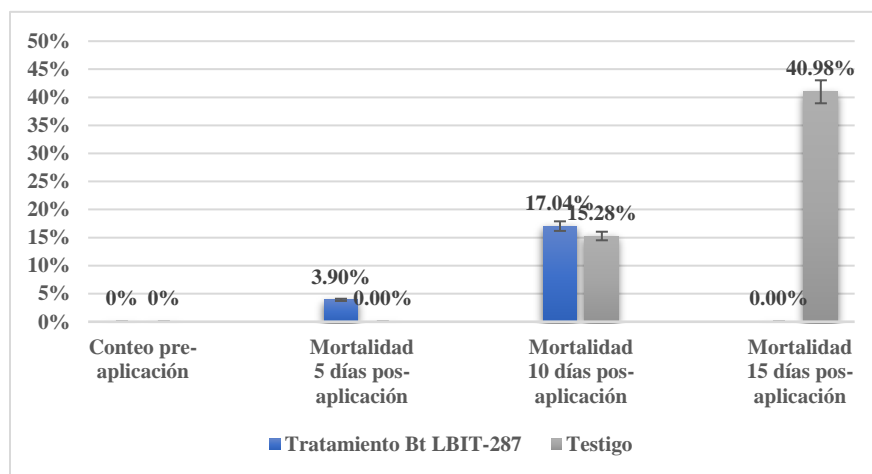
**Figura 9.** Porcentajes de mortalidad en larvas de *P. xylostella*, obtenidos con formulación líquida de baculovirus PxNPV,  $9.06 \times 10^{10}$  OBs para 255m<sup>2</sup> de cultivo de brócoli, localidad Providencia de Pérez, Irapuato, Guanajuato.

**Cuadro 2.** Análisis de varianza (ANOVA) de porcentajes de mortalidad en larvas de *Plutella xylostella* en cultivo de brócoli tratado con baculovirus PxNPV formulación líquida, condiciones de campo, localidad Providencia de Pérez.

	Tratamiento PxNPV 9.06x10 <sup>10</sup> OB's	Testigo
% Mortalidad 5 días pos-aplicación	47.37 a	0.00 c
% Mortalidad 10 días pos-aplicación	21.06 bc	0.00 c
% Mortalidad 15 días pos-aplicación	30.53 b	10.53 c

Diferentes literales por columna en Tratamiento PxNPV y en Testigo indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ) utilizando la prueba de Tukey.

En cuanto a la primer aplicación de formulación líquida suspensión de baculovirus PxNPV (Fig. 9), en la localidad Providencia, se observó una variación de mortalidad de 21.06 a 47.37% en los tres conteos realizados pos-aplicación (5, 10 y 15 días); la mayor mortalidad se registró a los 5 días pos-aplicación con 47.37% y la menor, de 21.06% se observó a los 10 días pos-aplicación, ambos en comparación con su grupo testigo que no registró mortalidad; adicional a esto, a los 15 días pos-aplicación se observó un aumento en la mortalidad, registrando 30.53%, sin embargo el grupo testigo observó el mismo fenómeno con 10.53%; por último, el análisis de varianza (Cuadro 2) mostró diferencias significativas entre los 5 y 15 días pos-aplicación con respecto al grupo testigo correspondiente.



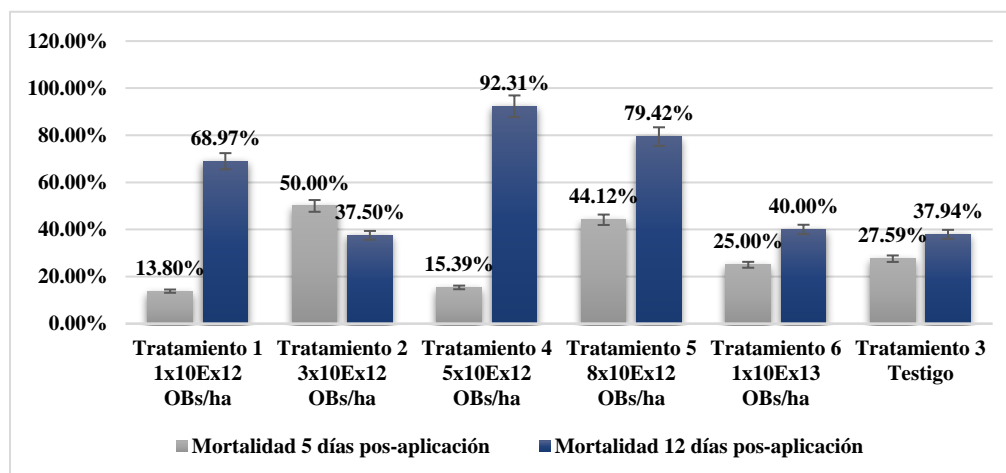
**Figura 10.** Porcentajes de mortalidad en larvas de *P. xylostella*, obtenidos con formulación líquida de *B. thuringiensis* LBIT-287 105mg totales para 33m<sup>2</sup> de cultivo de brócoli, localidad Providencia de Pérez, Irapuato, Guanajuato.

Respecto a la aplicación de formulación líquida suspensión de *B. thuringiensis* cepa LBIT-287, en la localidad Providencia (Fig.10), se observó una variación de mortalidad de 3.9 a 17.04% a los 5 y 10 días pos-aplicación, sin embargo, también se observó efecto de mortalidad en el grupo testigo a los 10 y 15 días pos-aplicación siendo en este último el mayor porcentaje con 40.98% en comparación con el tratamiento; aunado a esto, el análisis de varianza no arrojó diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Análisis de varianza (ANOVA) de porcentajes de mortalidad en larvas de *P. xylostella* en cultivo de brócoli tratado con *Bacillus thuringiensis* LBIT-287 formulación líquida, condiciones de campo, localidad Providencia de Pérez.

	Tratamiento Bt LBIT-287 105mg	Testigo
% Mortalidad 5 días pos-aplicación	3.9 c	0.00 c
% Mortalidad 10 días pos-aplicación	17.04 b	15.28 c
% Mortalidad 15 días pos-aplicación	0.00 c	40.98 a

Diferentes literales por columna en Tratamiento Bt LBIT-287 y en Testigo indican diferencias significativas entre los tratamientos (P<0.05) utilizando la prueba de Tukey.



**Figura 11.** Porcentajes de mortalidad en larvas de *P. xylostella*, obtenidos con formulación líquida de baculovirus PxNPV, 6 tratamientos diferentes en cultivo de repollo, localidad San Francisco de la Charca, Irapuato, Guanajuato.

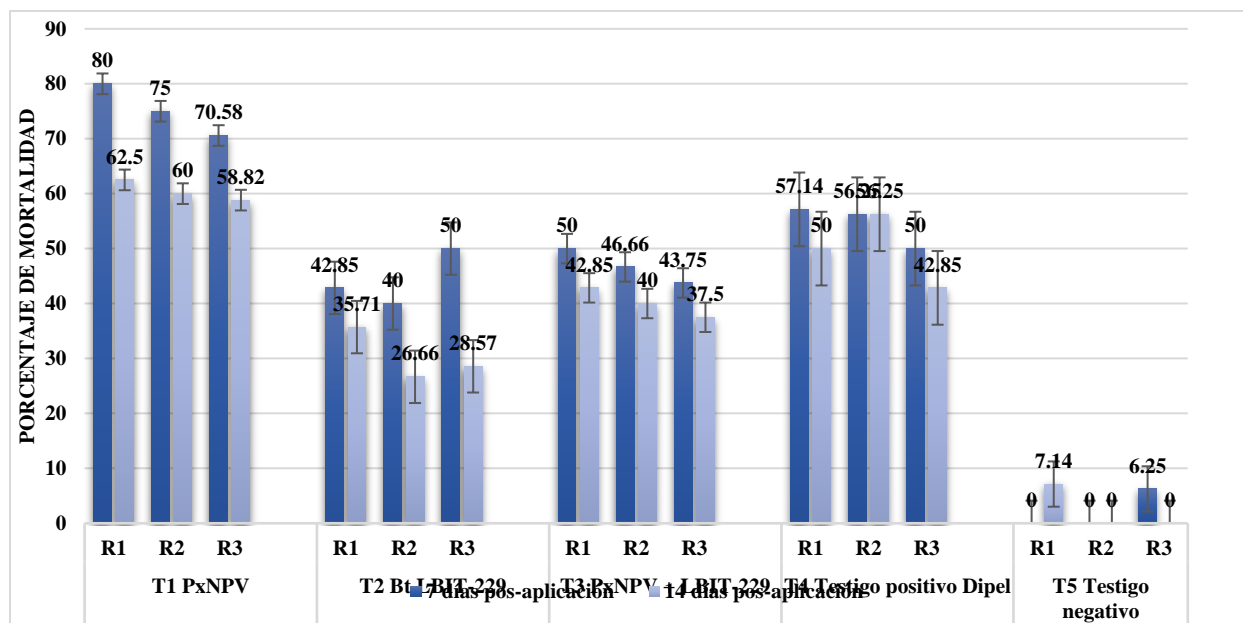
Para la segunda aplicación de formulación líquida de baculovirus PxNPV en cultivo de repollo, en localidad San Francisco (Fig. 11) se obtuvo una variación de mortalidad de 13.8 a 50% a los 5 días pos-aplicación y de 37.5 a 92.31% a los 12 días; la mayor mortalidad fue de 92.31% con el tratamiento 4 de 5x10<sup>12</sup> OBs/ha a los 12 días pos-aplicación y la menor fue de 13.8% para el tratamiento 1 de 1x10<sup>12</sup> OBs/ha a los 5 días pos-aplicación; por otro lado, los tratamientos 5 y 6, de 8x10<sup>12</sup> OBs/ha y 1x10<sup>13</sup> OBs/ha respectivamente, registraron una mortalidad considerable de 79.42% y 68.97%, ambos a los 12 días pos-aplicación; el análisis de varianza (Cuadro 4) a los 5 días pos-aplicación no mostró diferencias significativas de los tratamientos 2 y 5 pero estos fueron diferentes de los tratamientos 1, 4 y 6 que a su vez, no mostraron diferencias con el grupo testigo; por último, el análisis a los 12 días pos-aplicación registró diferencia significativa entre el tratamiento 4 y los tratamientos 1, 2, 5 y 6, sin embargo los tratamientos 1 y 5 no mostraron diferencias entre ellos y los tratamientos 2 y 6 compartieron igualdad estadística con el grupo testigo.

**Cuadro 4.** Análisis de varianza (ANOVA) porcentajes de mortalidad en larvas de *Plutella xylostella* en cultivo de repollo tratado con baculovirus PxNPV formulación líquida, condiciones de campo, localidad San Francisco de la Charca.

Tratamiento	% Mortalidad 5 días pos-aplicación	% Mortalidad 12 días pos-aplicación
1 1x10 <sup>12</sup> OBs/ha	13.80 c	68.97 b
2 3x10 <sup>12</sup> OBs/ha	50 a	37.5 c
4 5x10 <sup>12</sup> OBs/ha	15.39 c	92.31 a
5 8x10 <sup>12</sup> OBs/ha	44.12 a	79.42 b
6 1x10 <sup>13</sup> OBs/ha	25 bc	40 c
3 Testigo	27.59 bc	37.94 c

Diferentes literales por columna en %Mortalidad indican diferencias significativas entre los tratamientos (P<0.05) utilizando la prueba de Tukey.

Para la tercera aplicación se utilizaron formulaciones de polvo humectable de baculovirus PxNPV a razón de 6.12x10<sup>10</sup> OBs/30m<sup>2</sup> y de *B. thuringiensis* cepa LBIT-229 a razón de 2g/30m<sup>2</sup> en la localidad Santa Rita, se observó una variación de mortalidad de larvas *P. xylostella* de 80 a 26.6% durante los 7 y 14 días pos-aplicación (Fig. 12); en el tratamiento con baculovirus, se registró que, el mayor porcentaje de mortalidad fue a los 7 días pos-aplicación con 80% y el menor fue de 58.82% a los 14 días pos-aplicación; en el caso de la aplicación de *B. thuringiensis* LBIT-229 se registró una variación de mortalidad de 50 a 26.66%, siendo a los 7 y 14 días pos-aplicación respectivamente; en el tratamiento combinación de ambos entomopatógenos se observó variación de mortalidad de 50 a 37.5% a los 7 y 14 días pos-aplicación respectivamente, en comparación con el testigo positivo Dipel®, que demostró una mayor mortalidad de 57.14% a los 7 días pos-aplicación, y que a su vez también disminuyó a 42.85% a los 14 días pos-aplicación; en el caso del testigo negativo conformado por agua y coadyuvantes de formulación, se observó una variación de mortalidad de solo 6.25 a 7.14% a los 7 y 14 días respectivamente.



**Figura 12.** Porcentajes de mortalidad en larvas de *P. xylostella*, obtenidos con formulación polvo humectable de baculovirus P<sub>x</sub>NPV y *B. thuringiensis* LBIT-229, en cultivo de brócoli, localidad Santa Rita, Dolores Hidalgo, Guanajuato.

### CONCLUSIÓN

En el bajío mexicano la aplicación de formulaciones de baculovirus P<sub>x</sub>NPV ha mostrado efectividad para el control de larvas de *Plutella xylostella* en cultivos de brócoli, no así en combinación con *B. thuringiensis*. En la actualidad el uso de entomopatógenos para el control de plagas sigue siendo un área de oportunidad ya que es una práctica que aún no ha alcanzado su auge, esto debido a las tendencias de uso de insecticidas químicos por parte de los productores de crucíferas en la región.



## BIBLIOGRAFÍA

- Agboyi, L.K., Ketoh, G.K., Martin, T., Glitho, I.A., Tamo, M. (2016). Pesticide resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations from Togo and Benin. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 36(4): 204-210.
- Batista, Filho, A., Alves, S. B., Augusto, N. T., Pereira, R. M. Alves, L.F. (2001). Stability and persistence of two formulations containing *Anticarsia gemmatalis* nuclear polyhedrovirus (AgMNPV). *Neotrop. Entomol.* 30(3): 411-416.
- Bopape, M.J., Nofemela, R.S., Mosiane, M.S., Modise, D.M. (2017). Comparison of Biological and Chemical Control Methods in Suppressing *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) on Cabbage in South Africa. Mysore. *J. Agric. Sci. (Special Issue)*: 33-42.
- Del Rincón-Castro, M.C., Ibarra, J.E. (2011). *Entomopathogenic viruses*. Biological Control of Insect Pests, 1st ed. Studium Press, India, 29-64.
- Gong, W., Yan, H.H., Gao, L., Guo, Y.Y., Xue, C.B. (2014). Chlorantraniliprole resistance in the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Econ. Entomol.* 107(2): 806-814.
- Guo, L., Desneux, N., Sonoda, S., Liang, P., Han, P., Gao, X.W. (2013). Sublethal and transgenerational effects of chlorantraniliprole on biological traits of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. *Crop Prot.* 48: 29-34.
- Imran, M. (2018). Economic Insect Pests of *Brassica*. In *Brassica Germplasm: Characterization, Breeding and Utilization*, IntechOpen. pp 107.
- Philips, C.R., Fu, Z., Kuhar, T.P., Shelton, A.M., Cordero, R.J. (2014). Natural history, ecology, and management of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae), with emphasis on the United States. *J. Integr. Pest Manag.* 5(3): D1-D11.
- Soria, E.G., de la Garza Carranza, M.T., Rebollar-Rebollar, S., Martínez, J.H. (2016). La producción de brócoli bajo riego en Guanajuato, México: 1980-2011. *Revista Análisis Económico*, 31(78): 77-91.
- Tamez-Guerra, P., Zamudio, V., Martínez Carrillo, J.L., Rodríguez Padilla, C., Tamez-Guerra, R.S., Gómez Flores, R. A. (2006). Formulaciones granulares de baculovirus en combinación con abrillantadores ópticos para su empleo como bioinsecticida. *Ciencia UANL*, 9(2).
- Throne, J.E., Weaver, D.K., Chew, V., Baker, J.E. (1995). Probit analysis of correlated data: multiple observations over time at one concentration. *J. Econ. Entomol.* 88(5): 1510-1512.
- Vivanco-Estrada, R.A., Gavi-Reyes, F., Razo-Contreras, D., Sánchez-Rodríguez, E., Coria-Téllez, A. (2017). Incremento de calidad y menor costo de producción de brócoli (*Brassica oleracea* L.) mediante nutrición balanceada vía fertirriego. *Agroproductividad*, 10(9): 15-20.
- Webb, S.E., Niño, A., Smith, H.A. (2016). Manejo de Insectos en Crucíferas (Cultivos de Coles) (Brócoli, Repollo, Coliflor, Col, Col Rizada, Mostaza, Rábano, Nabos). Instituto de Alimentos y Ciencias Agrícolas, Universidad de Florida. ENY-481
- Zalucki, M.P., Shabbir, A., Silva, R., Adamson, D., Shu-Sheng, L., Furlong, M.J. (2012). Estimating the economic cost of one of the world's major insect pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Ecol. Entomol.* 105(4): 1115-1129.

## Obtención y caracterización de un hidrolizado de proteína de *Vigna radiata* L. (frijol mungo) con potencial Bioestimulante

F.C. Arámbula-Castillo, M. Zegbe-Rodríguez, C. Rivas-Morales, D.G. García-Hernández y E.D. Cabello-Ruiz\*

Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León.

\*[ethel.cabellorz@uanl.edu.mx](mailto:ethel.cabellorz@uanl.edu.mx)

### RESUMEN

La agricultura enfrenta el desafío de gran demanda alimenticia en un entorno desfavorable, debido al cambio climático. Los Bioestimulantes abarcan sustancias y microorganismos que "estimulan" el crecimiento y desarrollo de las plantas, mejoran la calidad del cultivo y la resistencia al estrés. Los Hidrolizados de Proteínas (HP) son "una mezcla de péptidos, oligopéptidos y aminoácidos, producto de digestión enzimática y/o química de harinas proteicas". *Vigna radiata* L. (Frijol Mungo) es una legumbre importante en países asiáticos y las actividades biológicas de los Hidrolizados de Proteína del Frijol Mungo (HPFM) han sido estudiadas con fines medicinales y/o nutricionales. El objetivo de este estudio fue obtener un HP de la Harina de *V. Radiata*, el cual posee potencial como Bioestimulante. La proteína fue extraída mediante la técnica "pH-Shift"; el producto se llevó a una hidrólisis enzimática y el Grado de Hidrólisis (GH%) se determinó con la reacción con ninhidrina, mostrando un 5.43% final. La Longitud de Cadena Polipeptídica mostró que el HPFM, tenía péptidos entre 11 y 18 AA (1,21kDa-1,98 kDa). Con lo anterior, es necesario optimizar las condiciones de extracción y reacción de hidrólisis. Este trabajo es una base para la evaluación de actividad como "bioestimulante" de esta leguminosa.

**Palabras clave:** *Vigna radiata* L., hidrolizado de proteína, bioestimulante

### ABSTRACT

Agriculture have the challenge of high food demand in an unfavorable environment due to climate change. Biostimulants include substances and microorganisms that "stimulate" the growth and development of plants, improve crop quality and resistance to stress. Protein Hydrolysates (HP) are "a mixture of peptides, oligopeptides and amino acids, product of an enzymatic and/or chemical digestion of protein flours". *Vigna radiata* L. (Mung Bean) is an important legume in Asian countries and the biological activities of Mung Bean Protein Hydrolysates (HPFM) have been studied for medicinal and/or nutritional purposes. The objective of this study was to obtain a HP of *V. radiata* flour, which has potential as a Biostimulant. The protein was extracted using the "pH-Shift" technique; the product was taken to an enzymatic hydrolysis and the Degree of Hydrolysis (GH%) was determined with the reaction with ninhydrin, showing a final 5.43%. The Polypeptide Chain Length showed that the HPFM had peptides between 11 and 18 AA (1,21kDa-1,98kDa). With the above, it is necessary to optimize the extraction and hydrolysis reaction conditions. This work is a basis for the evaluation of activity as a "biostimulant" of this legume.

**Keywords:** *Vigna radiata* L., protein hydrolysates, biostimulants

## INTRODUCCIÓN

Ante una tendencia de crecimiento que prevé una sobrepoblación mundial para el año 2050, una de las mayores preocupaciones es la seguridad alimentaria y la demanda por energía y recursos. Como respuesta a esta problemática, la búsqueda de sustancias que puedan ser una alternativa a los agroquímicos utilizados en la actualidad está en aumento.

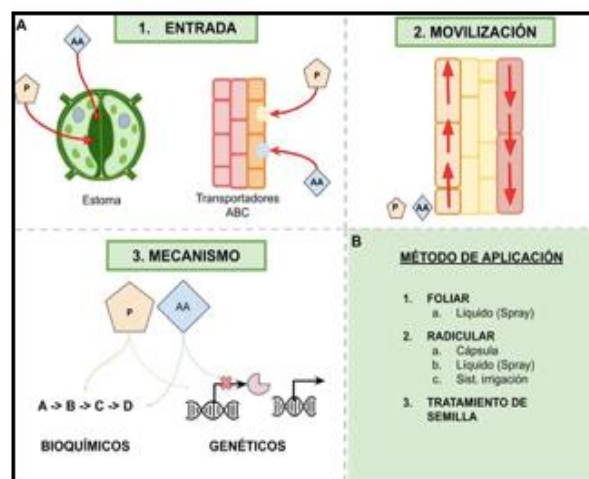
En este sentido, la Biotecnología ha respondido a esta problemática ofreciendo diferentes tecnologías que buscan introducir la “sostenibilidad” a las prácticas agrícolas tradicionales. Por ejemplo, los “Bioestimulantes” son sustancias y/o microorganismos que ‘estimulan’ el crecimiento y el desarrollo de las plantas, además de mejorar la calidad del cultivo e incrementar la resistencia a estrés biótico y abiótico (Shahrajabian *et al.*, 2021).

Un tipo de bioestimulantes son precisamente los Hidrolizados de Proteínas (HP), los cuales son obtenidos a partir de residuos agropecuarios. Estos contienen una mezcla de aminoácidos, péptidos y polipéptidos que influyen en la fisiología vegetal de planta a causa de los diversos mecanismos de acción que ejercen en diferentes etapas del ciclo de vida de la planta. Estos suelen ser aplicados en todas las etapas de crecimiento de la planta por medio de hojas, raíces y/o como tratamientos de semilla (Yakhin *et al.*, 2017). Después de su aplicación se cree que tanto péptidos como aminoácidos, entran por medio de poros en la membrana celular, estomas y/o de transportadores en la raíz (Nardi *et al.*, 2016). Una vez dentro de la planta, viajan por medio del sistema vascular y llegan hasta el “sitio de acción”, donde participan en diferentes procesos (Yakhin *et al.*, 2017) (Fig. 1).

El estudio de los HP, y en especial de sus componentes, ha derivado en que estos sean utilizados en las formulaciones de productos que se encuentran ya en el mercado. Tal es el caso de las leguminosas, especialmente, de la Soya (*Glycine max* L.) quien es el más estudiado hasta la fecha. La compañía Italtollina™ sacó al mercado un bioestimulante de origen vegetal hecho a partir de la hidrólisis enzimática de proteínas de leguminosas, conocido como Trainer® (Caruso *et al.*, 2019). El contenido de este producto y sus efectos, han sido estudiados en *Zea mays* L., *Pisum sativum* L., y *Solanum lycopersicum* L., mostrando una actividad hormonal como auxina y giberelina (Colla, Roupael, Canaguier *et al.*, 2014).

Trainer® contiene un péptido pequeño de 12 aminoácidos que promueve el crecimiento de la raíz al aumentar y elongar el número de vellos. Este péptido es conocido como “Péptido Promotor de los Vellos Absorbentes” y previamente, fue identificado en HP de Soya (*Glycine max* L.) (Colla, Roupael, Canaguier *et al.*, 2014; Matsumiya & Kubo, 2011).

*Vigna radiata* L., mejor conocido como Frijol Mungo (FM), es un cultivo de gran importancia cultural y económica pues es utilizado ampliamente por la medicina tradicional, en la



**Figura 1.** Resumen de los métodos de aplicación de los HP (B) y representación de la entrada (A1) de los aminoácidos y péptidos al tejido vegetal, su transportación por el sistema vascular de la planta (A2) y los mecanismos (A3) realizados una vez que se encuentran dentro del tejido vegetal. AA = Aminoácido, P = Péptidos.

nutrición, para la elaboración de fitofármacos, así como de alimentos funcionales y/o nutraceuticos. Sin olvidar que también son usados por la cosmética y formar parte de productos para el cuidado de la piel (Tang *et al.*, 2014). Hoy en día, se sabe que tiene actividades biológicas como la antioxidante, antidiabética, antimicrobiana, antihipertensiva y antiinflamatoria, entre otras (Ganesan & Xu, 2018). Estas actividades están adjudicadas a compuestos bioactivos encontrados en las semillas, hojas y tallos (Bai *et al.*, 2016) como lo son los polisacáridos y péptidos (Hou *et al.*, 2019).

**Tabla I:** Péptidos con actividades biológicas encontrados en el HPFM.

Hidrolizado / Fracción	Actividad	Péptido (s)	Cita
Hidrolizado	Antihipertensiva (Inhibición de ECV)	KDYRL, VTPALR, KLPAGTLF	Li, Le <i>et al.</i> , 2005
Fracción (< 3 kDa)	Antioxidante	WGN, AW, RGWYE, GVPFW	Xia <i>et al.</i> , 2020

En este sentido, el FM tiene un alto contenido proteico (20.97%-31.32%) (Yi-shen *et al.*, 2018), el cual sobrepasa de otras legumbres. De este porcentaje, el 85% lo forman proteínas de reserva como las albuminas, globulinas y prolaminas, mientras que el restante está conformado por proteínas que no han sido identificadas hasta la fecha (Viernes *et al.*, 2012). De hecho, Sarkar *et al.* (2011) encontró que el peptidoma del FM, compuesto de péptidos con un tamaño de entre 3.0 a 5.0 kD, tenía la capacidad de inducir la división celular de *Allium cepa* L. A la fecha, han sido aislados pocos péptidos y proteínas de hidrolizados de proteínas de frijol mungo (HPFM) con actividades biológicas (Tabla I).

A pesar de que algunas de las actividades biológicas de los HP de *V. radiata* ya han sido determinadas, su posible aplicación como bioestimulante aún falta por evaluarse. Por ello, el propósito de este trabajo fue obtener un HP de *V. radiata* a partir de la semilla, utilizando la enzima Alcalasa 2.4L y determinar su Grado de Hidrolisis (GH) para su posible aplicación como BS en el crecimiento de plantas de importancia alimenticia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención de la harina de Frijol Mungo desengrasada (HFMD)

Las semillas de Frijol Mungo (FM) fueron compradas de un distribuidor local, lavadas con agua destilada y dejadas secar toda la noche. Después del lavado, las semillas fueron molidas en un procesador de alimentos para obtener una harina, a la cual se le denominó Harina de Frijol Mungo (HFMD).

Una vez conocido el contenido de proteína en la harina, se prosiguió a su desengrasado, para lo cual se agregó Hexano en una proporción 1:5, y se mantuvo en agitación constante a 4000 rpm x 12 h. Posteriormente, fue dejada en reposo por 72 h para eliminar el solvente. A la harina resultante se le llamó Harina Frijol Mungo Desengrasada (HFMD).

### Determinación del contenido total de proteína de la HFMD

Para conocer el contenido de proteína total en la HFMD, se realizó un Monitoreo de Proteína Total (MPT) empleando el método de Kjeldahl. Para ello se agregó en un sobre de papel cera 8 g de la HFMD, 1.2 g de  $K_2SO_4$ , 0.9 g de  $CuSO_4$  y 0.01 g de  $HgO$ , el cual fue colocado al interior de un matraz Kjeldahl y puesto en la estufa para su carbonización. Después del cambio de color se retiró del fuego y se destiló. Posterior a esto, se llevó a cabo la titulación con Ácido Clorhídrico (HCl 0.1 N). Finalmente, se utilizaron dos fórmulas para conocer el Porcentaje de Nitrógeno (Ec. 1) y el Porcentaje de Proteína (Ec. 2) (Li *et al.*, 2014). El Factor de conversión específico utilizado fue de 6.40 (Estrella-Romo, 2008).

$$\text{Ec.1} \quad \% \text{ Nitrógeno} = \frac{(\text{mL de HCl})(\text{Factor de HCl})}{\text{g de muestra}}$$

$$\text{Ec.2} \quad \% \text{ Proteína} = (\% \text{ Nitrógeno})(\text{Factor de conversión específico})$$

### Preparación del aislado de proteína de Frijol Mungo (APFM)

A partir de la HFMD, se realizó la extracción de proteínas por medio de la técnica pH-shift (Hou *et al.*, 2019). La HFMD fue disuelta en agua destilada (pH 9.0) en una proporción 1:10, bajo agitación constante durante 35 min. Después, la solución fue centrifugada a 4000 rpm x 20 min. En seguida, se recolectó el sobrenadante y se ajustó a pH 4.5 con HCl 2N para precipitar la proteína. Una vez precipitado, nuevamente fue centrifugado a 4000 rpm x 20 min, recuperando con ello el Aislado Proteína Frijol Mungo (APFM) (Valencia *et al.*, 2014), el cual fue resuspendido en agua destilada a pH 7 con NaOH 1N.

### Hidrólisis del APFM con la enzima Alcalasa 2.4 L

Se partió de una solución al 2% de APFM y agua destilada, la cual fue dejada reposar en una incubadora hasta alcanzar una temperatura interna de 55°C. Posteriormente, fue ajustada a pH 8.0 con NaOH 1N y tomada una muestra de 2 mL como control. En seguida, se agregaron 55.5 µL de Alcalasa 2.4L e introducida nuevamente a la incubadora. La reacción se dejó correr a 55°C x 120 min. Cada 20 min (incluyendo el tiempo 0) se tomaron alícuotas de 2 mL para determinar el Grado de Hidrólisis, para lo cual cada muestra fue puesta en un baño de agua a 90°C x 20 min (Sbroggio *et al.*, 2016).

### Determinación del grado de hidrólisis (GH%)

Se prepararon soluciones estándar de 50 µM de Prolina y Leucina con Ácido acético (0.05%), a partir de las cuales se prepararon disoluciones de 0.00 µmol/mL hasta 2.00 µmol/mL, con la finalidad de obtener la curva patrón de estos aminoácidos.

Después, se agregó 1 mL de Ninhidrina (2%) en tubos de ensaye de cada una de las soluciones preparadas previamente. Los tubos fueron puestos en un baño de agua a 90°C x 10 min y dejados enfriar a temperatura ambiente. En seguida, se agregaron 5 mL de Etanol (95%) a cada uno de los tubos y se llevaron a realizar las lecturas en el espectrofotómetro, en donde primeramente fue calibrado con un control negativo que contenía 2

mL de agua destilada y 1 mL de Ninhidrina, posteriormente las muestras y el control fueron leídas a 570 y 440 nm. Con ello fueron obtenidas las curvas de calibración y consecuentemente las ecuaciones de la recta.

Las muestras recolectadas en los tiempos 0, 20, 40, 60, 80, 100 y 120 min junto con los controles fueron centrifugados a 1000 rpm x 15 min, con el fin de recuperar el sobrenadante. Estos últimos se agregaron en tubos de ensayo, además de 1 mL de Ninhidrina. En seguida, los tubos fueron puestos en un baño de agua a 90°C x 10 min y transcurrido este tiempo, dejados enfriar a temperatura ambiente (Sonklin *et al.*, 2011; Zheng *et al.*, 2020). Después, se agregaron 5 mL de Etanol (95%) a cada uno de los tubos y fueron leídos a 570 y 440 nm.

Finalmente para conocer el Grado de Hidrólisis (GH%), se utilizó la metodología ya reportada (Leni *et al.*, 2020; Sonklin *et al.*, 2011; Zheng *et al.*, 2020). Las absorbancias fueron corregidas con la obtenida del control positivo, el cual contenía Ninhidrina y 2 mL de proteína (2%). Para conocer la cantidad de aminoácidos liberados se empleó la siguiente fórmula (Ec.3):

$$\text{Ec. 3} \quad h = \frac{(A \times b)}{m}$$

En el que  $h$  indica los equivalentes de enlaces peptídicos hidrolizados,  $A$  es la suma de las absorbancias a 570 y 440 nm para cada tiempo, y  $b$  es la pendiente y  $m$  es el intercepto obtenido de la ecuación de la recta.

Para calcular el Grado de Hidrólisis (GH%) se usó la Ec. 4

$$\text{Ec. 4} \quad GH\% = \frac{h}{htot} \times 100$$

En donde  $h$  es el valor obtenido anteriormente,  $htot$  es número total de enlaces peptídicos. En este caso se utilizó 8 amino mEq/g de proteína.

### Determinación de la Longitud de la Cadena Polipeptídica (LCP)

Finalmente, se utilizó el GH% obtenido anteriormente para conocer el LCP empleando la Ec. 5:

$$\text{Ec. 5} \quad LCP = \frac{100}{GH\%}$$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Obtención de HFMD

Por diferencia de peso, se encontró que después de la eliminación del hexano la HFMD contenía un 83% menos de lípidos. Esto significa que no fueron removidos por completo los lípidos de la HFM.

### Determinación del contenido total de proteína de la HFMD

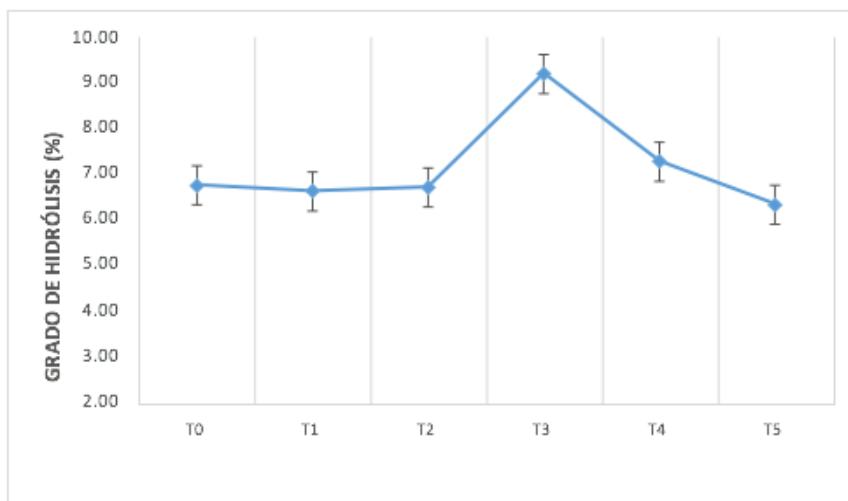
Las semillas del FM poseen un gran contenido proteico, en especial de proteínas de reserva (Yi-Shen *et al.*, 2018). Los resultados de la determinación por medio del método de Kjeldahl de la HFMD mostraron algo diferente, ya que se obtuvo un 15% de Proteína Cruda (PC). Este porcentaje también difiere con lo obtenido por Prachansuwan *et al.* (2019) quienes utilizando el mismo método, encontraron que la Harina de Frijol Mungo contenía un 26% de proteína cruda. En este último trabajo utilizaron un Factor de Conversión (FC) de N<sub>2</sub> a Proteína de 6.25, el cual subestima el contenido y la forma real en la que se encuentra el N<sub>2</sub> (Mæhre *et al.*, 2018). Por esta razón, se decidió utilizar el FC de 6.40 corregido por Estrella-Romo (2008), que toma en cuenta tanto el contenido de N<sub>2</sub> proteico como el no proteico y la forma anhidra de los AA en la cadena polipeptídica.

Aun con la diferencia del FC, es notable el contraste del porcentaje de PC oscilando en casi el 9%. Dicha diferencia puede deberse a que el contenido de PC fluctúa en función de la variedad o el cultivar de *V. radiata* (Li *et al.*, 2010) e inclusive por el mismo manejo postcosecha que pudo haber tenido la semilla, ya que el contenido nutricional cambia en esta etapa (Yousaf *et al.*, 2016).

Por otro lado, la diferencia del contenido de proteína puede verse afectado por la manipulación durante la preparación de la muestra, puesto que una buena molienda de la muestra permitiría una mayor lisis celular y por tanto una mayor liberación de proteínas (Lee, 2017).

### Preparación APFM

El APFM contenía 2.7 g de proteína, con lo cual se obtuvo un rendimiento del 90%. Este porcentaje es mayor a lo obtenido por Wang *et al.* (2011) quien obtuvo un rendimiento promedio de 77.60%. Los resultados mostrados en este trabajo podrían deberse a que el pH utilizado para la solubilización y extracción (Ni *et al.*, 2020) favorecieron la extracción. Ciertamente un pH alcalino permite que los radicales de los aminoácidos interactúen con las moléculas de agua, mientras que un pH ácido impide esto último, permitiendo que los AA sean desionizados y precipiten (Yi-shen *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2020).



**Figura 2.** Reacción enzimática de la Alcalasa 2.4 L sobre el APFM. No existieron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes

### Hidrólisis del APFM con la enzima Alcalasa 2.4 L

En la Fig. 2 se muestra la gráfica resultante de la hidrólisis del APFM con la Alcalasa 2.4L y es posible observar que muestra un comportamiento atípico. En el trabajo de Li *et al.* (2005) encontraron que la hidrólisis de una

HFMD con la enzima Alcalasa presentaba un crecimiento exponencial durante las primeras 2 h, llegando a la zona “meseta” después de este tiempo; además que no mostraba un GH inicial, como fue observado en el T0.

Después del GH inicial (5.96%), la reacción se mantuvo estable durante el T1 (5.79%) y T2(5.90%). Es posible que a lo largo de estos tiempos parte del sustrato se encontrara todavía en su forma “nativa”, lo cual impediría a la Alcalasa formar el complejo enzima-sustrato y por lo tanto hidrolizar (Benítez *et al.*, 2008).

El punto máximo de la reacción fue alcanzado en el T3 (8.99%) después del cual la reacción comenzó a decaer, como puede ser apreciado en el tiempo T4 (6.60%) y T5 (5.43%).

### **Determinación del grado de hidrólisis (GH%)**

Como fue mencionado anteriormente, el inicio de la reacción (T0) mostró un cierto GH%. El autor Benítez *et al.*, (2008) explica que esto ocurre ya que, al principio de la reacción la enzima se encuentra en “exceso” y todo el sustrato está “disponible” para ser hidrolizado. Además, la muestra podría ya tener un cierto GH% debido al mismo proceso de extracción puesto que, los cambios en el pH afectan la conformación de las proteínas (Valenzuela *et al.*, 2013).

El mayor número de enlaces peptídicos fueron hidrolizados en el T3 (Fig.2). Benítez *et al.*, (2008) explica que aumentó la disponibilidad de sitios de acción para ser hidrolizados. Esto implicaría también que ocurrieron cambios estructurales en las proteínas puesto que, los AA hidrofóbicos se encuentran en el interior de la proteína (Malleshappa- Gowder *et al.*, 2014) y como fue mencionado anteriormente, la Alcalasa actúa AA hidrofóbicos (Benítez *et al.*, 2008).

El decaimiento de la reacción de hidrólisis a partir del T4 podría estar asociado con la presencia de polifenoles en la muestra puesto que, la extracción de proteínas por medio de la técnica “pH-shift” propicia también su extracción (Li *et al.*, 2014) y podrían estar participando en la reacción de hidrólisis al unirse con la proteasa e inactivarla (Ni *et al.*, 2020) o bien pudo haber ocurrido una inhibición por los mismos péptidos resultantes de la hidrólisis (Awuor *et al.*, 2017).

### **Determinación de la Longitud de la Cadena Polipeptídica (LCP)**

La Longitud de la Cadena Polipeptídica (LCP) nos da una idea de la cantidad de AA que componen los péptidos resultantes de la hidrólisis (Benítez *et al.*, 2008). En este caso, se obtuvieron péptidos pequeños de entre 11 y 18 AA (1.21 kDa -1.98 kDa) (Tabla II), lo cual está acorde a lo mencionado por (Famuwagun *et al.*, 2021) al mencionar que la Alcalasa produce péptidos de cadenas cortas.

En el trabajo de (Chunkao *et al.*, 2020) encontraron péptidos de entre 0.19 kDa y 6.59 kDa en fracciones de *V. radiata* hidrolizadas con Alcalasa. Si bien son necesarios mayores estudios, es importante conocer el tamaño de los péptidos puesto que, existe una relación entre este parámetro y su actividad biológica (Bumrungsart & Duangmal, 2019; Famuwagun *et al.*, 2021).



**Tabla II:** Promedio y distribución de la LCP en función del GH%.

Tiempo	LCP	
	AA	kDa
T0	17	1.87
T1	17	1.87
T2	17	1.87
T3	11	1.21
T4	15	1.65
T5	18	1.98

## CONCLUSIÓN

La HFM, realizada a partir de semillas de FM, fue desengrasada un 83% con Hexano logrando obtener de esta manera una HFMD. La HFMD contiene un 15% de Proteína Cruda, determinado por medio del método de Kjeldahl. De este porcentaje se logró extraer un 90% de proteína (2.7 g) con lo cual se obtuvo un APFM.

La hidrólisis del APFM con la Alcalasa 2.4L y la determinación del GH% con la Ninhidrina permitió tener un hidrolizado con un GH% final de 5.43%, a pesar de observar una curva atípica. Además, el HPFM contenía péptidos de entre 11 y 18 AA (1.21 kDa -1.98 kDa), los cuales podrían ser los responsables de algunas actividades biológicas ya reportadas.

Si bien se obtuvieron buenos resultados, es necesario la optimización de los parámetros empleados para la precipitación de proteínas para aumentar el porcentaje de extracción, así como las condiciones de la reacción enzimática para favorecer la hidrólisis de la proteína.

Tomando en cuenta lo anterior, este trabajo funge como base para el próximo estudio de la actividad bioestimulante del HPFM, específicamente, sobre el crecimiento (germinación) de plantas de importancia alimenticia.

## BIBLIOGRAFÍA

- Awuor, O. L., Edward Kirwa, M., Betty, M., & Jackim, M. F. (2017). Optimization of Alcalase hydrolysis conditions for production of Daga ( *Rastrineobola argentea* ) Protein hydrolysate with antioxidative properties. *Industrial Chemistry*, 03(01). <https://doi.org/10.4172/2469-9764.1000122>
- Bai, Y., Xu, Y., Chang, J., Wang, X., Zhao, Y., & Yu, Z. (2016). Bioactives from stems and leaves of mung beans (*Vigna radiata* L.). *Journal of Functional Foods*. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.06.009>
- Benítez, R., Ibarz, A., & Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteína: Procesos y aplicaciones. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 42(2), 227–236.
- Bumrungsart, N., & Duangmal, K. (2019). Optimization of Enzymatic Hydrolysis Condition for Producing Black Gram Bean (*Vigna mungo*) Hydrolysate with High Antioxidant Activity. In *Food and Applied Bioscience Journal* (Issue 7).
- Caruso, G., de Pascale, S., Cozzolino, E., Giordano, M., El-Nakhel, C., Cuciniello, A., Cenvinzo, V., Colla,

- G., & Rouphael, Y. (2019). Protein hydrolysate or plant extract- based biostimulants enhanced yield and quality performances of greenhouse perennial wall rocket grown in different seasons. *Plants*, 8(7), 1–18. <https://doi.org/10.3390/plants8070208>
- Chunkao, S., Youravong, W., Yupanqui, C. T., Alashi, A. M., & Aluko, R. E. (2020). Structure and function of mung bean protein- derived iron-binding antioxidant peptides. *Foods*, 9(10), 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods9101406>
- Colla, G., Rouphael, Y., Canaguier, R., Svecova, E., & Cardarelli, M. (2014). Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. *Frontiers in Plant Science*, 5(September), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00448>
- Estrella-Romo, D. A. (2008). *Amino acid composition and nitrogen to protein conversion factors for three legumes and two pseudo-cereals*.
- Famuwagun, A. A., Alashi, A. M., Gbadamosi, S. O., Taiwo, K. A., Oyedele, D., Adebooye, O. C., & Aluko, R. E. (2021). Effect of protease type and peptide size on the in vitro antioxidant, antihypertensive and anti-diabetic activities of eggplant leaf protein hydrolysates. *Foods*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/foods10051112>
- Ganesan, K., & Xu, B. (2018). *Food Science and Human Wellness*, 7, 11–33.
- Hou, D., Yousaf, L., Xue, Y., Hu, J., Wu, J., Hu, X., Feng, N., & Shen, Q. (2019). Mung bean (*Vigna radiata* L.): Bioactive polyphenols, polysaccharides, peptides, and health benefits. In *Nutrients* (Vol. 11, Issue 6). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu11061238>
- Lee, C. H. (2017). A simple outline of methods for protein isolation and purification. *Endocrinology and Metabolism*, 32(1), 18–22. <https://doi.org/10.3803/EnM.2017.32.1.18>
- Leni, G., Soetemans, L., Caligiani, A., Sforza, S., & Bastiaens, L. (2020). Degree of hydrolysis affects the techno-functional properties of lesser mealworm protein hydrolysates. *Foods*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/foods9040381>
- Li, G. H., Le, G. W., Liu, H., & Shi, Y. H. (2005a). Mung-bean protein hydrolysates obtained with alcalase exhibit angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity. *Food Science and Technology International*. <https://doi.org/10.1177/1082013205056781>
- Li, W., Shu, C., Yan, S., & Shen, Q. (2010). Characteristics of sixteen mung bean cultivars and their protein isolates. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(6), 1205–1211. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02259.x>
- Li, X., Huang, J., Wang, Z., Jiang, X., Yu, W., Zheng, Y., Li, Q., & He, N. (2014). Alkaline extraction and acid precipitation of phenolic compounds from longan (*Dimocarpus longan* L.) seeds. *Separation and Purification Technology*, 124, 201–206. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.01.030>
- Mæhre, H. K., Dalheim, L., Edvinsen, G. K., Elvevoll, E. O., & Jensen, I. J. (2018). Protein determination—method matters. *Foods*, 7(1). <https://doi.org/10.3390/foods7010005>
- Mallesappa Gowder, S., Chatterjee, J., Chaudhuri, T., & Paul, K. (2014). Prediction and analysis of surface hydrophobic residues in tertiary structure of proteins. *The Scientific World Journal*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/971258>
- Matsumiya, Y., & Kubo, M. (2011). Soybean Peptide: Novel Plant Growth Promoting Peptide from Soybean. *Soybean and Nutrition*, 215–230. <https://doi.org/10.5772/32009>
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M., & Ertani, A. (2016). Plant biostimulants: Physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. *Scientia Agricola*, 73(1), 18–23. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0006>

- Ni, H., Hayes, H., Stead, D., Liu, G., Yang, H., Li, H., & Raikos, V. (2020). Interaction of whey protein with polyphenols from salal fruits (*Gaultheria shallon*) and the effects on protein structure and hydrolysis pattern by Flavourzyme®. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(3), 1281–1288. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14394>
- Prachansuwan, A., Kriengsinyos, W., Judprasong, K., Kovitvadhi, A., & Chundang, P. (2019). Effect of different pre-boiling treatment on in vitro protein and amino acid digestibility of mung beans [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. *Malaysian Journal of Nutrition*, 25(3), 361–375. <https://doi.org/10.31246/mjn-2019-0046>
- Sbroggio, M. F., Montilha, M. S., Figueiredo, V. R. G. de, Georgetti, S. R., & Kurozawa, L. E. (2016). Influence of the degree of hydrolysis and type of enzyme on antioxidant activity of okara protein hydrolysates. *Food Science and Technology*, 36(2), 375–381. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.000216>
- Sonklin, C., Laohakunjit, N., & Kerdchoechuen, O. (2011). Physicochemical and flavor characteristics of flavoring agent from mungbean protein hydrolyzed by bromelain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(15), 8475–8483.
- Tang, D., Dong, Y., Ren, H., Li, L., & He, C. (2014). A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common food mung bean and its sprouts (*Vigna radiata*). In *Chemistry Central Journal*. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-8-4>
- Valencia, P., Pinto, M., & Almonacid, S. (2014). Identification of the key mechanisms involved in the hydrolysis of fish protein by Alcalase. *Process Biochemistry*, 49(2), 258–264. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.11.012>
- Valenzuela, C., Abugoch, L., Tapia, C., & Gamboa, A. (2013). Effect of alkaline extraction on the structure of the protein of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and its influence on film formation. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 843–849. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12035>
- Viernes, L. B. G., Garcia, R. N., Torio, M. A. O., & Angelia, M. R. N. (2012). Antihypertensive peptides from vicilin, the major storage protein of mung bean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek). *Journal of Biological Sciences*, 12(7), 1–7. <https://doi.org/10.3923/jbs.2012.393.399>
- Wang, M., Jiang, L., Li, Y., Liu, Q., Wang, S., & Sui, X. (2011). Optimization of extraction process of protein isolate from mung bean. *Procedia Engineering*, 15, 5250–5258. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2011.08.973>
- Xia, J., Song, H., Huang, K., Li, S., & Guan, X. (2020). Purification and characterization of antioxidant peptides from enzymatic hydrolysate of mungbean protein. *Journal of Food Science*, 85(6), 1735–1741. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15139>
- Yakhin, O. I., Lubyantsev, A. A., Yakhin, I. A., & Brown, P. H. (2017). Biostimulants in plant science: A global perspective. *Frontiers in Plant Science*, 7(January), 2049. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02049>
- Yi-shen, Z., Shuai, S., & Fitzgerald, R. (2018). Mung bean proteins and peptides: nutritional, functional and bioactive properties. *Food & Nutrition Research*, 62, 1–11. <https://doi.org/10.29219/fnr.v62.1290>
- Yousaf, Z., Saleh, N., Ramazan, A., & Aftab, A. (2016). Postharvesting Techniques and Maintenance of Seed Quality. *New Challenges in Seed Biology - Basic and Translational Research Driving Seed Technology*. <https://doi.org/10.5772/64994>
- Zheng, Z., Wang, M., Li, J., Li, J., & Liu, Y. (2020). Comparative assessment of physicochemical and antioxidative properties of mung bean protein hydrolysates. *RSC Advances*, 10(5), 2634–2645. <https://doi.org/10.1039/c9ra06468k>

## Caracterización química de un fermentado a base de moringa y sábila

E.C. Morales-González\*<sup>1</sup>, J.P. Hernández-Rodríguez<sup>1</sup>, G. Méndez-Zamora<sup>1</sup>, C. García-Gómez<sup>1</sup>, J.M. Márquez-Reyes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UANL, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Laboratorio de Biotecnología Microbiana. Francisco I. Madero S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México. \*[carolinamoralesg@outlook.com](mailto:carolinamoralesg@outlook.com)

### RESUMEN

La kombucha es una bebida fermentada formada de una simbiosis de bacterias y levaduras compuesta mediante la infusión de hojas de té por fermentación de sustratos azucarados que forman una masa gelatinosa de celulosa bacteriana en la parte superior de la bebida, denominada SCOBY (Cultivo Simbiótico de Bacterias y Levaduras). Actualmente, existen variaciones de kombucha realizadas con adición de jugos de frutas, leche, etc, lo que ocasiona que hoy en día se busquen diferentes sustratos. El objetivo de ésta investigación fue evaluar el comportamiento del pH, acidez y grados brix de un fermentado no alcohólico elaborado a partir de diferentes combinaciones de sábila y moringa. Se realizaron 11 tratamientos con diferentes concentraciones de moringa, dextrosa y sábila a los cuales se les determinó pH, acidez y turbidez durante los 12 días de fermentación. Los tratamientos T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>7</sub> y T<sub>8</sub> obtuvieron un pH de 4.7-7.0 y una acidez de 1.2-1.6%. El resto de los tratamientos obtuvieron valores de pH bajos de 3.2, favoreciendo la producción de altas concentraciones de ácidos orgánicos. La turbidez no mostró cambios significativos durante la fermentación. La menor concentración de moringa y la combinación de dextrosa y sábila en la misma proporción favorecieron las mejores condiciones de pH y acidez para la fermentación de la kombucha.

**Palabras clave:** kombucha, fermentación, sábila, moringa.

### ABSTRACT

Kombucha is a fermented beverage produced from a symbiosis of bacteria and yeasts composed of infusing tea leaves by fermentation of sugary substrates that form a gelatinous mass of bacterial cellulose on top of the drink, called SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast). There are many variations of kombucha made with fruit juices, milk, etc. Nowadays, different substrates are needed. The objective of this research was to evaluate the behavior of pH, acidity and brix degrees of a non-alcoholic fermented product made from aloe vera and moringa. There 11 treatments were made with different concentrations of moringa, dextrose, and aloe vera, to which pH, acidity, and turbidity were analyzed during 12 days of fermentation. The treatments T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>7</sub>, and T<sub>8</sub> obtained an acidity between 1.2-1.6% and pH of 4.7-7.0. The rest of the treatments obtained quantities up to 3.2, due to its low pH caused by microorganisms and their ability to produce higher amounts of organic acids. On the other hand, turbidity did not significantly differ during the fermentation. Therefore, the lower concentration of moringa, dextrose, and aloe vera in the same proportion favored the best acidity and pH conditions for kombucha fermentation.

**Key words:** kombucha, non-alcoholic fermentation, aloe vera, moringa.

## INTRODUCCIÓN

Una de las bebidas que hoy en día ha ido creciendo en la industria alimentaria y por lo tanto va aumentando su consumo a nivel mundial como alimento funcional, es la kombucha (Laureys *et al.*, 2020). La kombucha es una simbiosis de bacterias y levaduras compuesta mediante la infusión de hojas de té (negro o verde) por fermentación de sustratos azucarados que forman una masa gelatinosa de celulosa bacteriana en la parte superior de la bebida, denominada SCOBY (Cultivo Simbiótico de Bacterias y Levaduras) (Jayabalan *et al.*, 2014). La formación de la celulosa es realizada durante la fermentación mediante la liberación de la glucosa y su metabolización de ácido glucónico por acetobacterias (Sreeramulu *et al.*, 2000).

Siendo una bebida con un rápido crecimiento funcional, las materias primas utilizadas para la fermentación así como su variedad de microorganismos, son las propiedades del producto que atraen más a los consumidores debido a su alto beneficio en la salud (Antolak *et al.*, 2021). Reducir los niveles de colesterol, la presión arterial y la calcificación pulmonar, aumentar la pérdida de peso y mejorar las funciones gastrointestinales (Laureys *et al.*, 2020), son algunos efectos benéficos en la bebida que son debido a su composición: la presencia de los componentes fenólicos del té y de la actividad metabólica de los microorganismos, los ácidos orgánicos producidos por los microorganismos, las vitaminas obtenidas de las hojas del té, la presencia de enzimas bacterianas y la actividad probiótica de los microorganismos (Antolak *et al.*, 2021).

La kombucha se va expandiendo por el mercado desde pequeños negocios hasta grandes empresas debido a su fácil proceso. Dicho proceso consiste en hacer una infusión de té en agua hirviendo a una temperatura entre 70-95°C. Las hojas de té son filtradas después de 5-30 minutos para poder disolver la sucrosa en el té caliente (Antolak *et al.*, 2021). Jayabalan *et al.* (2014) indicaron que la cantidad de té agregada es de 5g/L y el tiempo de espera es de 5 min, pero Laureys *et al.* (2020) mencionaron que efectivamente puede diferir dependiendo de cada productor comercial. Posteriormente, la infusión es enfriada a temperatura ambiente (20°C) e inoculada con una parte del cultivo del fermentado anterior, debido a su gran contenido de levaduras y bacterias iniciales. Así mismo, la adición del inóculo ocasiona una disminución del pH inicial (Jayabalan *et al.*, 2014), lo que hace que se inhiba el crecimiento de patógenos como *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, y *Clostridium botulinum* debido a que éstos microorganismos no crecen en un pH menor a 4.7. Finalmente, la fermentación se realiza mediante condiciones aeróbicas a una temperatura de 18-28°C por un periodo de 14 hasta 18 días (Laureys *et al.*, 2020).

Según Tran *et al.* (2020), las concentraciones de los diferentes tipos de kombucha varían en la sacarosa entre 50-100 g/L y la cantidad del té de 1.5-10 g/L. Actualmente, existen muchas variaciones de kombucha realizadas con adición de jugos de frutas o extractos naturales, lo que ocasiona que se busquen diferentes sustratos para su fabricación y beneficio (Zubaidah *et al.*, 2019). Por ejemplo, ya hay estudios realizados para la fermentación de la kombucha a base de leche con té negro y verde (Malbasa *et al.*, 2008). Además, Jayabalan *et al.* (2014) indicaron de otros sustratos no tradicionales aplicados como lo son el vino (rojo o blanco), Coca-Cola, suero ácido, entre otros. Mejorar la calidad de vida de las personas aumentando y promoviendo la utilización de recursos vegetales, ayudaría mundialmente en deficiencias nutricionales (Yu-Yang *et al.*, 2006). Por lo tanto, para ésta investigación se analizarán moringa y sábila como sustratos para fuente de carbono.

### Sábila

Es una planta del género *Aloe* perteneciente a la familia Liliaceae conformada por hojas con epidermis gruesa cubiertas de cutículas que rodea el mesófilo (Ramachandra & Srinivasa, 2008). Usualmente,

la parte más utilizada de la planta es el mucílago transparente conocido como gel, producido en las células parenquimáticas (Mashau & Obiefuna, 2020). Éste material gelatinoso está compuesto de 99% agua y el resto ocupa mayormente polisacáridos y compuestos activos (Jawade & Chavan, 2013). Recientemente, el gel de la sábila ha sido aplicado a recubrimientos comestibles en la industria alimentaria, ayudando a mejorar las propiedades físicas y sensoriales de cada producto, así como su vida de anaquel (Ramírez *et al.*, 2013).

Para obtener una mejor calidad de mucílago (independientemente de la calidad de la planta), según Ramachandra & Srinivasa (2008), el proceso de extracción del mucílago debe realizarse inmediatamente después del corte a la planta para su recolección. Esto es debido a que se inicia la descomposición degradativa del gel por reacciones enzimáticas, así como el crecimiento de bacterias por la presencia de oxígeno. Para evitar la pérdida de actividad biológica, Singh y Singh (2011) mencionan 36 horas máximo para su correcto aprovechamiento. La homogeneización del mucílago se realiza posteriormente mediante la trituración a temperatura ambiente en una licuadora a alta velocidad en un periodo de 10 a 20 minutos para evitar el pardeamiento enzimático. Finalmente, para verificar que no haya material fibroso y evitar la sedimentación del gel es recomendado filtrar y es posible guardarlo para su posterior utilización.

En los últimos años, la sábila se ha vuelto un excelente recurso en la industria de alimentos para la fabricación de productos funcionales debido a sus diferentes tipos de propiedades benéficas (Ramachandra & Srinivasa, 2008). Singh y Singh (2011) indicaron que en el año 2008 en Estados Unidos de América se invirtieron acerca de 40 mil millones de dólares en productos funcionales como bebidas, suplementos y alimentos que ayudan a mejorar la apariencia física, así como también agregar un mayor valor nutricional al producto. Por ejemplo, aumentando su contenido de aminoácidos, minerales y vitaminas (Izaguirre *et al.*, 2013), o adicionando azúcares naturales y grandes cantidades de compuestos bioactivos como flavonoides, terpenoides, lectinas, entre otros, encontrados también en la sábila.

### **Moringa**

Sohaimy *et al.* (2015) indican que la moringa es un árbol perteneciente a la familia Moringa ceae, originario del noroeste de la India. Una de sus características principales es el aprovechamiento de las todas las partes de la planta, siendo cada una funcional para diversos biomateriales. Por ejemplo, en la medicina se utilizan las semillas como floculantes y en el suelo las vainas sirven como fertilizante, en donde incluso se le pueden atribuir propiedades medicinales al igual que como las flores, hojas, corteza y raíces (Guzmán *et al.*, 2015).

En México y otros países, la hoja de moringa seca es utilizada para preparar infusiones debido a propiedades (Guzmán *et al.*, 2015) tales como su alto contenido de nutrientes, ya que éste puede ser utilizado como material para enriquecer bebidas funcionales. Compuestos antioxidantes como flavonoides, saponinas, taninos, esteroides, alcaloides, son encontrados en mayor cantidad en las hojas (Kahfi *et al.*, 2021). Así mismo, también son ricas en macronutrientes y micronutrientes como proteínas, vitaminas y minerales. Su poder antioxidativo ayuda a que la moringa sea una planta sinérgica natural y complemento a un alimento haciendolo funcional, haciendo así una mejora en la calidad nutricional de las personas que lo consuman (Devisetti *et al.*, 2016).

Por lo tanto, el objetivo principal de ésta investigación fue evaluar los cambios de pH, acidez y turbidez bajo diferentes concentraciones de moringa, sábila y dextrosa durante la fermentación de la kombucha.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño experimental

Se emplearon 11 tratamientos por triplicado con moringa, dextrosa y sábila. Para ello se utilizaron diferentes concentraciones de moringa, sábila y dextrosa (Tabla 1).

**Tabla I.** Concentración de moringa, dextrosa y sábila de cada tratamiento.

Tratamiento (T <sub>x</sub> )	Moringa (g/L)	Dextrosa (g/L)	Sábila (g/L)
1	3.6	50	0
2	3.6	25	25
3	3.6	0	50
4	3.6	0	100
5	1.8	50	0
6	1.8	25	25
7	1.8	0	50
8	1.8	0	100
9	1.8	25	25
10	1.8	10	40
11	1.8	40	10

### Preparación del fermentado

La metodología consistió en una infusión de moringa con 200 ml de agua destilada a una temperatura de 85°C por 15 minutos en cristalería de 500 ml. La dextrosa y la sábila (según la formulación de cada tratamiento) fueron agregadas después y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Cada tratamiento fue realizado con la misma metodología, en donde se licuó y se coló la mezcla para homogenizar, prosiguiendo con el adición de 3 ml de inóculo y la incubación a 25±2°C por 12 días. El inóculo utilizado es un consorcio conformado por *Gluconoacetobacter*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Ruminococaceae* y *Propionobacterium*, el cual fue proporcionado por el Laboratorio de Biotecnología Microbiana de Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

### Análisis químicos

Para los parámetros de pH, acidez titulable y turbidez se analizaron las muestras de los 11 tratamientos por triplicado a distintos días de fermentación (0, 3, 5, 7, 10 y 12 días). El pH fue medido directamente de las muestras con un potenciómetro Orion 4 Star Plus calibrado anteriormente con soluciones Buffer de 4 y 7. La turbidez por otro lado fue medida en % Brix mediante un refractómetro de mano Atago N-1EBX que consiste en tomar un alícuota de muestra y colocarla en la unidad óptica del equipo. La acidez se determinó por titulación con NaOH a 0.1 N, usando fenolftaleína como indicador hasta llegar al vire de rosa tenue. Para expresar como porcentaje de acidez, se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ acidez} = \frac{(\text{Vol. gastado} * N \text{ NaOH} * 0.6)}{\text{Vol. muestra} * 100}$$

### Análisis estadístico de los datos

Los datos correspondientes fueron procesados estadísticamente mediante el programa MiniTab, realizando análisis de varianza (ANOVA), en donde se hicieron comparaciones de medias a través del método de Tukey: tratamientos vs tiempo, con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

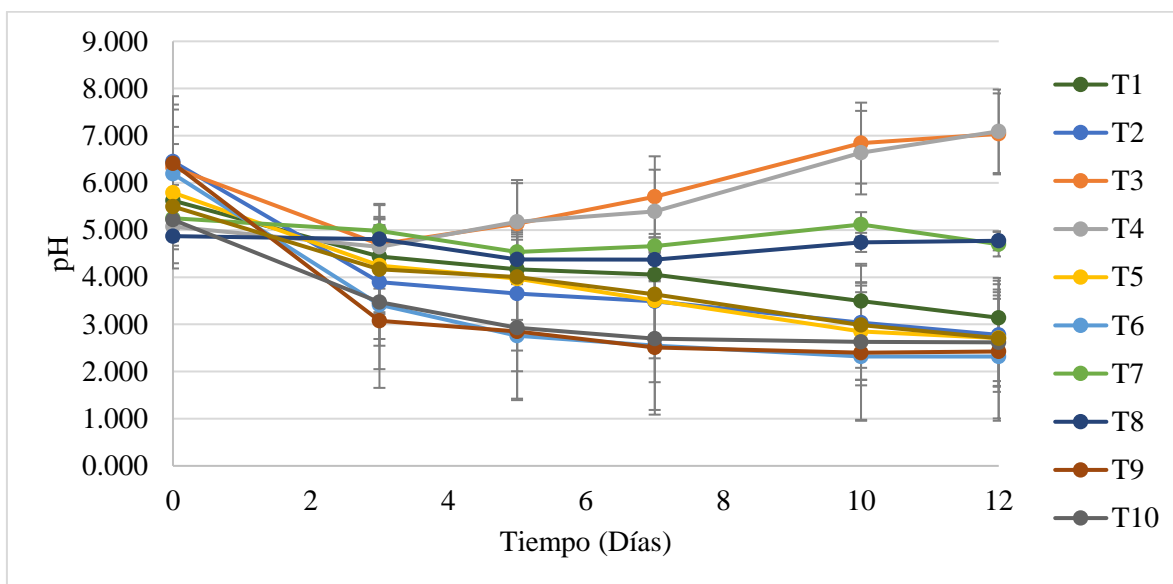
Después de obtenidos los resultados, en la Fig. 1 y Fig. 2 se pueden observar los efectos que tienen el pH y acidez durante la fase de incubación de cada tratamiento. Inicialmente, el pH de los medios se ve relacionado con la acidez del inóculo agregado. En el día 0, todos los tratamientos eran ácidos con un rango de pH de 4.8-6.4 pero en el 12vo día los que presentaron pH neutros fueron el T<sub>4</sub> junto con el T<sub>3</sub> con 7.0 sin diferencia estadística significativa. Siendo así, el ANOVA efectivamente confirmó que los tratamientos T<sub>7</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, y T<sub>8</sub> fueron los que presentaron menor acidez sin diferencia significativa entre cada uno. Destacando que ninguno de ellos tenía dextrosa en su formulación.

Por otro lado, los tratamientos T<sub>6</sub>, T<sub>9</sub>, T<sub>10</sub>, T<sub>11</sub>, T<sub>5</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>1</sub> presentaron un pH ácido de 2.3-3.2. Según Loncar *et al.* (2006), la aceptabilidad de la kombucha debe de tener un pH mínimo de 3, ya que, si es menor, la acidez será mayor y la bebida será muy ácida. El tratamiento T<sub>6</sub> y T<sub>9</sub> son iguales y presentaron el mismo comportamiento de mayor acidez alcanzando valores superiores al 15 %. A diferencia de los tratamientos T<sub>7</sub>, T<sub>8</sub> y T<sub>4</sub> que presentaron los valores más bajos cercanos al 1%. Cabe resaltar que la diferencia en la formulación de los tratamientos antes mencionados es la presencia de la mezcla de sábila y moringa vs la presencia exclusiva de sábila.

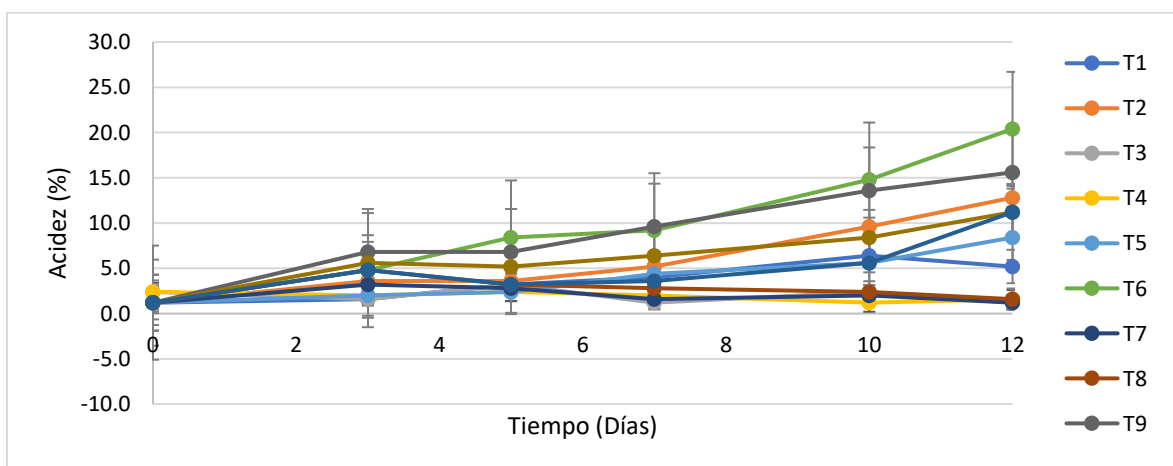
Durante la fermentación, las bacterias y levaduras metabolizan sacarosa, la levadura convierte azúcar en etanol y las acetobacterias lo convierten a ácidos orgánicos que ocasionan que el pH baje en variable con el tiempo (Guttapadu *et al.*, 2000). Si el tiempo de fermentación es largo, y el pH disminuye, el SCOBY tendrá mejor peso, debido a que se rompen los azúcares en compuestos simples de glucosa y fructosa (Nurikasari *et al.*, 2017). Por lo tanto, la acidificación del medio a través de ácidos orgánicos hará que el pH disminuya, evitará a que los microorganismos patógenos crezcan y prolongarán la vida de anaquel de las muestras. Otros estudios en donde usaron un sustrato lácteo determinaron que, durante el proceso de fermentación de la leche, el pH disminuyó el doble de rápido que otros tratamientos en variable al tiempo (Malbasa *et al.*, 2008). Velicanski *et al.* (2014) también menciona que al final del proceso de incubación, la kombucha de bálsamo de limón analizada, contuvo 8.12 g/L de ácidos. Indicando que 0.2 g/L es el promedio de una kombucha tradicional.

No se considera a la moringa como un factor determinante en los resultados obtenidos, sin embargo, Vistín *et al.* (2021) analizaron diferentes concentraciones de moringa en el medio y concluyeron que entre mayor cantidad de hojas de moringa se añada, el pH se elevará y por lo tanto influenciará el nivel de acidez. Un compuesto en la sábila que puede llegar a degradar las moléculas propias y se ve afectado por los cambios de pH y/o contaminación bacteriana es el glucomanano (Eberendu *et al.*, 2005). Por consiguiente, otro estudio basado en evaluar las propiedades de una bebida fermentada (añadida con sábila) menciona que, 3 muestras analizadas presentaron pH bajos debido los microorganismos y su producción de ácidos orgánicos (Mashau & Obiefuna, 2020).





**Figura 1.** Efecto de la determinación de pH en los tratamientos durante el proceso de fermentación. Promedios  $\pm$  desviación estándar.

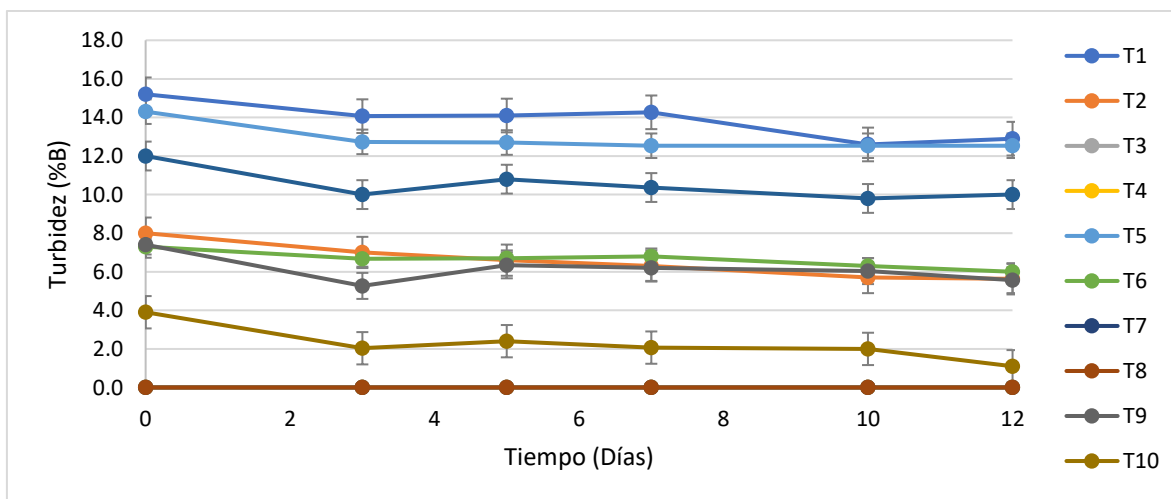


**Figura 2.** Efecto del porcentaje de acidez titulable en los tratamientos durante el proceso de fermentación. Promedios  $\pm$  desviación estándar.

En la Fig. 3, se observa el transcurso del parámetro de turbidez durante los 12 días de incubación. Basados en la comparación de medias por tratamientos, durante toda la fase de análisis, los tratamientos se mantuvieron en los rangos iniciales de cada tratamiento proporcionalmente. Por ejemplo, el T<sub>1</sub>, fue el que mayor cantidad presentó en toda la fase junto con el T<sub>5</sub>, sin diferencias significativas. La composición de ambos difiere en la cantidad de moringa agregada, aunque la cantidad de dextrosa y sábila fueron las mismas en ambos tratamientos con 50 g/L y 0 g/L. Por otro lado, los tratamientos T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>7</sub> y T<sub>8</sub> no presentaron turbidez desde el día 0 al 12, siendo un factor importante el hecho de que ninguno de estos cuatro tratamientos estaba compuesto por dextrosa, pero su cantidad de sábila era alta, de 50 a 100 g/L.

Según Amarasinghe *et al.* (2018), las proteínas, los polifenoles y las fibrillas de celulosa que se agregaron mediante las acetobacterias durante el periodo de fermentación están relacionadas con la

turbidez presentada y su cantidad de celulosa en la mayoría de los tratamientos, debido a que una cantidad alta de turbidez es indicador de un aumento de celulosa. Además, los agentes coagulantes presentes en la sábila facilitan la disminución de los sólidos suspendidos y las cargas negativas de las partículas coloidales, donde promueve la reducción de turbidez (Benalia *et al.*, 2021). Los tratamientos T5, T6 y T9 no fueron estadísticamente significativos entre los días debido al P-value > 0.05.



**Figura 3.** Efecto de la determinación de turbidez en los tratamientos durante el proceso de fermentación. Promedios  $\pm$  desviación estándar.

## CONCLUSIÓN

Se realizaron 11 tratamientos con diferentes cantidades de moringa, dextrosa y sábila, en donde los tratamientos T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>7</sub> y T<sub>8</sub> obtuvieron un pH de 4.7-7.0 y una acidez de un rango de 1.2-1.6%. El resto de los tratamientos obtuvieron cantidades de acidez muy altas hasta 20.4, debido a su pH bajo, esto evitará que los microorganismos patógenos crezcan y prolongará la vida de anaquel de las muestras. La turbidez de todas las muestras analizadas siguió su curso promedio conforme el tiempo con excepción de los tratamientos T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>7</sub> y T<sub>8</sub> que desde el día 0 mostró una turbidez de 0.

Por lo tanto, se determina que con la menor concentración de moringa y la combinación de dextrosa y sábila en la misma proporción favorecen el mejoramiento de condiciones de pH, acidez y turbidez para la fermentación de la kombucha.

## BIBLIOGRAFÍA

- Amarasinghe, H., Weerakkody, N., & Waisundara, V. (2018). Kombucha Tea—A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY). *Wiley Food Science & Nutrition*, 659-665.
- Antolak, H., Piechota, D., & Kucharska, A. (2021). Kombucha Tea—A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY)-A Review. *Antioxidants*.

- Benalia, A., Derbal, K. K., Bouchareb, R., Panico, A., Gisonni, C., Crispino, G., Pizzi, A. (2021). Use of Aloe vera as an Organic Coagulant for Improving Drinking Water Quality. *Water*, 1-15.
- Devisetti, R., Sreerama, Y., & Bhattacharya, S. (2016). Processing effects on bioactive components and functional properties of moringa leaves: development of a snack and quality evaluation. *J Food Sci Technol*, 649-657.
- Eberendu, A., Luta, G., Edwards, J., McAnavalley, B., & Davis, B. (2005). Quantitative Colorimetric Analysis of Aloe Polysaccharides as a Measure of Aloe Vera Quality in Commercial Products. *Journal of AOAC International*, 684-691.
- Guzmán, S., Zamarripa, A., & Hernández, L. (2015). Calidad nutrimental y nutraceutica de hoja de moringa proveniente de árboles de diferente altura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 317-330.
- Guttapadu, S., Yang, Z., & Wieger, K. (2000). Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *Journal Agric. Food Chem.*, 2589-2594.
- Izaguirre, J., Belmares, R., & Cruz, M. (2013). Uso de Tecnologías Emergentes para la Elaboración de Bebidas Funcionales (*Aloe vera*). *Acta Química Mexicana*, 12-15.
- Jawade, N., & Chavan, A. (2013). Ultrasonic-Assisted Extration of Aloin from *Aloe vera* Gel. *Elsevier*, 487-493.
- Jayabalan, R., Malbasa, R., Loncar, E., Vitas, J., & Sathishkumur, M. (2014). A Review on Kombucha Tea—Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. *Comprehensive Reviews in Foods Science and Food Safety*, 538-550.
- Kahfi, M., Sutisna, A., Ainia, H., & Cecep, A. (2021). Using design expert d-optimal for formula optimization of functional drink that enriched with moringa leaf extract (*Moringa oleifera*). *Earth and Environmental Science*.
- Laureys, D., Britton, S., & Clippeleer, J. (2020). Kombucha tea fermentation: a review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*.
- Loncar, E., Djuric, M., Kolarov, L., & Klasnja, M. (2006). Influece of working conditions upon kombucha conducted fermentation of black tea. *Institution of Chemical Engineers*, 186-192.
- Malbasa, R., Milanonovic, S., Loncar, E., Djuric, M., Caric, M., Ilacic, M., & Kolarov, L. (2008). Milk-based beverages obtained by Kombucha application. *Elsevier*, 178-184.
- Mashau, E., & Obiefuna, A. (2020). Evaluation of the shelf-life extension and sensory properties of mahewu—A non-alcoholic fermented beverage by adding Aloe vera (*Aloe barbadensis*) powder. *Emerald*, 3419-3432.
- Nurikasari, M., Puspitasari, Y., Yoni, R., & Husada, S. (2017). Characterization and analysis kombucha tea antioxidant activity based on long fermentation as a beverage functional. *Journal of Global Research in Public Health*, 90-96.
- Ramachandra, C., & Srinivasa, P. (2008). Processing of Aloe Vera Leaf Gel: A Review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 502-510.
- Ramírez, J., Aristizábal, I., & Restrepo, J. (2013). Conservación de mora de castilla mediante la aplicación de un recubrimiento comestible de gel de mucílago de penca de sábila. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 172-183.
- Singh, K., & Singh, B. (2011). Processing, food applications and safety of aloe vera products: a review. *J Food Sci Technol*, 525-533.
- Sohaimy, S., Hamad, G., Mohamed, S., Amar, M., & Al-Hindi, R. (2015). Biochemical and functional properties of Moringa oleifera leaves and their potential as a functional food. *Global Advanced Research Journal of Agricultural Science*, 188-199.
- Sreeramulu, G., Zhu, Y., & Knol, W. (2000). Kombucha Fermentation and Its Antimicrobial Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2589-2594.

- Tran, T., Grandvalet, C., Verdier, F., Martin, A., Alexandre, H., & Tourdot-Maréchal, R. (2020). Microbiological and technological parameters impacting the chemical composition and sensory quality of kombucha. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2050-2070.
- Velicanski, A., Cvetkovic, D., Markov, S., Tumbas, V., & Vulić, J. (2014). Kombucha Tea—A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY). *Food Technol*, 420-429.
- Vistín, J., Erazo, F., & González, M. (2021). Drink based on whey, fruit and different levels of moringa extract (*Moringa oleifera*). *Polo del Conocimiento*, 99-111.
- Yu Yang, R., Chang, L.-C., Hsu, J.-C., Weng, B., Palada, M., Chadha, M., & Lévassieur, V. (2006). Nutritional and Functional Properties of Moringa Leaves – From Germplasm, to Plant, to Food, to Health. 1-9.
- Zubaidah, E., Anam, C., Kalsum, U., Srianta, I., & Blanc, P. (2019). Comparison of in vivo antidiabetes activity of snake fruit Kombucha, black tea Kombucha and metformin. *Elsevier*, 465-469.

## Evaluación de microbiota de las costas de Sonora y Baja California contra cepas patógenas de *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio harveyi*, agentes causales de la necrosis hepatopancreática en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)

K.A. Soto-Marfileño<sup>1</sup>, L. Galaviz-Silva<sup>1</sup> y Z.J. Molina-Garza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Patología experimental y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL.

\*[karla.soto.mrfl@gmail.com](mailto:karla.soto.mrfl@gmail.com)

### RESUMEN

La acuicultura se enfrenta a grandes pérdidas económicas en cultivos de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) debido a las enfermedades microbianas y virales. Una de estas enfermedades es la Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPND), la cual emergió en China en el año 2009, reportándose en México hasta el año 2013. Los agentes causales de AHPND en el camarón blanco son *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio harveyi*, los cuales provocaron el 80% de las pérdidas en cultivos en los estados de Sonora, Sinaloa y Nayarit, México. Por este motivo, los objetivos de este estudio se enfocaron en identificar bacterias marinas como probióticos, capaces de inhibir a los agentes causales de AHPND. Las bacterias se aislaron de almejas, cangrejos, algas y agua marina de ecosistemas de Sonora y Baja California. Se analizó su capacidad hemolítica, degradación de celulosa y amilasa de las cepas seleccionadas, y su capacidad de inhibir a los patógenos. La identificación de las cepas probióticas se realizó con ensayos bioquímicos usando el sistema API y se confirmó mediante la amplificación del gen 16S rRNA. Se obtuvo que 10 aislados presentaron capacidad antagonista contra *V. harveyi* y se identificaron como: H3 *Aeromonas hydrophila*, mientras que los aislados J1, G10, H3 M, H2, G2, G2.1, 14 2.1, G3.2 y E 2.1 como *Bacillus pumilus*. En el caso de *V. parahaemolyticus* fueron: G2.1, H2, J1, G3.2 y E2.1. Para los ensayos de actividad hemolítica los aislados J1, G10 y E2.1 (*B. pumilus*) presentaron  $\beta$  hemólisis. Los aislados identificados como *B. pumilus* y *A. hydrophila* demostraron tener actividad antagonista contra *V. parahaemolyticus* y *V. harveyi* por lo que pueden ser catalogados como probióticos potenciales en base a los resultados obtenidos, los cuales contribuyen a conocer nuevas cepas benéficas para el biocontrol de estos patógenos y su aplicación permitirá evitar el uso de antibióticos en la acuicultura, reduciendo la incidencia de resistencia a estos fármacos.

**Palabras clave:** Probióticos, camarón blanco, AHPND, *Vibrio*.

### ABSTRACT

Aquaculture faces great economic losses in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) farming due to microbial and viral diseases. One of these diseases is Acute Hepatopancreatic Necrosis (AHPND), which emerged in China in 2009 and was reported in Mexico until 2013. The causal agents of AHPND in white shrimp are *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi*, which caused 80% of crop losses in the states of Sonora, Sinaloa and Nayarit, Mexico. For this reason, the aim of this study focused on identifying marine bacteria as probiotics, capable of inhibiting the causal agents of AHPND. The bacteria were isolated from clams, crabs, algae, and marine water from ecosystems in Sonora and Baja California. Their hemolytic ability, cellulose and amylase degradation of the selected strains, and their ability to inhibit pathogens were analyzed. The identification of the probiotic strains was performed with biochemical assays using the API system and was confirmed by amplification of the 16S rRNA gene. We obtained 10 isolates presented antagonistic ability against *V. harveyi* and were identified as: H3 *Aeromonas hydrophila*, while isolates J1, G10, H3 M, H2, G2, G2.1, 14 2.1, G3.2 and E 2.1 as *Bacillus pumilus*. In the case of *V. parahaemolyticus* were: G2.1, H2, J1, G3.2 and E2.1. For the hemolytic activity assays, isolates J1, G10 and E2.1 (*B. pumilus*) presented  $\beta$  hemolysis. The isolates identified as *B. pumilus* and *A. hydrophila* showed antagonistic activity against *V. parahaemolyticus* and *V. harveyi*, so they can be classified as potential probiotics based on the results obtained, which contribute to the knowledge of new beneficial strains for biocontrol of these pathogens and their application will avoid the use of antibiotics in aquaculture, reducing the incidence of resistance to these drugs.

**Keywords:** Probiotics, White shrimp, AHPND, *Vibrio*.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años la extensión de los ecosistemas marinos se ha reducido por las diferentes actividades que realiza el hombre (Rodríguez *et al.*, 2010). Una de ellas es la acuicultura del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* Boone 1931, adaptándose a un buen crecimiento en cautiverio por su fácil reproducción y manejo por lo cual se ha logrado una alta producción en países asiáticos y americanos (FAO, 2018).

La camaronicultura es una actividad en México que ha adquirido un gran valor en los estados de Sonora, Sinaloa, Nayarit y Chiapas (Ramos, 1987), esta es una actividad complementaria a la pesca y no una competencia, ya que los sistemas de cultivo extensivos realizan la siembra de postlarvas y juveniles (Grijalva *et al.*, 1992).

Uno de los obstáculos más grandes para que la producción sea exitosa son las enfermedades infecciosas causadas por bacterias en cultivos del camarón blanco, una muy importante es la AHPND (Necrosis Hepatopancreática Aguda) o EMS (Síndrome de Mortalidad Temprana) ambas por sus siglas en inglés: Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease/Early Mortality Syndrome; la cual es causada por dos cepas nuevas de *Vibrio parahaemolyticus* y *V. harveyi*, sin embargo en los últimos años se ha tratado de investigar cómo evitar esta epizootia (Goarant *et al.*, 2006). En nuestro país esta enfermedad ha afectado a los principales estados de producción en camarón desde el 2013 (López *et al.*, 2016). La AHPND se presenta con un aumento en la mortalidad el cual se observa dentro de los 30 a 40 días de su cultivo, puede llegar a eliminar hasta el 100% de toda la población de camarones de los estanques afectados; el mecanismo de infección de la bacteria empieza con la colonización del hepatopáncreas donde se liberan toxinas que afectan este órgano (Mejías *et al.*, 2014). Desde su aparición en 2009 hasta la actualidad se han buscado diferentes formas de combatir a *V. parahaemolyticus* y *V. harveyi*, utilizando antibióticos derivados por microorganismos los cuales tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de esta bacteria (Varela-Mejías, Peña-Navarro y Aranguren-Caro, 2017), para así también evitar el uso extensivo de antibióticos y prevenir la resistencia a estos (Santiago *et al.*, 2009). En este presente trabajo, el principal objetivo fue encontrar microorganismos provenientes de medio marino los cuales podrían presentar efecto antagónico *in vitro* contra cepas de *V. parahaemolyticus* y *V. harveyi*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Obtención de muestras en los estados de Sonora y Baja California, México.**

En el estado de Sonora fueron dos municipios: Bahía de Yavaros (26°42'17"N, 109°31'07"O) y de Guaymas (27°54'50" N, 110°54'7" O) donde los muestreos se realizaron en diferentes estaciones del año las cuales fueron verano e invierno. En el estado de Baja California se colectó en los municipios de Rosarito (32°21' 0" N, 117°3'0" O), Playas de Rosarito (32°21'N, 117°03'O) y Ensenada (31°51'28"N, 116°36'21"O), en la estación de invierno. En cada localidad se realizaron muestreos para obtener los aislados de la microbiota de ambiente acuático. La colecta se realizó de manera aleatoria de macroalgas, guano, sedimento, agua marina, organismos acuáticos. Se recolectaron en bolsas de plástico estéril Whirl-pak (Nasco, Fort Atkinson, WI) las cuales se transportaron en hielo al laboratorio para su procesamiento (Quiroz, 2005).

### **Caracterización morfológica, bioquímica de los aislados microbianos y ensayo de hemolisis.**

De los organismos colectados de las localidades se aislaron e identificaron los distintos morfotipos de las colonias en TSA y AM al 2% de NaCl y se incubaron a 28°C por 24 horas para seleccionar las colonias de bacterias de la microbiota marina. De las colonias que se observaron crecimiento se les

realizó un aislado y caracterización en base a tinción de Gram (Babuselvan *et al.*, 2016). Las pruebas bioquímicas realizadas fueron de oxidasa (Sigma-Aldrich, Toluca, Estado de Mexico, Mexico) y catalasa con peróxido de hidrogeno al 3% (Jalmek, Monterrey, N.L., México). Se utilizó agar sangre (DIBICO, Cd. de México, México) al 5% con sangre de cordero, en las placas se sembró una colonia aislada y fresca por estría cruzada. Las placas se incubaron durante 24 h a 28 – 30°C y se registraron los patrones de hemolisis (Baron *et al.*, 1994).

#### **Evaluación de la actividad antagonica *in vitro***

Método de estría cruzada. Se realizó a partir de un cultivo de Agar Marino y TSA de 24 h en placas de Mueller Hinton (2% NaCl) se tomó una muestra con un hisopo estéril y se sembró una estría central con la cepa a evaluar y se incubo por 24 h a 28 – 30°C. Del mismo modo se preparó una suspensión con la cepa patógena (*V. parahaemolyticus* MC32 y B25 y *V. harveyi*, Vh) y se sembraron por separado en un ángulo de 90° atravesando la zona de la bacteria candidata cuando la estría presentaba un buen crecimiento (3 a 5 mm de ancho). Posteriormente se observó la presencia o ausencia de zona de inhibición a las 24-48 h de incubación y se realizaron mediciones (Gibson *et al.*, 1998).

#### **Identificación de las cepas con potencial antagonico por medio de biología molecular y pruebas bioquímicas.**

Las cepas de bacterias fueron enviadas a la empresa Macrogen, Inc. ubicada en Korea para su secuenciación de la región 16S rRNA para su identificación de especie.

Se determinó por pruebas bioquímicas para Gram positivas con el Kit API 50 CH (Biomérieux, Francia) usando cultivos frescos de 24 horas con  $1.5 \times 10^8$  UFC, 0.5 en la escala de McFarland (Molina-Garza y Galaviz-Silva, 2019).

#### **Análisis estadístico**

Los resultados de las pruebas antagonicas se procesaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y las pruebas post-hoc de Tukey al 95% de confianza con el software estadístico SPSS Statistics 20 (IBM).

## **RESULTADOS**

#### **Identificación bioquímica y por medio de biología molecular**

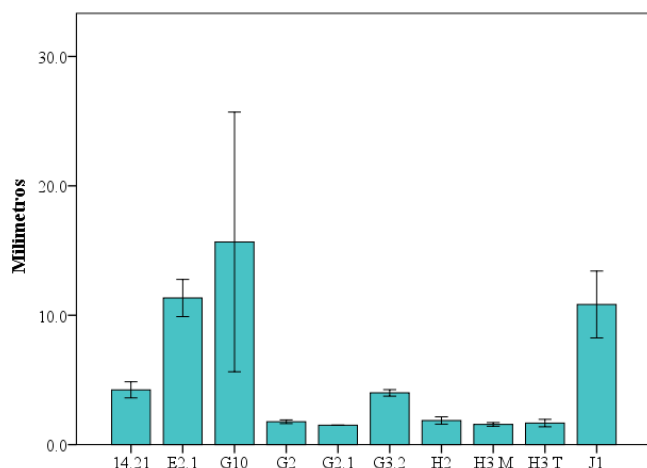
Las cepas con capacidad antagonica fueron enviadas a la empresa Macrogen, Inc. para su identificación por biología molecular, además se les realizó una identificación bioquímica por medio del kit API 50CH, en donde nueve de las cepas se identificó el género *Bacillus*. La cepa H3 (TSA) se identificó la especie *Aeromonas hydrophila* por el método de biología molecular, sin embargo, en el kit API 50CH no se logró reactivar la cepa por lo tanto no fue identificada como se puede observar en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Especies con actividad antagonista frente *V. parahaemolyticus* y *V. harveyi* identificadas por biología molecular y API 50CH.

CEPA AISLADA	IDENTIFICACION POR BIOLOGIA MOLECULAR	IDENTIFICACION POR API 50CH
J1	<i>Bacillus pumilus</i>	<i>B. firmus</i>

<b>G10</b>	<i>B. pumilus</i>	<i>B. pumilus</i>
<b>H3 (TSA)</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	SI *
<b>H3 (M)</b>	<i>B. pumilus</i>	<i>B. pumilus</i>
<b>H2</b>	<i>B.pumilus</i>	<i>B. pumilus</i>
<b>G2</b>	<i>B. pumilus</i>	<i>B. pumilus</i>
<b>G 2.1</b>	<i>B. pumilus</i>	<i>B. pumilus</i>
<b>14. 2.1</b>	<i>B. pumilus</i>	<i>B. pumilus</i>
<b>G 3.2</b>	<i>B. pumilus</i>	<i>B. pumilus</i>
<b>E 2.1</b>	<i>B. alitudinis</i>	<i>B. firmus</i>

\*SI: Sin identificar.



**Figura 1.** Resultados en mm de la actividad antagonística de las cepas aisladas de medio marino contra la cepa Vh.

**Evaluación de la actividad antagonística *in vitro***

En la Figura 1 se pueden observar estas tres cepas las cuales presentaron mayor inhibición contra *V. parahaemolyticus*, la cepa G10 obtuvo un promedio de 15.6 mm, la cepa E 2.1 inhibió 11.3 mm y la cepa J1 su promedio fue 10.8 mm.

**Actividad hemolítica y enzimática.** Los resultados de las pruebas de actividad hemolítica y enzimática se les realizó a las cepas con mayor promedio de actividad antagonística (J1, G10 y E 2.1) como se puede observar en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Actividad hemolítica y enzimática de las cepas antagonísticas.

CEPA AISLADA	ACTIVIDAD HEMOLITICA	PROTEASAS	AMILASAS	QUITINASA	CELULOSA
<b>J1</b>	β	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>G10</b>	β	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>E 2.1</b>	β	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo



## DISCUSIÓN

Las bacterias aisladas de esta investigación provinieron de sedimento y agua marina, además de organismos como cangrejos ermitaños (*Clibanarius paramensis*) y algas verdes (*Enteromorpha* sp. y *Rhizoclonium* sp.). Se ha reportado el uso de microorganismos con potencial antagonico contra *V. parahaemolyticus* aislados de *Enteromorpha* sp. (Sánchez, 2018; Iracheta, 2018). En una investigación realizada por León y colaboradores en 2010 se aislaron cuatro cepas marinas con actividad antagonica a partir de organismos invertebrados, las cuales pertenecen al género *Bacillus* y *Micrococcus*.

La identificación de las cepas por biología molecular y el kit 50CH mostro en su totalidad especies del género *Bacillus* a excepción de la cepa H3 TSA la cual se idéntico como *Aeromonas hydrophila*. En el caso del género *Aeromonas* se ha reportado un gran potencial como patógeno en humanos y organismos acuáticos (Yano *et al.*, 2015). En un estudio realizado por Zou y colaboradores en 2019 demostraron que *A. hydrophila* ha desarrollado una resistencia a los antibióticos, por lo que se pretende utilizar microorganismos probióticos para evitar su desarrollo de igual forma que con *V. parahaemolyticus*. Sin embargo, no se han realizado investigaciones por su potencial antagonico contra *Vibrio* sp.

El género *Bacillus* es de los más importantes en el ambiente marino, este ha sido asilado de intestino de crustáceos, peces marinos, y bivalvos (Rengpipat *et al.*, 2000), su efecto inhibitorio in vitro contra *V. parahaemolyticus* y *V. harveyi* ha sido reportado anteriormente (Gullian, 2001).

Este microorganismo posee actividad antagonica debido a que el bacilo forma parte del microbiota del tracto intestinal de los camarones. Las esporas de bacilo se han utilizado como probióticos para reducir a *Vibrio* sp. (Sharmila *et al.*, 1996; Nakayama *et al.*, 2009), ya que no ha sido asociado a patologías de organismos acuáticos.

En esta investigación las bacterias con potencial antagonico resultaron con actividad hemolítica tipo beta, y se ha reportado que *Bacillus subtilis* produce un lipopéptido llamado surfactina, la cual tiene compuestos antibacterianos y antitumoral (Dehghan-Noude *et al.*, 2005). A demás, se han realizado estudios donde demuestran que *B. subtilis* productor de surfactina e iterina, incrementan la inhibición de patógenos con la combinación de estos lipopéptidos (Hiraoka *et al.*, 1992).

En este trabajo las bacterias aisladas resultaron con buena actividad antagonica por lo tanto se tendrán que realizar estudios posteriores en bioensayos para su utilización como probióticos en camarón blanco.

## BIBLIOGRAFÍA

- Allen D. (1963). Shrimp farming. American's Department of Natural Resources 166, Estados Unidos de America
- Babuselvam, M., Panneerselvam, A., Kanimozhi, K & Kabitha, G. (2016). Antibacterial potential of actinomycetes from Seagrass against human and aquaculture pathogens. *J. Microbiol. Biotech. Res* 6, 32-38
- Baron E.J., Peterson L.R., Finegold S.M. (1994). *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO. 9th ed., p. 415.

- Cetina, A., Matos, A., Garma, G., Barba, H., Vásquez, R., Zepeda-Rodríguez, A., López-A, R. (2010). Antimicrobial activity of marine bacteria isolated from Gulf of Mexico. *Rev. peru. biol.*, 17(2), 231-236.
- Dehghan-Noude, Gholamreza & Housaindokht, Mohammad & Fazly Bazzaz, Bibi Sedigheh. (2005). Isolation, characterization, and investigation of surface and hemolytic activities of a lipopeptide biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* ATCC 6633. *Journal of Microbiology* (Seoul, Korea), 43, 272-6.
- Dykes, G & Hastings, J. (1997). Selection bacteriocin producing bacteria. *Proc. Royal Soc, London* 264, 683-687.
- FAO. (2016). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Roma. <http://www.fao.org/3/a-i5555s.pdf>
- FAO. (2018). Cultured Aquatic Species Information Programme. *Penaeus vannamei*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Roma. Recuperado de: [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus\\_vannamei/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_vannamei/en)
- Faye, T., Holo, H., Langsrud, T., Nes, I & Brede, D. (2011). The unconventional antimicrobial peptides of the classical propionibacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* 89, 549-554.
- Galaviz, L y Molina Z. (2014). Patógenos y parásitos, en R. Mendoza y P. Koleff (coords.), Especies acuáticas invasoras en México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México (p. 259-268). México.
- Galaviz, L., Molina, Z., González, J & Ibarra, J. (2007). Patógenos que disminuyen la calidad del camarón de cultivo. *Revista Salud Pública y Nutrición* 12, 419-425.
- Galaviz-Silva, L., J.M. Iracheta y Molina-Garza, Z. 2018. *Bacillus* and *Virgibacillus* strains isolated from three Mexican coasts antagonize *Staphylococcus aureus* and *Vibrio*
- Hiraoka, H.; Asaka, O.; Ano, T. and Shoda, M. (1992). Characterization of *Bacillus subtilis* RB14, coproducer of peptide antibiotics iturin A and surfactin. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 38, 635-640
- Iracheta Villarreal, J. M. (2017). Actividad antagonista in vitro de microbiota de Bahía de Lobos y Bahía de Guasimas, Sonora y Playa del Carmen, Quintana Roo contra *Staphylococcus aureus* y *Vibrio parahaemolyticus* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Janisiewicz, W.J., and Korsten, L. (2002). Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annual Review of Phytopathology* 40:411-441.
- Leila, Monteiro, Rosa de Lima, Ramos Mariano, y Ana Maria, Souto-Maior. (2005). Antagonism of *Bacillus* spp. Against *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48 (1), pp. 23-29, January 2005 ISSN 1516-8913
- Leyton, Y. & Riquelme, Y. (2010). Marine *Bacillus* spp. associated with the egg capsule of
- Leyton, Y., Borquez, J., Darias, J., Cueto, M., Días, A., & Riquelme, C. (2012). Diketopiperazines produced by an *Bacillus* species inhibits *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Aquacult Res. Dev.* 3, 144.

- López, P., Luna, A., Escamilla, R., Flores, M., Fierro, J., Álvarez, P & Diarte, G. (2016). Isolation and characterization of infectious *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of AHPND, from the whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Lat. Am. J.*
- Martínez J. (2002). Epizootiología de enfermedades en camarón cultivado *Litopenaeus vannamei*, del parque acuícola "el tobari", Cajeme, Sonora, México (Tesis de maestro en ciencias). *Universidad Autónoma de Nuevo León*. (p. 1 – 3). México.
- Norzagaray, M., Muñoz, P., Sánchez, L., Capurro, L & Llanes, O. (2012). Acuicultura: estado actual y retos de la investigación en México. *Revista AquaTIC* 37, 21.
- Páez, F. (2004). Retos y perspectivas de la camaronicultura en la zona costera. *Revista*
- Parrado, Y. (2012). Historia de la Acuicultura en Colombia. *Revista AquaTIC* 37, 60-77 Peña, N &
- Pinchuk IV, Bressollier P, Verneuil B, Fenet B, Sorokulova IB, MéGraud F, Urdaci MC. (2001). La actividad anti- *Helicobacter pylori* in vitro de la cepa probiótica *Bacillus subtilis* 3 se debe a la secreción de antibióticos. *Agentes antimicrobianos Chemother* 45: 3156–3161.
- Rodríguez, J., Crespo, D & Lopez – Camacho M. (2010). La camaronicultura y la sustentabilidad del Golfo de California. *WWF-México, Programa Golfo de California* (p. 1 – 3). México.
- Roque, A., Molina, A., Bolan, C & Gomez, B. (2001). In vitro susceptibility to 15 antibiotics of vibrios isolated from penaeid shrimps in Northwestern Mexico. *International Journal of Antimicrobial Agents* 17, 383–387.
- Subsecretaría de Actividades Pesqueras y Desarrollo del Delta. (2007). Acuicultura. *Ministerio de Asuntos Agrarios* (p. 1 – 3). Argentina. Recuperado de <http://www.produccion-animal.com.ar/>
- Varela, A. (2015). Análisis histopatológico en *Litopenaeus vannamei* infectado con *Vibrio parahaemolyticus*. *Agron. Mesoam* 26, 44 – 45
- Yano, Y, et.al. (2015). Ocurrencia, caracterización molecular y susceptibilidad antimicrobiana de *Aeromonas* spp. en especies marinas de camarones cultivados en estanques interiores de baja salinidad. *Microbiología alimentaria*, 47.

## Caracterización fisicoquímica, polifenoles totales y capacidad antioxidante en tres variedades de guayaba de la región de Santiago el Chique, Zacatecas.

A. Ávila-Palma<sup>1</sup>, C.S. Contreras-Martínez<sup>1</sup>, R. Gutiérrez-Hernández<sup>1</sup>, L.G. Ramos-Muñoz<sup>1</sup>, J.M. García-González<sup>2</sup>, J. Carranza-Téllez<sup>2</sup> y J. Carranza-Concha\*<sup>1</sup>

**1** Programa Académico de Nutrición, Unidad Académica de Enfermería, Área de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Zacatecas. Carretera Zacatecas-Guadalajara Km. 6, Ejido “La Escondida”, 98160. Zacatecas, Zacatecas. México. **2** Programa de Químico en Alimentos, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas. Dirección completa, Colonia, C.P. 00000, Ciudad, Estado, País. Carretera Zacatecas-Guadalajara Km. 6, Ejido “La Escondida”, 98160. Zacatecas, Zacatecas. México.

\* [jose.carranza@uaz.edu.mx](mailto:jose.carranza@uaz.edu.mx)

### RESUMEN

La guayaba (*Psidium guajava* L.) es una fruta tropical perteneciente a la familia Myrtaceae consumida tanto fresca como procesada, muy apreciada por su valor nutricional y por la presencia de metabolitos secundarios de las plantas con actividad antioxidante beneficiosa para la salud humana, denominados fitoquímicos. A nivel nacional, el estado de Zacatecas es el tercer mayor productor de guayaba. En el sur del estado se encuentra la región de Santiago el Chique que contribuye con esta producción. El objetivo del presente trabajo fue determinar algunos parámetros fisicoquímicos, el contenido en polifenoles totales y la capacidad antioxidante de tres variedades de guayaba (Blanca, China y Fresa). Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas en prácticamente todos los parámetros analizados, salvo en el caso del % de humedad. Se destacó la alta concentración de ácido ascórbico en la guayaba “fresa” frente a las demás variedades.

**Palabras clave:** *Psidium guajava* L., antioxidantes, polifenoles, vitamina “C”

### ABSTRACT

Guava (*Psidium guajava* L.) is a tropical fruit belonging to the Myrtaceae family, consumed fresh and processed, highly appreciated for its nutritional value and also due to the presence of secondary plant metabolites with antioxidant activity, beneficial for human health, called phytochemicals. The state of Zacatecas is the third largest producer of guava in México. In the south of the state, the region of Santiago el Chique contributes to this production. The aim of the present work was to determine some physicochemical parameters, the total polyphenol content and the antioxidant capacity of three guava varieties (Blanca, China and Pink). The results showed statistically significant differences in practically all the parameters analysed, except in the case of % moisture. Ascorbic acid concentration stood out in the "pink" guava, compared to the other varieties.

**Keywords:** *Psidium guajava* L., antioxidants, polyphenols, vitamin “C”

## INTRODUCCIÓN

Las frutas y verduras desempeñan un papel importante en la salud humana, ya que contienen muchos nutrientes esenciales y fitoquímicos que pueden prevenir o reducir el riesgo de enfermedades crónicas, como las cardiovasculares, la diabetes, la obesidad, ciertos tipos de cáncer, la inflamación, los accidentes cerebrovasculares y el shock séptico (Comert *et al.*, 2020).

El ácido ascórbico (AA) es un nutriente esencial y muy sensible a diversas condiciones de proceso. En consecuencia, se utiliza como indicador del valor nutritivo, así como un índice representativo para estimar el deterioro de la calidad durante el procesamiento (Aguilar *et al.* 2017).

Los beneficios para la salud asociados a estos polifenoles se basan en sus propiedades antioxidantes, siendo los principales determinantes de la capacidad antioxidante total de la fruta, esta propiedad se define como la capacidad de los compuestos antioxidantes para proteger un sistema biológico contra el efecto potencialmente dañino de los procesos o reacciones provocadas por especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS y RNS) (Cervantes *et al.*, 2020).

La guayaba (*Psidium guajava* L.) es una fruta originaria de América, pero introducida a otras regiones tropicales y subtropicales del mundo donde se cultiva por sus valoradas propiedades nutritivas como su alto contenido de ácido ascórbico, precursor de vitamina C, vitamina A, tiamina, riboflavina y minerales como calcio, hierro y fósforo, y por los derivados que a partir de ella se producen (Fajardo *et al.*, 2019).

De acuerdo con datos oficiales, en el año 2020, el volumen de producción de esta fruta en México ascendió a 287243 t, con una superficie sembrada de 20872 ha. Los principales estados productores son Michoacán, Aguascalientes y Zacatecas, con 172729, 62897 y 32252 toneladas respectivamente (SIAP, 2022).

En la región de Santiago el Chique (Zacatecas) se producen distintas variedades de guayaba, no obstante, no existe información disponible sobre su valor nutrimental y funcional, así como de las posibles diferencias entre las variedades. Por esta razón el objetivo del presente trabajo fue caracterizar fisicoquímicamente y determinar su valor funcional a través del análisis de la capacidad antioxidante y su contenido fenólico total

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron tres variedades de guayaba (China, Blanca y Fresa), producidas en la región de Santiago el Chique, Zacatecas, a las cuales se les determinó el pH, los °Brix, el contenido en humedad (%Xw), el contenido de ácido ascórbico (AA), el contenido fenólico total (CFT) y la capacidad antioxidante (CA).

La extracción para la cuantificación de CFT y la CA se llevó a cabo mediante una adaptación del método descrito por Tomás-Barberán *et al.*, (2001). Para lo cual se trituraron 20 g de cada fruta con 20 mL de MeOH con 5 mL de HCl 6N, y 2 mg de NaF, se mezcló con agitación continua durante 30 min a temperatura ambiente, posteriormente fue centrifugada durante 10 min a 4°C y 4,500 rpm.

### Contenido Fenólico Total

El contenido fenólico total (CFT) se cuantificó utilizando la prueba Folin-Ciocalteu (Li *et al.*, 2006); Se mezclaron 250 µL de extracto con 15 mL de agua desionizada y 1,25 mL de reactivo Folin-

Ciocalteu (Sigma-Aldrich MO USA). Después de 5 minutos, se añadieron 3,75 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5%) y se llevaron a 25 mL con agua desionizada. La absorbancia se midió a 765 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific 10S, Thermo Fisher Scientific Inc, EE. UU.) Después de una reacción de 2,5 minutos a 20 °C los resultados se expresaron como mg de ácido gálico (mg GAE 100 g<sup>-1</sup>).

### Capacidad Antioxidante (CA)

En cuanto a la capacidad antioxidante (CA), esta se cuantificó mediante la técnica espectrofotométrica del ABTS<sup>•+</sup> (Re *et al.*, 1999) DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995) y FRAP. En todos los casos los resultados fueron expresados en micromoles de Trolox (TEAC) en 100 g de muestra.

### Método ABTS<sup>•+</sup>

El mismo extracto obtenido para la cuantificación de TPC se usó para evaluar CA. La CA se determinó mediante una modificación de la técnica espectrofotométrica desarrollada por Re *et al.* (1999), utilizando el radical ABTS<sup>•+</sup> (Sigma) generado por persulfato de potasio 2,45 mM (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>). La mezcla permaneció en la oscuridad a temperatura ambiente (~ 20 °C) durante 16 h antes de su uso, y luego la solución ABTS<sup>•+</sup> se diluyó para dar una absorbancia de 0.7 ± 0.1 a 734 nm. Posteriormente, se mezclaron 100 µL de extracto de cada fruta con 900 µL de la solución diluida ABTS<sup>•+</sup>, y después de una reacción de 2.5 min a 20 °C, se midió la absorbancia a 734 nm. Los resultados se expresaron como µmol de equivalente de Trolox (TEAC) 100 g<sup>-1</sup>. Todos los experimentos fueron replicados tres veces.

### Método DPPH

También se cuantificó la CA mediante una ligera modificación del método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995); se añadieron 100 µL de extracto de cada fruta a 1 ml de 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) (3 mg 100 ml<sup>-1</sup> en solución metanólica). La actividad de eliminación de los radicales libres, utilizando la reacción de radicales libres DPPH, se evaluó midiendo la absorbancia a 515 nm, después de una reacción de 2,5 minutos a 20 °C, en un espectrofotómetro. Los resultados se expresaron como µmol equivalentes de Trolox 100 g<sup>-1</sup>.

El diseño experimental fue completamente al azar con tres repeticiones. Todos los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como valores medios y desviación estándar. Para determinar las diferencias estadísticamente significativas de las variables entre los datos en las variedades de frutas, se realizó un ANOVA unidireccional, en caso de ser significativo, se aplicó una prueba de Tukey (p ≤ 0.05). Todos los análisis estadísticos se realizaron con Statgraphics® Centurion XV (Statpoint Technologies Inc., Warrenton, VA, EE. UU.).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con respecto a los resultados obtenidos, la Tabla 1 muestra los valores de las tres variedades analizadas de guayaba. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres tipos, e el contenido de humedad, grados Brix, pH, acidez total y el contenido en ácido ascórbico. En este último parámetro, es de resaltar la gran cantidad que mostró la Guayaba “Fresa” (629 mg de AA/100g de FF).

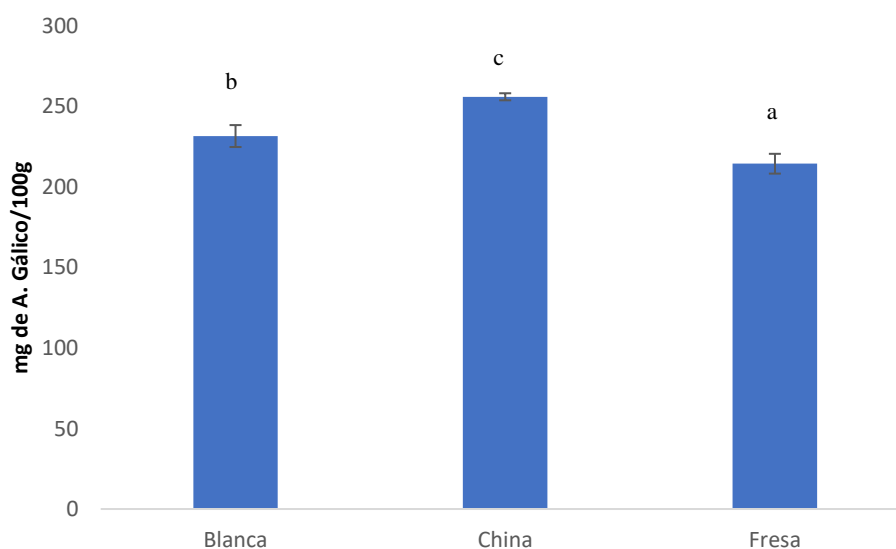
Los datos presentados en este trabajo mostraron valores más altos en sólidos solubles y vitamina “C” en comparación con lo reportado por con Vargas-Madríz *et al.* (2018) quienes obtuvieron 9.12° Brix

y 11.71 mg de AA/100g en guayaba variedad “media china”. Fajardo *et al.*, (2019) reportaron en 6 genotipos de guayaba colombiana valores mayores de pH de 4.2 a 4.68, menores en ° Brix de 6.46 a 9.43 °, y menores en vitamina C 124.63 a 201.61 mg de AA/100g. Rojas y Narváez *et al.* (2009), Presentaron valores de humedad del rango de 85.3 a 91.8, de 5.9 a 9.5 en ° Brix y de 3.6 a 4 en pH y de 78 a 268 mg de vitamina C en 4 variedades colombianas. Según Patel *et al.*, (2016) el contenido de vitamina C de la guayaba es casi seis veces mayor que el de una naranja, razón por la cual se considera una fruta muy nutritiva y atractiva para ser consumida de forma constante.

**Tabla 1.** Caracterización fisicoquímica de 3 variedades de guayaba.

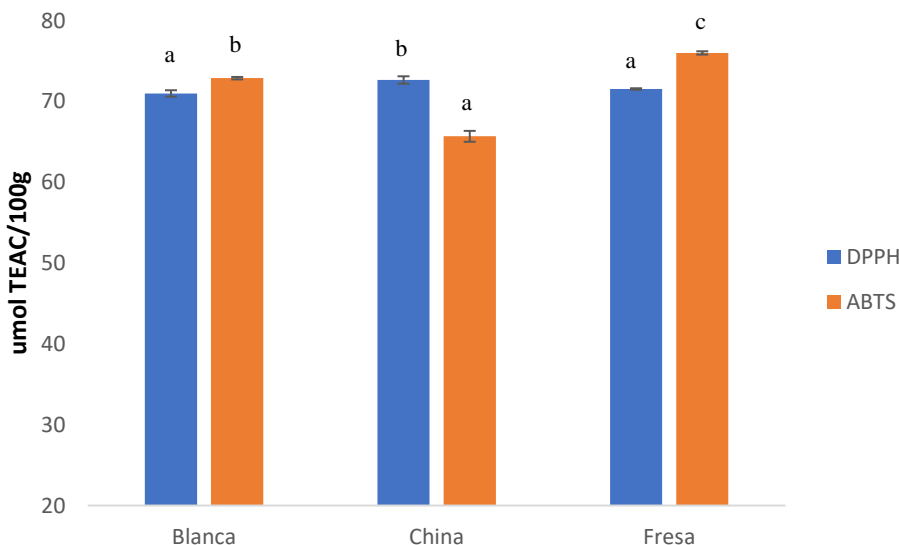
Variedad de Guayaba	% de Humedad	° Brix	pH	Acidez Total (mg/100g FF)	Ácido ascórbico (mg/100g FF)
<b>Blanca</b>	81.6 (0.8) a	13.1 (0.1) b	3.87 (0.03) c	127.4 (3.3) a	237.8 (14.7) b
<b>China</b>	81.8 (2.7) a	12.1 (0.1) a	3.77 (0.02) b	141.8 (5.1) b	214.1 (11.8) a
<b>Fresa</b>	79.5 (0.6) a	15.1 (0.1) c	3.64 (0.06) a	177.1 (1.3) c	629.1 (22.4) c

Letras distintas dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas según en el ANOVA (Tukey Test;  $p \leq 0.05$ ).



**Figura 1.** Contenido fenólico total (mg de ácido gálico/100g FF) de las tres variedades de guayaba. Letras distintas entre las barras del gráfico indican diferencias estadísticamente significativas según en el ANOVA (Tukey Test;  $p \leq 0.05$ ).

Con respecto a los polifenoles totales, se obtuvieron valores de 231.5 mg de GAE/100g en guayaba Blanca, 255.8 mg de GAE/100g en guayaba China y 214.3 mg de GAE/100g en guayaba fresa. El análisis estadístico arrojó diferencias significativas entre todas las variedades (Tukey test;  $p \leq 0.05$ ). Rojas y Narváez *et al.* (2009), presentaron un rango de valores en polifenoles totales de 258 a 508 mg de GAE/100g en 4 variedades colombianas.



**Figura 2.** Capacidad antioxidante ( $\mu\text{mol}$  de ácido TEAC/100g FF) mediante los métodos DPPH y ABTS de las tres variedades de guayaba. Letras distintas entre las barras del gráfico indican diferencias estadísticamente significativas según en el ANOVA (Tukey Test;  $p \leq 0.05$ ).

Con respecto a la capacidad antioxidante, se observó un valor significativamente mayor de la guayaba “China” ( $72.6 \mu\text{mol}$  de ácido TEAC/100g FF) frente a los  $70.9$  y  $71.5 \mu\text{mol}$  de ácido TEAC/100g FF de la variedad “Blanca” y “Fresa” respectivamente.

Rojas y Narváez *et al.* (2009), presentaron un rango de valores mucho más altos en 4 variedades colombianas, probablemente debidas a las diferencias en los métodos de extracción, así como a la variedad de las muestras.

La capacidad antioxidante tiene en cuenta la complejidad de las interacciones entre todos los compuestos antioxidantes presentes en una matriz alimentaria (Li *et al.*, 2017). Por otro lado, las propiedades antioxidantes de las frutas pueden ser modificadas tras la ingesta por el proceso de digestión (Ariza *et al.*, 2018), es por eso que la cantidad de polifenoles en las frutas crudas no coincide necesariamente con la capacidad antioxidante de la fruta y con los efectos saludables asociados a su consumo por varias razones (Cervantes *et al.*, 2020). Se ha demostrado que la liberación (es decir, la bioaccesibilidad) y la absorción (es decir, la biodisponibilidad) de los compuestos polifenólicos después de la digestión afectan a las propiedades saludables de las frutas (Ariza *et al.*, 2018). Según Saura-Calixto y Goñi (2006) la capacidad antioxidante de cada fruta es diferente dependiendo de su contenido fenólico y de vitaminas.



## CONCLUSIÓN

La guayaba de la región de Santiago el Chique (Zacatecas) representa una buena fuente de antioxidantes (polifenoles y vitamina C) por lo que deber ser considerada una fruta de calidad y con un gran impacto en la salud. A pesar de que las muestras se desarrollaron bajo las mismas condiciones climatológicas y zona geográfica, se observaron diferencias composicionales significativas entre las variedades guayaba. Se observó una relación con el contenido en polifenoles totales de la guayaba China y la capacidad antioxidante con en el método ABTS. Por otra parte, la capacidad antioxidante determinada mediante el método DPPH y el contenido en vitamina C fue significativamente mayor en la variedad “fresa”, lo que podría indicar alguna influencia por parte del ácido ascórbico específicamente en esta técnica.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar Karla, A. Garvín, A. Ibarz, P. E.D. Augusto (2017). Ascorbic acid stability in fruit juices during thermosonication. *Ultrasonics Sonochemistry* 37: 375-381.
- Ariza, M. T., Reboredo-Rodríguez, P., Cervantes, L., Soria, C., Martínez-Ferri, E., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., Battino, M., & Simal-Gándara, J. (2018). Bioaccessibility and potential bioavailability of phenolic compounds from achenes as a new target for strawberry breeding programs. *Food Chemistry*, 248, 155–165. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.105>.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*. 28: 25–30. [http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Cervantes, L., Martínez-Ferria E., Soria C., Ariza M. T. (2020). Bioavailability of phenolic compounds in strawberry, raspberry and blueberry: Insights for breeding programs. *Food Bioscience* 37, 100680
- Comert E.D., B.A. Mogol, V. Gokmen (2020). Relationship between color and antioxidant capacity of fruits and vegetables. *Current Research in Food Science* 2: 1–10
- Fajardo-Ortíz A. G., Legaria-Solano J. P., Granados-Moreno J. E., Martínez-Solís J., Celis-Forero A. (2019). Caracterización morfológica y bioquímica de tipos de guayaba (*psidium guajava* L.) colectados en Sumapaz, Colombia. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 42 (3): 289 - 299
- Li, BB, Smith B, Hossain M. (2006). Extraction of phenolics from citrus peels: II. Enzyme-assisted extraction method. *Separation and Purification Technology*. 48: 189-196. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.137>
- Li, K., Ma, C., Jian, T., Sun, H., Wang, L., Xu, H., Li, W., Su, H., & Cheng, X. (2017). Making good use of the byproducts of cultivation: Green synthesis and antibacterial effects of silver nanoparticles using the leaf extract of blueberry. *Journal of Food Science & Technology*, 54(11), 3569–3576. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2815-1>.
- Patel P., Sunkara R., Walker L. T, Verghese M. (2016). Effect of Drying Techniques on Antioxidant Capacity of Guava Fruit. *Food and Nutrition Sciences*. 7: 544-554. <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2016.77056>
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26: 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

- Rojas-Barquera D. & Narváez-Cuenca C.E. (2009). Determinación de vitamina c, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de frutas de guayaba (*Psidium guajava* L.) cultivadas en Colombia. *Quim. Nova*, Vol. 32, No. 9, 2336-2340
- Saura-Calixto, F. and Goñi, I. (2006) Antioxidant Capacity of the Spanish Mediterranean Diet. *Food Chemistry*, 94, 442-447. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.033>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) (2022). Producción anual agrícola. Recuperado de: <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>
- Tomás-Barberán F, Gil M, Cremin P, Waterhouse A, Hess-Pierce B, Kader A. (2001). HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 4748-4760. <https://doi.org/10.1021/jf0104681>
- Vargas-Madriz H., Barrientos-Martínez A., Cruz-Alvarez O., Martínez-Damián M. T., Talavera-Villareal A. (2018). Physicochemical quality parameters in guava fruit with presence of larvae of *Conotrachelus dimidiatus* (Champion) (Coleoptera: Curculionidae)

## El fruto de *Opuntia oligacantha* var. Ulapa, fuente potencial de fitoquímicos

C.U. López-Palestina<sup>1</sup>, Y.O. Santiago-Saenz<sup>\*2</sup>, J. Gutiérrez-Tlahque<sup>3</sup>, A.D. Hernández-Fuentes<sup>1</sup>, J.M. Alatorre-Cruz<sup>4</sup> y J.M. Pinedo-Espinoza<sup>5</sup>

**1** Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Área Académica de Ingeniería Agroindustrial e Ingeniería en Alimentos, Av. Universidad km 1, Rancho Universitario, C.P. 43600, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México. **2** Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias de la Salud, Área Académica de Nutrición, Circuito Ex Hacienda, La Concepción S/N, Carretera Pachuca Actopan, C.P. 42160, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo, México. **3** Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Zitácuaro, Ingeniería en Industrias Alimentarias, Av. Tecnológico No 186, Manzanillos, C.P. 61534, Zitácuaro, Michoacán, México. **4** Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Biológicas, Prol. 24 Sur Cd. Universitaria, C.P. 72570, Puebla, Puebla, México. **5** Universidad Autónoma de Zacatecas, Unidad Académica de Agronomía, Carretera Zacatecas-Guadalajara km 15.5, C.P. 98000, Cieneguillas, Zacatecas, México. \* [yair\\_santiago@uaeh.edu.mx](mailto:yair_santiago@uaeh.edu.mx)

### RESUMEN

Los frutos de *Opuntia* spp. (xoconostle) son ampliamente consumidos en varias regiones de México, lo que denota su aceptabilidad gastronómica y accesibilidad, por sabor y bajos costos de adquisición. Sin embargo, su calidad nutrimental, y compuestos bioactivos puede cambiar de acuerdo al estado de madurez, condiciones agroclimáticas y variabilidad genética. Es por ello, que el objetivo de esta investigación fue presentar los datos más recientes del xoconostle Ulapa, cultivado en la región de Ulapa de Melchor Ocampo, Hidalgo, México. Se realizó la evaluación de las propiedades fisicoquímicas como, color, sólidos solubles totales (SST), pH y acidez titulable (AT). Se evaluó el contenido de fenoles totales y flavonoides; adicionalmente se determinó betalainas totales. Los resultados mostraron un alto contenido de betalainas y flavonoides en comparación con otras especies previamente estudiadas en México. Las concentraciones de estos fitoquímicos presentes en el xoconostle, lo convierten en una fuente permanente y alternativa de compuestos bioactivos.

**Palabras clave:** Fitoquímicos, antioxidantes, betalainas, nutrimentos, salud humana.

### ABSTRACT

The fruits of *Opuntia* spp. (xoconostle) are widely consumed in several regions of Mexico, which denotes its gastronomic acceptability and accessibility, for taste and low acquisition costs. However, its nutritional quality and bioactive compounds can change according to the state of maturity, agroclimatic conditions, and genetic variability. Therefore, the aim of this research was to present the most recent information of the Ulapa xoconostle, cultivated at the region of Ulapa of Melchor Ocampo, Hidalgo, Mexico. The evaluation of the physicochemical properties such as color, total soluble solids (TSS), pH, and titratable acidity (TA) were carried out. The content of total phenols and flavonoids was evaluated; additionally, total betalains were determined. The results showed a high content of betalains and flavonoids compared to other species previously studied in Mexico. The concentrations of these phytochemicals present in the xoconostle make it a permanent and alternative source of bioactive compounds.

**Keywords:** Phytochemicals, antioxidants, betalains, nutrients, human health.

## INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios han demostrado que los compuestos derivados de las plantas exhiben múltiples actividades protectoras, y donde las especies provenientes de las familias Cactaceae han reportado efectos benéficos al ser probados en ensayos *in vitro* e *in vivo*.

Los frutos de *Opuntia* spp. han sido caracterizados por presentar betaninas, isobetaninas (Osorio-Esquivel *et al.*, 2011), kaempferol, quercetina y ácido ferúlico (Morales *et al.*, 2014). Es por ello, que estos frutos han sido descritos por la literatura como un alimento que proporciona una amplia variedad de propiedades con efecto hipoglicémico (Chavez-Santoscoy *et al.*, 2009), antihiperlipidémico, (Díaz-Vela *et al.*, 2013; Morales *et al.*, 2014) y antiinflamatorio (Morales *et al.*, 2012).

De esta manera la incorporación de estos frutos en la dieta constituye una fuente económica, aceptable gastronómicamente, y con potencial farmacológico, y adicionalmente su consumo lleva a la implementación de una dieta sustentable.

Algunas investigaciones se han realizado entorno a las variedades de xoconostle, pero los valores reportados entre especies pueden presentar diferencias por zonas y a través del tiempo, de acuerdo a múltiples factores agroclimáticos y genéticos. De esta manera, el objetivo de este estudio fue presentar un trabajo de actualización para el fruto de *Opuntia oligacantha* var. Ulapa, proveniente de la localidad de Ulapa de Melchor Ocampo, Hidalgo, México; mediante la determinación de la calidad funcional, evaluando sus propiedades fisicoquímicas, color, contenido de betalaínas totales, contenido de fenoles y flavonoides totales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Los frutos de *Opuntia oligacantha* var. Ulapa (xoconostle) fueron obtenidos de la localidad de Ulapa de Melchor de Ocampo, Hidalgo, México (Latitud: 19°53'00"N, longitud: 98°49'00" O). Solamente el epicarpio y el mesocarpio fueron utilizados. Las muestras fueron recolectadas en el mes de febrero del 2022.

### Propiedades fisicoquímicas

Los sólidos solubles totales (SST), pH y acidez titulable (AT) fueron determinados de acuerdo a la AOAC (2005). Para la determinación de SST, se utilizó un refractómetro digital (Atago-Palette, PR-101, Tokio, Japón), los resultados fueron expresados en °Brix. El pH fue medido con un potenciómetro digital (Hanna instruments, HI 2211, Woonsocket, RI, EUA). Los resultados fueron reportados como porcentaje de ácido cítrico (%).

### Color

Las mediciones de color fueron realizadas en un colorímetro Minolta (Minolta, CM-508d, Osaka, Japón). Se obtuvieron los parámetros de color L\*, a\* y b\*. Los valores a\* (verde-rojo) y b\* (amarillo-azul) fueron usados para el cálculo del ángulo hue (h°) y el valor croma (C).

### Betalaínas totales

El contenido de betacianinas y vulgaxantinas fue medido de acuerdo a Nilsson (1970). Se utilizó metanol al 20% para la preparación de las muestras. Se realizaron centrifugaciones sucesivas con

disolvente nuevo hasta que se logró la decoloración del sedimento. El porcentaje de betacianinas y vulgaxantinas fueron reportadas en mg/g PS.

### Fenoles y flavonoides totales

El contenido de fenoles totales fue determinado de acuerdo al método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton & Rossi (1965), y los flavonoides fueron determinados de acuerdo a Rosales *et al.* (2011). Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de ácido gálico (mg EAG) /g PS y mg equivalentes de quercetina (mg EQ) /g PS respectivamente.

### Análisis estadístico

Todos los resultados se reportaron como la media  $\pm$  DE, los experimentos se realizaron por triplicado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Propiedades fisicoquímicas

La Tabla 1 muestra los resultados de las propiedades fisicoquímicas. Referente a SST y pH, Guzmán-Maldonado *et al.* (2010) reportaron resultados similares a lo encontrado en este estudio en frutos de *Opuntia* spp., pero valores reducidos de AT en comparación a los resultados obtenidos. Los resultados de pH y AT, fueron lo esperado, ya que *O. oligacantha* se considera una fruta ácida (Gallegos-Vázquez *et al.*, 2012). Los resultados encontrados en estos parámetros son útiles para caracterizar la calidad y para proporcionar una idea de la vida útil de esta muestra.

**Tabla 1.** Propiedades fisicoquímicas en *O. oligacantha* var. *Ulapa*.

<b>SST (°Brix)<sup>a</sup></b>	4.77 $\pm$ 0.12
<b>pH</b>	3.04 $\pm$ 0.16
<b>AT (% ácido cítrico)<sup>b</sup></b>	1.36 $\pm$ 0.02
<b>Color</b>	
<i>L</i> <sup>*</sup>	31.98 $\pm$ 0.17
<i>a</i> <sup>*</sup>	15.49 $\pm$ 0.37
<i>b</i> <sup>*</sup>	2.99 $\pm$ 0.11
<i>C</i> <sup>c</sup>	15.78 $\pm$ 0.38
<i>hue</i> ( <sup>o</sup> ) <sup>d</sup>	10.93 $\pm$ 0.33

Los valores expresan la media  $\pm$  DE (n=3). <sup>a</sup>SST: sólidos solubles totales; <sup>b</sup>AT: acidez titulable; <sup>c</sup>C: valor cromático; <sup>d</sup>h: ángulo hue.

### Color

La Tabla 1 muestra los valores *L*<sup>\*</sup>, *a*<sup>\*</sup>, *b*<sup>\*</sup>, *C* y *h*<sup>o</sup>. Los valores *L*<sup>\*</sup> (luminosidad), *a*<sup>\*</sup> [del verde (-) al rojo (+)] y *b*<sup>\*</sup> [del azul (-) al amarillo (+)] fueron positivos. Se ha informado la presencia de betalaínas

en la variedad de xoconostle utilizada en este trabajo (Hernández-Fuentes *et al.*, 2015), que proporcionan colores rojo-violeta. La saturación del valor C (pureza del color) fue de 15.78. Un valor bajo de h° (tonalidad) fue mostrado por xoconostle (10.93), que, de acuerdo con Cai *et al.* (1998) indica tonos rojo púrpura. Los datos obtenidos pueden relacionarse con la calidad y frescura de las muestras, y se sugieren comúnmente como criterios de selección para una recolección adecuada de frutos xoconostle (Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010).

**Contenido de betalaínas totales, fenoles totales y flavonoides totales**

El contenido de betalaínas en xoconostle (Tabla 2), mostró una mayor proporción de vulgaxantinas en comparación con las betacianinas. Los valores observados fueron mayores de acuerdo a lo reportado por Guzmán-Maldonado *et al.* (2010) los cuales fueron más bajos que lo observado en este estudio. Los resultados elevados obtenidos de betalaínas en comparación con estudios previos, puede deberse a la suma de betalaínas presentes en epicarpio y mesocarpio de la muestra, lo que contribuyó a mayores contenidos de estos compuestos.

**Tabla 2.** Contenido de betalaínas totales, fenoles totales y flavonoides totales en *O. oligacantha* var. Ulapa.

Betalaínas totales			Fenoles totales	Flavonoides totales
<i>B</i>	<i>V</i>	<i>Bt</i>		
0.10 ± 0.02	1.06 ± 0.01	1.17 ± 0.01	8.73 ± 0.26	4.60 ± 0.29

Los datos expresan los valores de la media ± DE (n=3). Los resultados son expresados en mg/g PS para betalaínas totales (B: betacianinas; V: vulgaxantinas; Bt: betalaínas totales); mg EAG/g PS para fenoles totales; mg EQ/g PS para flavonoides totales.

El color del fruto de xoconostle le atribuye la presencia de estos pigmentos característicos (betalaínas), lo que lo convierte no solo en un alimento atractivo (Hernández-Fuentes *et al.*, 2015), si no en una fuente de fitoquímicos altamente beneficioso al ser incorporado en la dieta, donde ingestas pequeñas de estos compuestos han reportado efectos quimiopreventivos y reducción de daños oxidativos, confiriendo efectos antioxidantes (Gandía-Herrero *et al.*, 2016; Belhadj *et al.*, 2017).

Referente a los contenidos de fenoles totales (CFT) (Tabla 2) fueron menores a lo reportado por Guzmán-Maldonado *et al.* (2010); donde estas variaciones pueden deberse al tiempo de madurez del producto, zona geográfica de recolección y situaciones de estrés de la planta. Respecto a los flavonoides totales (CFvT) (Tabla 2), el contenido fue mayor a lo reportado por López-Martínez *et al.* (2015) en genotipos diferentes de xoconostle. De acuerdo a Lemos *et al.* (2017) los valores del contenido total de fenoles y flavonoides pueden variar entre especies y dentro de las especies; donde los factores que intervienen en las diferencias del género *Opuntia* spp., son la variabilidad genética y las condiciones edafoclimáticas. Sin embargo, los valores de fenoles totales y flavonoides totales encontrados en *O. oligacantha* var. Ulapa, siguen indicando que el xoconostle incorporado en este estudio, es una buena fuente de estos compuestos bioactivos.

## CONCLUSIÓN

Este estudio puede concluir que el fruto de *Opuntia oligacantha* var. Ulapa sigue manifestándose como un alimento rico en fitoquímicos y compuestos nutrimentales a pesar de las condiciones edafoclimáticas. Adicionalmente, las concentraciones de betalaínas, fenoles y flavonoides presentes en esta variedad de xoconostle, lo convierten en una fuente atractiva, permanente y alternativa de compuestos bioactivos dentro del estado de Hidalgo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2005). Official Methods of Analysis. Horwitz, W. (ed). 18th Ed. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
- Belhadj, S. I., Najar, T., & Abderrabba, M. (2017). Chemical and Antioxidant Properties of Betalains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(21), 675–689.
- Cai, Y., Sun, M., & Corke, H. (1998). Colorant properties and stability of *Amaranthus* betacyanin pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4491–4495.
- Chavez-Santoscoy, R. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2009). Phenolic composition, antioxidant capacity and in vitro cancer cell cytotoxicity of nine prickly pears (*Opuntia* spp.) juices. *Plant Food for Human Nutrition*, 64(2), 146–152.
- Díaz-Vela, J., Totosaús, A., Cruz-Guerrero, A. E., & Pérez-Chabela, M. L. (2013). In vitro evaluation of the fermentation of added-value agroindustrial by-products: cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.) peel and pineapple (*Ananas comosus*) peel as functional ingredients. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(7), 1460–1467.
- Gandía-Herrero, F., Escribano, J., & García-Carmona, F. (2016). Biological activities of plant pigments betalains. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(6), 937–945.
- Gallegos-Vázquez, C., Scheinvar, L., Núñez-Colín, C., & Mondragón-Jacobo, C. (2012). Morphological diversity of xoconostles (*Opuntia* spp.) or acidic cactus pears: A Mexican contribution to functional foods. *Fruits*, 67(2), 109–120.
- Guzmán-Maldonado, S. H., Morales-Montelongo, A. L., Mondragón-Jacobo, C., Herrera-Hernández, G., Guevara-Lara, F., & Reynoso-Camacho, R. (2010). Physicochemical, nutritional, and functional characterization of fruits xoconostle (*Opuntia matudae*) pears from Central-México region. *Journal of Food Science*, 75(6), 485–492.
- Hernández-Fuentes, A. D., Trapala-Islas, A., Gallegos-Vásquez, C., Campos-Montiel, R. G., Pinedo-Espinoza, J. M., & Guzmán-Maldonado, S. H. (2015). Physicochemical variability and nutritional and functional characteristics of xoconostles (*Opuntia* spp.) accessions from Mexico. *Fruits*, 70(2), 109–116.
- Lemos, F. A., Pereira de Andrade, A., Alcantara, R. L., Cordeiro dos Santos, D., Rodrigues, A. L., & Soares da Silva, D. (2017). Chemical and Nutritional Variability of Cactus Pear Cladodes, Genera *Opuntia* and *Nopalea*. *American Journal of Food Technology*, 12(1), 25–34.
- López-Martínez, C. R., García-Mateos, R., Gallegos-Vázquez, C., & Sahagún-Castellanos, J. (2015). Antioxidant components and nutritional quality of 15 genotypes of Xoconostle (*Opuntia* spp.) *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 17, 33–49.
- Morales, P., Ramírez-Moreno, E., Sánchez-Mata, M., Carvalho, A., & Ferreira, I.C.F.R. (2012). Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguét and *Opuntia matudae* Scheinvar) of high consumption in Mexico. *Food Research International*, 46(1), 279–285.
- Morales, P., Barros, L., Ramírez-Moreno, E., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. (2014). Exploring xoconostle by-products as sources of bioactive compounds. *Food Research International*, 65(1), 437–444.
- Nilsson, T. (1970). Studies into the pigments in beetroot. *Langbrukshogskolans Annaler*, 36, 179–83.
- Osoorio-Esquivel, O., Ortiz-Moreno, A., Álvarez, V., Dorantes-Álvarez, L., & Giusti, M. (2011). Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International*, 44(7), 2160–2168.

- Rosales, M. A., Cervilla, L. M., Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M. D. M., Blasco, B., Ríos, J. J., & Ruiz, J. M. (2011). The effect of environmental conditions on nutritional quality of cherry tomato fruits: evaluation of two experimental Mediterranean greenhouses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *91*(1), 152–162.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144–158.



## Obtención experimental y análisis del subenfriamiento en la cinética de congelación del nopal (*Opuntia spp*).

R. Román-Aguilar\*<sup>2</sup>, J. De Santiago-Herrera<sup>1</sup>, W.M. Delgadillo-Ávila<sup>2</sup>, J.E. Aparicio-Burgos<sup>2</sup> y J. Valle-Hernández<sup>2</sup>

**1** Estudiante de la Licenciatura en Ingeniería en Tecnología del Frío, Escuela Superior de Apan, UAEH. Carretera Apan-Calpulalpan Km8, Colonia Chimalpa Tlalayote, C.P. 43900 Apan, Hidalgo, México. **2** Profesor investigador de la Licenciatura en Ingeniería en Tecnología del Frío, Superior de Apan, UAEH. Carretera Apan-Calpulalpan Km8, Colonia Chimalpa Tlalayote, C.P. 43900 Apan, Hidalgo, México.

\*[raul\\_roman@uaeh.edu.mx](mailto:raul_roman@uaeh.edu.mx)

### RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se muestra la obtención de forma experimental de la sección correspondiente al subenfriamiento en la cinética de congelación del nopal (*Opuntia spp*) y se desarrolla un análisis del fenómeno. Para su desarrollo se utilizaron sensores de temperatura tipo PT100 y termistores adaptados a un adquisitor de datos marca Keysinght modelo 34972A, previa calibración de los sensores con un patrón con trazabilidad al NIST en el rango de temperaturas de -22 a 40°C. Se utilizó nopal (*Opuntia spp*) en muestras de 3 cm x 3 cm y se realizaron 3 pruebas con 3 muestras cada una, colocando un sensor de temperatura al centro. Las muestras se enfriaron a 4 °C y después se introdujeron a un congelador a -20°C. Los resultados muestran que el nopal tiene un punto inicial de congelación de alrededor de -0.5 a -1.2°C y coinciden con los reportados por otros autores de forma analítica. Los resultados del presente estudio pueden utilizarse en el desarrollo de estrategias para evitar problemas en la formación de cristales de hielo en el nopal, de gran importancia para la manipulación del producto durante su conservación a bajas temperaturas.

**Palabras clave:** nopal, cinética de congelamiento, subenfriamiento, punto de congelación.

### ABSTRACT

In this research work, the experimental obtaining of the subcooling of the freezing kinetics of the nopal *Opuntia spp* is shown and an analysis is developed. PT100 temperature sensors and thermistors were used, adapted to a Keysinght model 34972A data logger, after calibration of the sensors with a pattern traceable to NIST in the temperature range of -22 to 40°C. Samples of 3 cm x 3 cm were used and 3 tests were carried out with 3 samples each, placing a temperature sensor in the center. Samples were cooled to 4°C and then placed in a -20°C freezer. The results show that the nopal has an initial freezing point between -0.5 to -1.2°C and coincides with that reported by other authors. The results of this study can be used in the development of strategies to avoid problems in the formation of crystals during the freezing of nopal, important for the handling of the product and its conservation at low temperatures.

**Keywords:** nopal, freezing kinetics, subcooling, freezing point.

## INTRODUCCIÓN

El nopal (*Opuntia* spp), pertenece al género de las cactáceas. En México se producen anualmente más de 802 mil toneladas, teniendo un consumo per cápita de 6.4 kilogramos (Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero, 2020). La composición química del nopal en base húmeda es de 91% agua, 0.66% proteínas, 0.11% grasas, 5.5% de carbohidratos, 1.15% celulosa y 1.58% cenizas (Torres-Ponce, Morales-Corral, Ballinas-Covarrubias, & Nevárez-Moorillon, 2015); sin embargo, los niveles pueden variar entre especies e incluso dentro de la misma especie dependiendo las características y el manejo del suelo y los nutrientes. (Osorio-Córdoba *et al*, 2011).

De acuerdo a la norma NMX-FF-068-SCFI-2006 se considera apto para consumo el nopal tierno o brote de 7 a 30 cm de longitud con una edad de 10 a 40 días. Luego de la cosecha, se empacan en canastas de plástico o se apilan en fardos cilíndricos y se envían a los puntos de compra o mercados de consumo, en donde puede presentar daño físico, aumentando los procesos metabólicos como la respiración, la degradación de los lípidos de la membrana, oxidación, la pérdida de firmeza y humedad, así como una acumulación de sustancias del metabolismo secundario, lo que lleva a la descomposición y a una vida útil reducida (Cantwell *et al*, 1992); por lo que un método eficaz para su conservación es la congelación.

El uso de bajas temperaturas es uno de los métodos más antiguos para la conservación de alimentos. Particularmente, en la congelación el agua contenida en el alimento se solidifica por el descenso de temperatura formando cristales de hielo y provocando un aumento en la concentración de solutos, disminuyendo la actividad de agua e imposibilitando las reacciones químicas y bioquímicas que deterioran los alimentos (Nieto, 2015). Durante este proceso, además, existe un descenso de la temperatura en el alimento por debajo de la temperatura de congelación del agua (0°C) debido a que los solutos descienden la temperatura de congelación de la solución, la cual se encuentra entre -2 y -5 °C dependiendo del tipo de alimento (Della Rocca *et al*, 2013).

Entender el comportamiento de los alimentos sometidos a congelación, permiten optimizar los procesos para su conservación, ya que se dispone de poca información sobre las propiedades físicas de los alimentos y aún más limitada sobre el comportamiento de alimentos congelados, es por ello que, el presente trabajo se centró en analizar el subenfriamiento durante la congelación de nopal (*Opuntia* spp), para hacer frente a una industria en constante evolución.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materia prima

Se utilizó nopal (*Opuntia* spp) con apariencia fresca y sin indicios de deshidratación. Se tomaron muestras de 3 cm x 3 cm, registrando su espesor por esquina de cada lámina para obtener el espesor promedio, indicado en la tabla 1.

**Tabla 1.** Especificaciones de materia prima.

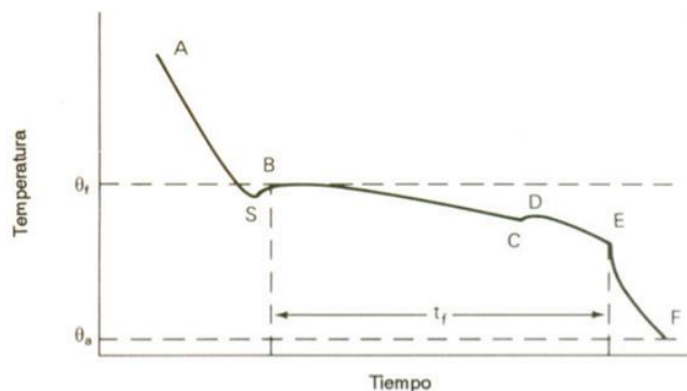
No. muestra	Día	Espesor promedio
1M1	30/03/2022	5.25mm
2M2		5.85mm
1M3		6.175mm
2M1	01/04/2022	6.125mm
2M2		5.55mm
2M3		6.25mm
3M1	05/04/2022	5.5mm
3M2		5.75mm
3M3		5.2mm

**Equipos e instrumentos**

Los equipos e instrumentos que se utilizaron son dos sensores de temperatura tipo PT100 y un termistor, los cuales fueron adaptados a un adquisidor de datos marca Keysinght modelo 34972A. Los sensores fueron calibrados a diferentes temperaturas, recibiendo la señal de resistencia y comparando con un sensor patrón con trazabilidad al NIST, obteniendo las ecuaciones de calibración para cada sensor en el rango de temperaturas de -22 a 40°C.

**Método para obtener la Cinética de congelación**

El proceso de subenfriamiento de la cinética de congelación (Imagen 1) abarca las etapas: a) Etapa AS correspondiente al subenfriamiento; y b) Etapa SB, que indica la liberación de calor latente tras la formación del primer cristal de hielo; correspondiente al descenso de la temperatura del material biológico.



**Figura 1.** Cinética de congelación.

En la etapa AS: se reduce la temperatura del alimento por debajo de su punto de congelación, siempre inferior a la temperatura de congelación del agua ( $0^{\circ}\text{C}$ ). En el punto S el agua se mantiene en estado líquido a una temperatura inferior a su punto de congelación. A este fenómeno se lo conoce con el nombre de subenfriamiento.

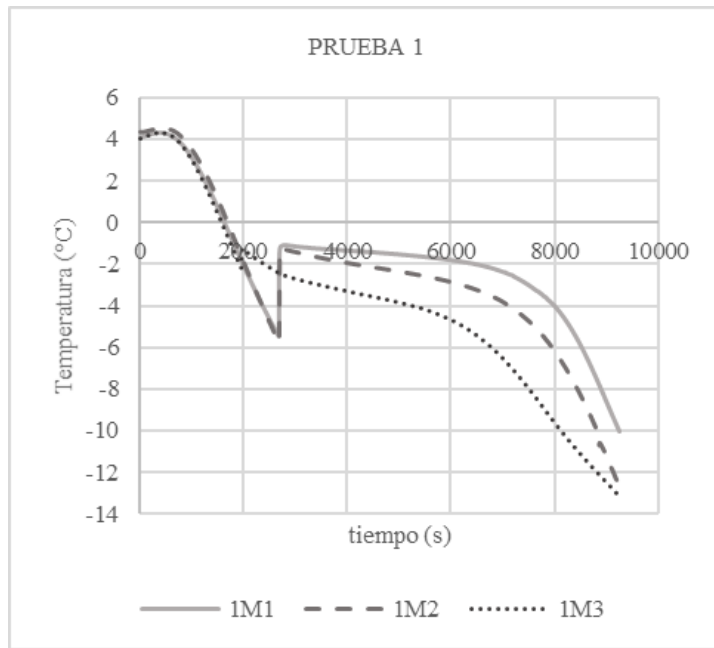
Para la etapa SB: la temperatura aumenta rápidamente hasta alcanzar el punto de inicial de congelación, en donde se empiezan a formar los primeros cristales de hielo al liberarse el calor latente de congelación a una velocidad superior a la que se extrae el calor del alimento.

Para obtener el proceso de sub enfriamiento, se realizaron 3 pruebas con 3 muestras cada una y a cada muestra se colocó un sensor de temperatura al centro. Se acondicionó una caja aislada donde se colocaron las muestras para controlar el comportamiento del deceso de la temperatura en cada una de las pruebas, en relación con el arranque y paro del compresor del sistema de refrigeración o congelación y no hubiera interferencia por parte del funcionamiento del equipo.

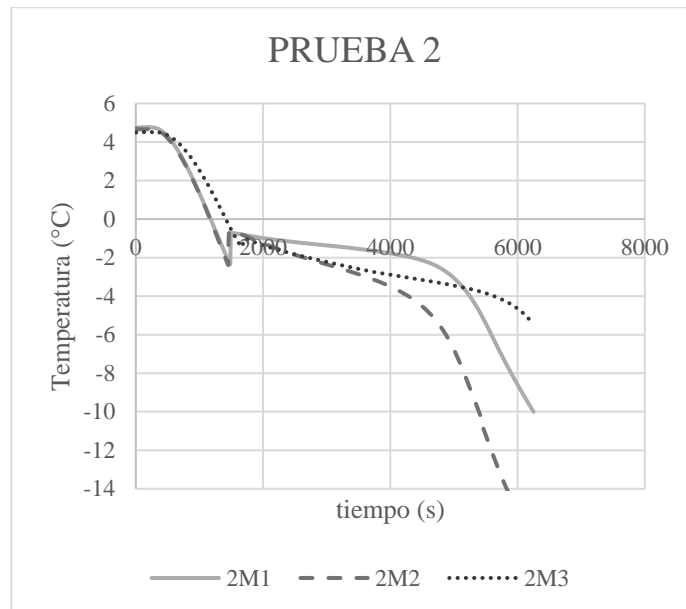
Durante un tiempo aproximado de 3 horas, las muestras en cada prueba se ingresaron primero a un refrigerador para establecer una temperatura de alrededor de los  $4^{\circ}\text{C}$  como temperatura de inicio hacia la fase de congelación. Tanto en la refrigeración como en el proceso de congelación para alcanzar el subenfriamiento se establecieron intervalos de 5 segundos para la prueba 1; 4 segundos para la prueba 2, y 3 segundos para la prueba 3. Una vez alcanzada la estabilidad en el refrigerador, se introdujeron rápidamente a un congelador Marca Scient Temp Modelo 34-25AS a temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  por un tiempo de 2 h 30 min con los mismos intervalos correspondientes; se registraron las temperaturas de las diferentes pruebas y se obtuvo el subenfriamiento en la cinética de congelación.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

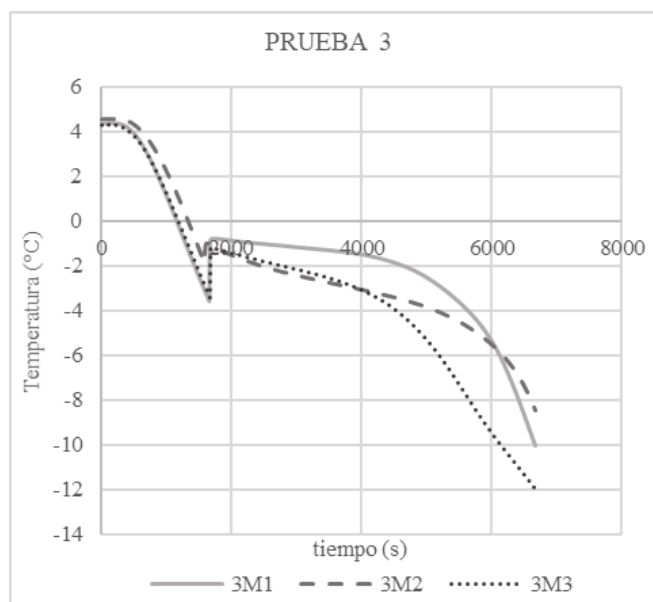
Las curvas del período de subenfriamiento del nopal se obtuvieron a partir del monitoreo de la temperatura en las muestras. En las Figuras 2, 3 y 4 se grafican las curvas de temperatura contra el tiempo. En las gráficas se puede apreciar que el nopal presenta el mismo comportamiento, pero con algunos desfases al alcanzar su punto de congelación en el centro térmico; atribuyéndose estos desfases a la forma en que se colocó cada muestra al interior de la caja aislada, ya que algunas muestras se encontraron unas más cerca que otras y /o más cerca de la superficie del aislante, por lo que la transferencia de calor no fue uniforme en cada cara y en cada muestra.



**Figura 2.** Temperatura contra tiempo del subenfriamiento en la cinética de congelación con tres muestras para la primera prueba.



**Figura 3.** Temperatura contra tiempo del subenfriamiento en la cinética de congelación con tres muestras para la segunda prueba.



**Figura 4.** Temperatura contra tiempo del subenfriamiento en la cinética de congelación con tres muestras para la tercera prueba.

Utilizando las curvas experimentales de temperatura contra tiempo, se generó la Tabla 2 en donde se presentan el tiempo y el punto inicial de congelación posterior a introducir el nopal a 4°C en el congelador (-20°C).

**Tabla 2.** Puntos y tiempo de congelación (PC) de las muestras estudiadas.

	PC (°C)	Tiempo (min)
<b>1M1</b>	-1.118677631	45
<b>1M2</b>	-1.263217394	45
<b>1M3</b>	-1.2152642	33
<b>2M1</b>	-0.740853406	25
<b>2M2</b>	-0.572742219	24
<b>2M3</b>	-1.021432074	28

<b>3M1</b>	-0.761548833	28
<b>3M2</b>	-0.987532028	26
<b>3M3</b>	-1.153585172	28

Las muestras de nopal tienen un punto inicial de congelación de alrededor de  $-0.5$  a  $-1.2^{\circ}\text{C}$ , debido al alto contenido de humedad en el nopal; por lo que los sólidos solubles presentes en él no ocasionan una disminución del punto de congelación, obteniendo un valor cercano a cero. Esto coincide con lo reportado por Machado-Velasco & Vélez-Ruíz (2008) quienes evaluaron las propiedades físicas de alimentos mexicanos durante la congelación y el almacenamiento congelado, estimaron mediante un modelo experimental el valor para el punto de congelación en nopal de  $0.978^{\circ}\text{C}$ ; así mismo de acuerdo al modelo matemático reportado por Jie *et al* (2003) el punto de congelación de nopal es de  $-0.13^{\circ}\text{C}$ , el cual es similar a los puntos de congelación de hortalizas como la col y lechuga, con valores de  $-0.56$  y  $-0.20^{\circ}\text{C}$  respectivamente. Otros estudios a través de modelos predictivos en alimentos como fresa, toronja, melón, pepino y apio han reportado puntos iniciales de congelación de  $-0.8$ ,  $-1.1$ ,  $-1.2$ ,  $-0.5$  y  $-0.5^{\circ}\text{C}$  respectivamente, todos ellos con un contenido de humedad mayor al 90% (ASHRAE, 2006).

## CONCLUSIÓN

En el presente trabajo se obtuvo de forma experimental una parte de la cinética de congelación del nopal (*Opuntia* spp), correspondiente a la sección del subenfriamiento donde termodinámicamente se abate la mayor cantidad de calor e inicia el proceso de cristalización del agua.

De las cinéticas se observó de forma experimental el punto inicial de congelación que oscilo entre  $-0.5$  a  $-1.2^{\circ}\text{C}$ , el cual corresponde a los reportados por otros autores de forma analítica.

Se destaca también que el punto inicial de congelación esta correlacionado con el contenido de humedad.

Los desfases al inicio del subenfriamiento se deben a la disposición de las muestras en el espacio de experimentación, ya que algunas estuvieron más cerca de la superficie aislante y no se tuvo una transferencia de calor uniforme.

La duración entre el inicio y el fin del subenfriamiento en algunas muestras fueron diferentes, atribuyéndose estos resultados al espesor de la muestra, colocación de los sensores y al intervalo de tiempo en la toma de datos, no obstante, el resultado final en el punto inicial de congelación tuvo semejanza.

Los resultados del presente estudio pueden utilizarse en el desarrollo de estrategias para evitar problemas en la formación de cristales de hielo en productos vegetales como el nopal.

Finalmente, esta investigación ilustra fenómenos como el periodo de subenfriamiento y punto de congelación, sumamente importantes y necesarios para su manipulación en la conservación a bajas temperaturas.

## BIBLIOGRAFÍA

- ASHRAE. (2006). *Handbook. Refrigeration. SI Edition*.
- Cantwell, M., Rodríguez-Felix, A., & Robles- Contreras, F. (1992). Postharvest physiology of prickly pear cactus stems. *50*, 1-9.
- Della Rocca, P., Roche, L. A., & Mascheroni, R. (2013). Estudio comparativo de la congelación de papa (*Solanum tuberosum* L.) sometida a diferentes pretatamientos. *Proyecciones*, *11*(1), 31-45.
- Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero*. (22 de junio de 2020). Obtenido de <https://www.gob.mx/fnd/articulos/el-nopal-un-alimento-muy-mexicano?idiom=es>
- Jie, W., Lite, L., & Yang, D. (2003). The correlation between freezing point and soluble solids of fruits. *Journal of food Engineering*, *60*, 481-484.
- Machado-Velasco, K., & Vélez-Ruíz, J. (2008). Estudio de propiedades físicas de alimentos mexicanos durante la congelación y el almacenamiento congelado. *Revista Mexicana de Ingeniería química*, *7*(1), 41-54.
- Nieto, A. (2015). El Frío en la Conservación de Alimentos. *Mundo HVAC&R*.
- Osorio-Córdoba, J., Pelayo-Zaldivar, C., Verde-Calvo, J., Ponce-Valadez, M., Díaz de León-Sánchez, F., Bosquez-Molina, E., & Rodríguez-Huezo, M. (2011). Conservación de nopal verdura "Milpa Alta" (*Opuntia ficus indica*) desespinado en envases con atmósfera modificada. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *10*(1), 93-104.
- Torres-Ponce, R., Morales-Corral, D., Ballinas-Covarrubias, M., & Nevárez-Moorillon, G. (2015). El nopal: planta del semidesierto con aplicaciones en farmacia, alimentos y nutrición animal. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *6*(5), 1129-1142.



## Evaluación fisicoquímica de harina de col morada (*Brassica oleracea* var. *capitata f. rubra*) para usos alternos.

J.A. Vázquez-García\*<sup>1</sup>, J. Piloni-Martini<sup>2</sup>, A. Quintero-Lira<sup>3</sup>, S. Soto-Simental<sup>4</sup> y J. Ocampo-López<sup>5</sup>

1 Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Av. Universidad Km. 1 Ex-Hda. de Aquetzalpa AP 32, CP 43600, Tulancingo. Hidalgo, México.\*[jean\\_vazquezgarcia@hotmail.com](mailto:jean_vazquezgarcia@hotmail.com)

### RESUMEN

La col morada (*Brassica oleracea* var. *capitata f. rubra*) es originaria de Europa y actualmente se produce con normalidad en la mayoría de los países europeos, principalmente en Francia e Italia, así como en África y en Asia. Es una hortaliza que se utiliza para su consumo en fresco o guisada en la elaboración de diversos platillos, además de ser ampliamente recomendada por su aporte nutricional. Su composición química es muy rica en agua teniendo alrededor de un 90%, es baja en carbohidratos y fibra con un 4 y 1% respectivamente, en cuanto a proteína aporta entre 2-3% y en lípidos presenta un bajo contenido, además sobresalen los compuestos bioactivos, en donde los antioxidantes hidrofílicos son responsables de más del 89 % de la capacidad antioxidante total. Estas características y propiedades nutricionales la hacen objeto de interés para que pueda tener diferentes aplicaciones en una amplia variedad de productos, es por esto que el presente trabajo se interesó en aplicar un método de conservación por deshidratado obteniendo una harina, realizándole un análisis fisicoquímico para poder evaluar su composición posterior al tratamiento y considerar futuras aplicaciones.

**Palabras clave:** Hortaliza, col morada, deshidratación, harina, análisis fisicoquímico.

### ABSTRACT

Purple cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata f. rubra*) is native to Europe and is currently produced normally in most European countries, mainly France and Italy, as well as in Africa and Asia. It is a vegetable that is used for consumption fresh or stewed in the preparation of various dishes, in addition to being widely recommended for its nutritional value. Its chemical composition is very rich in water having around 90%, it is low in carbohydrates and fiber with 4 and 1% respectively, in terms of protein it provides between 2-3% and in lipids it has a low content, in addition the bioactive compounds, where hydrophilic antioxidants are responsible for more than 89% of the total antioxidant capacity. These characteristics and nutritional properties make it an object of interest so that it can have different applications in a wide variety of products, which is why the present work was interested in applying a conservation method by dehydration, obtaining a flour, carrying out a physicochemical analysis to be able to evaluate its composition after treatment and consider future applications.

**Keywords:** Vegetable, purple cabbage, dehydration, flour, physicochemical analysis.

## INTRODUCCIÓN

Hortaliza deriva de hortal, término que a la vez proveniente del latín hortualis, huerto, significa verduras y demás plantas comestibles que se cultivan en la huerta. Son plantas herbáceas utilizadas para la alimentación del hombre, quien aprovecha su bajo contenido de calorías y sus altos contenidos de proteínas, minerales y vitaminas. Su característica especial es que se emplean sin sufrir ninguna transformación industrial, y se cultiva en forma intensiva, requiriéndose mucha mano de obra. Las hortalizas son estudiadas por la rama de la horticultura denominada olericultura que comprende el estudio de las hortalizas, verduras y legumbres (FAO, 2020).

El género botánico *Brassica* (crucíferas) incluye una gran diversidad de hortalizas entre las que destacan: brócoli, coliflor, col de Bruselas, col, repollo, entre otros. A pesar de presentar diferentes aspectos, en su mayoría, al ser variedades de la especie *Brassica oleracea* poseen nutrimentos en común. Se ha encontrado que estos cultivos contienen un amplio número de nutrientes y fitoquímicos, entre los que destacan: carotenoides, clorofila y folatos, así como flavonoides, con un gran efecto antioxidante (Ares *et al.*, 2013; Gómez & Namesny, 2010).

### Antecedentes de la col morada

La col es una hortaliza originaria de Europa occidental o meridional. La col lombarda o repollo morado es originaria del área mediterránea. La historia señala que fue cultivada por los egipcios 2500 años antes de Cristo y posteriormente por los griegos. Los antiguos romanos la utilizaron como alimento, pero también como medicina para curar a los soldados. En la Edad Media esta hortaliza fue considerada como “el médico de los pobres” por su contenido en vitaminas, sales minerales y azufre (Valadez, 1994).

### Aspectos generales de la col morada

La col morada (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*) es una hortaliza que se consume en fresco en diversos platillos. En cuanto a su composición química presenta un 91% de agua, 4% de carbohidratos, 1% de fibra, 2.6% de proteína y 1% de lípidos. También posee compuestos bioactivos en donde los antioxidantes hidrofílicos son responsables de más del 89% de la capacidad antioxidante total (Rodríguez *et al.*, 2019). La col lombarda o col morada es un repollo comestible de sabor ligeramente dulce y muy apreciado. Se cultiva, prepara y consume de la misma manera que las otras coles. Las variedades redondas e intensamente coloreadas se emplean generalmente para encurtidos (Infoagro, 2011).

Esta hortaliza ha sido valorada por sus propiedades nutricionales, ya que posee un alto valor nutrimental, es una rica fuente de fibra, vitaminas, minerales y de un gran número de sustancias bioactivas. La col morada es una de las especies de *Brassica* más apreciada por contener altas concentraciones de antioxidantes y por su uso como colorante natural. Su vida media es de 2 a 3 semanas, lo que le permite estar fresca y ser fácilmente almacenada (Valencia-Arredondo, 2015; Wiczkowski *et al.*, 2015).

### **Importancia de los tratamientos de conservación en hortalizas**

Al declarar el año 2021 como el Año Internacional de las Frutas y Verduras, la Asamblea General de Naciones Unidas (ONU) se propone concienciar sobre los beneficios nutricionales y para la salud de las frutas y verduras y su contribución a una dieta y un estilo de vida equilibrados y saludables. También espera llamar la atención sobre la necesidad de reducir las pérdidas y desperdicios en el sector de las frutas y verduras. Las frutas y verduras son productos altamente perecederos, y esto puede originar altos niveles de pérdida y desperdicio de alimentos en cada paso de la cadena de valor, comenzando en las explotaciones agrícolas. Dado que muchas frutas y verduras se consumen crudas o sin cocer, también pueden plantear un riesgo de enfermedades de transmisión alimentaria relacionadas con la contaminación de patógenos y riesgos para la inocuidad alimentaria debido a la contaminación química (FAO, 2020).

El Año Internacional de las Frutas y Verduras se centra en los productos frescos o mínimamente procesados. No obstante, reconoce que las formas procesadas de frutas y verduras son importantes para los medios de vida y los ingresos de los agricultores, el comercio, la seguridad alimentaria y la nutrición. Algunas variedades se cultivan específicamente para ser vendidas como productos frescos; otras se destinan desde el principio a la planta de procesamiento. Otras pueden ir en ambas direcciones, es decir, se seleccionan y clasifican antes de su venta donde los mejores productos se venden frescos (normalmente alcanzan los precios más altos), mientras que el resto se destina a procesados (FAO, 2020).

### **Objetivo del trabajo:**

Por medio de un método de conservación como la deshidratación obtener una harina de col morada (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*) para caracterizarla a través de análisis fisicoquímicos y así poder considerar posibles aplicaciones en el desarrollo de productos alimenticios.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Obtención de la materia prima**

Se obtuvieron 45 kg de col morada fresca (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*) en la central de abastos de Pachuca de Soto, Hidalgo. Esta se lavó en una solución de hipoclorito de sodio al 1% para después dejarse escurrir perfectamente y proceder a cortar en tiras delgadas, las cuales fueron extendidas en charolas para llevar a deshidratar en un horno de secado con flujo de aire a temperatura constante de 45°C durante 36 horas. Posteriormente se molió la col morada deshidratada con ayuda de un molino y se tamizó con un tamiz de acero inoxidable con malla del no.100.

### **Análisis químico proximal**

Se realizó un análisis químico proximal a la harina de col morada determinando humedad (935.36), grasa (935.38), fibra (950.37), proteína (32.1.22) y cenizas (930.22) (AOAC, 1995). A continuación se describe la metodología de cada uno:

### **Determinación de humedad**

La humedad de la harina de col morada fue determinada pesando 10 gramos de muestra en una charola de aluminio previamente tarada y/o a peso constante. Se colocó la charola de aluminio en la estufa a una temperatura de 105°C por 4 horas. Después de transcurrido el tiempo la charola fue sacada de la estufa y traspasada a un desecador para dejarla enfriar a temperatura ambiente y finalmente pesarla.

### **Determinación de grasa**

La grasa de la harina de col fue determinada colocando los vasos Buchi a peso constante dentro de la estufa a 105°C, después se traspasaron un desecador para que adquirieran temperatura ambiente y poder pesarlos. Posteriormente se introdujo la muestra sin humedad en los cartuchos de celulosa. Los vasos fueron llenados con éter de petróleo hasta la medida marcada, los cartuchos de celulosa colocados en los vasos Buchi para después acomodarlos en el Soxhlet y programarlo: 3 horas paso 1, 30 minutos paso 2 y 5 minutos paso 3. Una vez transcurrido el tiempo, los vasos fueron retirados del Soxhlet y el éter de petróleo sobrante evaporado dentro de la estufa a 105°C. Fueron colocados los vasos en un desecador a temperatura ambiente para finalmente pesarlos.

### **Determinación de fibra**

Este análisis en la harina de col morada consistió en el uso del método gravimétrico y un determinador de fibra marca Labconco modelo LAC300001-00. La muestra desgrasada del cartucho de celulosa fue colocada en el vaso Berzelius en el que fueron añadidos 200 ml de ácido sulfúrico 0.255 N caliente y colocado en el aparato condensador para dejarlo hervir por 30 min. Se retiró el vaso Berzelius del condensador y la muestra fue colocada en un embudo de tallo largo con paño español, procediendo a realizar baños con agua destilada caliente hasta obtener un pH de 7-5. Una vez que la muestra estuvo sin líquido fue raspada con una espátula y colocada nuevamente en el vaso Berzelius al que se le añadieron 200 ml de hidróxido de sodio 0.313 N caliente y por segunda ocasión colocado en el aparato condensador para dejarlo hervir por 30 min. El vaso Berzelius fue retirado del condensador y la muestra puesta en el embudo de tallo largo con paño español con baños de 25 ml de ácido sulfúrico 0.255 N, 150 ml de agua destilada y 25 ml de alcohol. Una vez sin líquido la muestra fue raspada con la espátula y colocada dentro de un crisol que estuvo previamente a peso constante. El crisol con la muestra estuvo dentro de la estufa a 105°C por 2 horas. Se dejó enfriar la muestra en el desecador para dejarla enfriar y anotar el peso. A continuación se colocó la muestra dentro de la mufla a 600°C por 30 minutos y pasó a la estufa para que bajara su temperatura, después enfrió en un desecador y por último el peso la muestra fue registrado.

### **Determinación de proteína**

El contenido de proteína de la harina de col morada fue determinado por el método de Kjeldahl. Dicha técnica se basa en la digestión de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado, sulfato de cobre y sulfato de potasio, formando sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio el amoniaco es liberado, destilado y captado en una solución de ácido bórico. Para este análisis la muestra de harina de col de 0.5 g fue colocada en un matraz Kjeldahl adicionando subsecuentemente 15 mL de ácido sulfúrico concentrado y 5 g de mezcla digestora (20 g Sulfato cúprico pentahidratado y 200 g de sulfato de potasio), posteriormente los matraces fueron colocados en el equipo Micro-Kjeldahl (Büchi. Model b-426) donde se realizó la digestión por tres horas. La digestión tuvo lugar en las parrillas de calentamiento las cuales estaban conectadas en una campana de extracción de

humos. A partir de que el líquido cambió de coloración de negro a verde se calentó por una hora. Después fue destilado con hidróxido de sodio, y el destilado fue captado en ácido bórico al 2% para ser titulado con ácido sulfúrico 0.1 N para conocer la concentración total de nitrógeno.

### **Determinación de cenizas**

Fue utilizado el método gravimétrico en donde 5 g de muestra fueron colocados dentro de crisoles de porcelana a peso constante para ser calcinados. Una vez calcinadas las muestras de harina de col morada se pasaron a introducir a una mufla durante 4 h a 550°C. Los crisoles fueron colocados en un desecador para enfriarse y posteriormente pesarlos.

### **Actividad de agua (aW)**

Para la evaluación de aW se pesaron 2 g de harina de col morada. Fue utilizado el equipo HygroPalm AW-1, la muestra se colocó en un vial (WP-40), llevada a un periodo de reposo por 10 min a 23°C y traspasada a la sonda AW-DIO para la lectura de la muestra (Budryn *et al.*, 2013).

### **pH**

El pH se midió aplicando el método AOAC 10.035: se pesaron 5 g de la muestra y se disolvieron en 25 mL de agua destilada, y se midió directamente con un potenciómetro (HINOTEK) (AOAC, 2001).

### **Sólidos solubles (°Brix)**

La cantidad de sólidos solubles totales se determinó aplicando la norma ISO 2173:2003: se pesó 1 g de muestra y se diluyó en 10 mL de agua destilada; se utilizó un refractómetro (ATAGO SMART 1) (ISO, 2003).

### **Cuantificación de antocianinas totales**

Los espectros de absorción fueron obtenidos colocando el pigmento en cubetas de cuarzo de 10 mm de longitud con un barrido espectral entre 520 y 700 nm, Se cuantificó el contenido total de antocianinas mediante el método de pH diferencial utilizando las ecuaciones descritas en la AOAC. Se prepararon dos soluciones buffer: una de KCl 0,025 M ajustando el pH a 1 con HCl y otra de acetato de sodio 0,5 M ajustando el pH a 4,5 con HCl. Se hicieron reaccionar de forma independiente 2 mL de los dos diferentes buffers con 0.5 mL del sobrenadante obtenido de la mezcla de harina de col con agua destilada para dejarlos reposar por 15 minutos y posteriormente colocar la cubeta de cuarzo en el espectrofotómetro para dar lectura (AOAC, 2005).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Rendimiento de la elaboración de harina de col morada**

De los 45 kg de col morada fresca que se procesaron se obtuvo un total de 4.447 kg de harina de col morada, resultado aproximado que ya se esperaba de acuerdo a lo reportado por Rodríguez *et al.*, (2019), en donde reportan un contenido de humedad en col morada del 90.69%, quedando un 9.31% de materia seca. En esta investigación del 100% de col morada fresca se obtuvo un 9.88% de materia seca. En la tabla 1 se observa el balance de la materia prima.

Tabla I. Balance de materia prima para la obtención de harina de col morada.

Col morada	K	%
Hortaliza fresca	45	100
Hortaliza seca	4.447	9.88

### Análisis químico proximal

En la Tabla II se observan los resultados obtenidos de las diferentes determinaciones realizadas a la harina de col morada, los carbohidratos presentan el mayor componente, cabe mencionar que se calcularon por diferenciación. La proteína es el segundo componente con mayor presencia seguido de las cenizas y la humedad. En estudio realizado por Delgado (2020), en donde obtuvo harina de brócoli se observó que su producto obtuvo 4.72% de humedad, valor que resulta más bajo en comparación a este estudio, esto pudo deberse a que el deshidratado lo realizó a 60°C, temperatura que pudo promover una mayor evaporación del agua contenida en el brócoli. En relación a la grasa la harina de brócoli presentó de grasa 0.08%, fibra 12.16%, proteína 4.83% y cenizas 7.47%, éstas últimas también acercándose a los valores de la harina de col morada.

Tabla II. Análisis químico proximal en harina de col morada.

	Harina de col morada
Humedad (%)	6.01±0.53
Grasa (%)	0.55±0.03
Fibra (%)	0.1±0.01
Proteína (%)	15.57±0.17
Cenizas (%)	8.71±0.53
HCO (%)	68.61±0.15

### Actividad de agua (aW), pH y °Brix

La Tabla III presenta los resultados de la actividad de agua en la harina de col morada, el valor obtenido fue de 0.28, lo que indica ser un producto con humedad baja, evitando tener condiciones para el crecimiento de microorganismos y ayudando a alargar su vida de anaquel. El pH de la harina de la col morada fue de 6.1 y los °Brix de 6.6. Rodríguez *et al.*, (2019). Hicieron un análisis físico químico también en harina de col morada en donde obtuvieron un pH de 4.6 y °Brix de 16.7, esto pudo deberse a la temporada del año en la que obtuvieron la hortaliza y a la maduración de la misma.

Tabla III. Actividad de agua (aW), pH y °Brix en col morada fresca y harina de col morada.

	Harina de col morada
aW	0.281±0

pH	6.15±0.02
°Brix	6.6±0.01

### Cuantificación de antocianinas totales

El contenido de antocianinas totales obtenido en la harina de col morada fue de 1073.83±3.9 mg/L, resultado totalmente diferente a lo obtenido por Rodríguez *et al.*, (2019) en donde obtuvieron en la harina de col que procesaron un total de antocianinas de 186.36 mg/L, este valor pudo verse disminuido en su investigación debido a la temperatura de secado a la que sometieron la col morada, provocando una pérdida en el contenido de antocianinas.

Tabla IV. Cuantificación de antocianinas totales en harina de col morada.

	Antocianinas totales mg eq cyan-3-glu
<b>Harina de col morada</b>	1073.83±3.9 mg/L

### CONCLUSIÓN

Se pudo determinar que la temperatura con la que se realizó el proceso de deshidratación y el proceso de molienda en la col morada fueron los adecuados debido a que los compuestos se conservaron, además de presentar el nivel adecuado de humedad, lo que permite conservarla por mayor tiempo.

Se concluye que la harina de col morada presenta propiedades físico químicas adecuadas para su conservación y para su aplicación en diferentes matrices alimentarias.

### BIBLIOGRAFÍA

- AOAC International. (1995). Official methods of analysis of AOAC International. Arlington, Va: AOAC International.
- AOAC International (2005). Official Method 2005.02 Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines pH Differential Method First Action 2005
- Ares, A. M., Nozal, M. J., & Bernal, J. (2013). Extraction, chemical characterization and biological activity determination of broccoli health promoting compounds. *Journal of Chromatography A*. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.07.051>
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). (2001). AOAC 10.035: Determinación de pH en frutas y vegetales.
- Budryn *et al.*, (2013). Influence of addition of green tea and green coffee extracts on the properties of fine yeast pastry fried products. *Food research international*, 50(1), 149-160.
- Delgado Santillan, Deysi. (2020). Elaboración de pasta alimenticia con sustitución parcial de harina de brócoli (*Brassica oleraceae* var. *italica*). Universidad Nacional de Chimborazo. Tesis de licenciatura.
- FAO. (2020). Frutas y verduras – esenciales en tu dieta: Año Internacional de las Frutas y Verduras, 2021. Documento de antecedentes. Roma.

- Gómez, M., & Namesny, A. (2010). Guía de las mejores frutas y hortalizas. España: Ediciones de Horticultura, S. L.
- INFOAGRO. (2011). Recuperado de: <http://fichas.infojardin.com/hortalizas-verduras/col-lombarda-col-roja-col-morada-repollo-rojo.htm>
- International Organization for Standardization, ISO. (2003). ISO: 2173:2003 Fruit and vegetable products – Determination of soluble solid-Refractometric method.
- Rodríguez *et al.*, (2019). Obtención de antocianinas de *la Brassica oleracea* var. *capitata* para el uso en alimentos. Dom. Cien., ISSN: 2477-8818 Vol. 5, núm. 1, pp. 652-666.
- Valadez Lopez, Artemio. (1994). Producción de Hortalizas. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Grupo Noriega Editores. Mexico D.F. – Mexico.
- Valencia-Arredondo, J.A. (2015). Sistema de un diseño electroforético en flujo libre para purificar antocianinas de col morada (*Brassica oleracea*) (Tesis de maestría). Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional. México, D.F.
- Wiczowski, W., Szawara-Nowak, D., y Topolska, J. (2015). Changes in the content and composition of anthocyanins in red cabbage and its antioxidant capacity during fermentation, storage and stewing. Food Chemistry, 167, 115-123.



## Variación de parámetros fisicoquímicos del jugo de manzana en una vida de anaquel de tres meses

S.G. García-Espitia<sup>1</sup>, K.K. García-Aguirre\*<sup>1</sup>, H. Inchaurregui-Méndez<sup>1</sup> y P.S. Alcalá-González<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Zacatecas, Departamento de Formación Específica, Calle Circuito del Gato No. 202. Col. Ciudad Administrativa, C.P. 98160, Zacatecas, Zacatecas, México. \*[karol.karobiote@gmail.com](mailto:karol.karobiote@gmail.com)

### RESUMEN

Se evaluó la variación en un lapso de algunas propiedades fisicoquímicas, la capacidad antioxidante y contenido de vitamina C de un jugo de manzana (*Malus domestica Borkh Grimes Golden*) del suroeste de Zacatecas. El fruto tenía un nivel de maduración de 13. El jugo presentó una acidez titulable de 0.25 g ácido málico/100 mL y pH de 4.53. Los grados Brix antes y después de la pasteurización convencional fueron 13 y de 14.5 respectivamente. La capacidad antioxidante aumentó 44.9% en el jugo pasteurizado al final de la evaluación y un 32% en el jugo sin pasteurizar; los carbohidratos totales sin pasteurizar de 228 mg/mL y con pasteurizar de 1300 mg/mL, después del tiempo de almacén los valores fueron 2696 y 4600 respectivamente. Se identificaron mohos y levaduras a partir de los 51 días de almacén en el jugo sin pasteurizar. Al evaluar las propiedades nutricionales del jugo de manzana respecto al su tiempo de almacenaje el nutriente que más varío en el tiempo de almacén es la Vitamina C que disminuyó un 47 % en el producto pasteurizado respecto al contenido inicial. En términos generales, el jugo evaluado mantiene su calidad nutricional tras 90 días de almacén.

**Palabras clave:** Frutas, manzana, jugos, actividad antioxidante, vitamina C, vida de anaquel.

### ABSTRACT

The variation in a period of time of some physicochemical properties, antioxidant capacity and vitamin C content of an apple juice (*Malus domestica Borkh Grimes Golden*) from southwestern Zacatecas was evaluated. The fruit had a ripening level of 13. The juice had a titratable acidity of 0.25 g malic acid/100 mL and a pH of 4.53. Brix degrees before and after conventional pasteurization were 13 and 14.5, respectively. The antioxidant capacity increased 44.9% in the pasteurized juice at the end of the evaluation and 32% in the unpasteurized juice; the total carbohydrates without pasteurizing of 228 mg/mL and with pasteurizing of 1300 mg/mL, after the storage time the values were 2696 and 4600 respectively. Molds and yeasts were identified from 51 days of storage in unpasteurized juice. When evaluating the nutritional properties of apple juice with respect to its storage time, the nutrient that varies most in storage time is Vitamin C, which decreased by 47 % in the pasteurized product with respect to the initial content. In general terms, the evaluated juice maintains its nutritional quality after 90 days of storage.

**Keywords:** Fruits, apple, juices, antioxidant activity, vitamin C, shelf life.

## INTRODUCCIÓN

La industria alimentaria intenta ofrecer al consumidor una gran variedad de alimentos durante todo el año que sean de buena calidad y con una mayor duración de vida útil, por este motivo, se ha innovado en el desarrollo de tecnologías de conservación como la aplicación de procesos térmicos en donde se encuentra la pasteurización. La NOM-130-SSA1-1995, Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias define la pasteurización un “tratamiento térmico que generalmente se realiza a temperatura por debajo de los 100°C y se aplica para la destrucción de microorganismos patógenos viables y la inactivación de enzimas de algunos alimentos líquidos”. Actualmente se pasteurizan gran cantidad de alimentos como refrescos, cerveza, helados, lácteos, ovoproductos y zumos de frutas. Sin embargo, a pesar de los beneficios del tratamiento térmico, una serie de cambios tienen lugar en el producto que altera su calidad final, por ejemplo, sabor, color, textura y aspecto general (Barbosa & Bermúdez, 2010).

En la actualidad los consumidores están buscando en sus alimentos, características similares al alimento fresco, junto con alta calidad sensorial y alto contenido nutricional. Por este motivo se proponen alternativas de pasteurización que sean capaces de preservar los atributos de calidad nutricional del alimento, bajo costo y amigables con el ambiente (Barbosa & Bermúdez, 2010).

La Norma CX-STAN 247-2005 para Zumos (jugos) tiene como definición de jugo de fruta el líquido sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas. Algunos jugos se elaboran junto con sus pepitas, semillas y pieles, que normalmente no se incorporan al zumo, aunque son aceptables algunas partes o componentes de pepitas, semillas y pieles que no puedan eliminarse mediante las buenas prácticas de fabricación (BPF).

El jugo que se prepara mediante procedimientos adecuados mantiene las características físicas, químicas, organolépticas y nutricionales esenciales del jugo de la fruta que proceden. Pueden ser turbios o claros, todos ellos deben obtenerse por procedimientos físicos adecuados y que deben proceder del mismo tipo de fruta para ser llamado jugo o zumo, ya que si se obtiene de más de un tipo de fruta se le conoce como zumo mixto. Para el estudio realizado se obtuvo del puré de fruta, por el procedimiento de tamizado, triturado o desmenuzando la parte comestible de la fruta entera. En México el jugo más consumido es el jugo de Manzana, en segundo lugar, el jugo Mango y, el jugo de menor consumo es el que se obtiene de la Uva.

Por otro lado, el manzano es probablemente el árbol frutal de más amplia distribución mundial. Las variedades de manzana cultivadas comercialmente hoy en día se derivan principalmente de la *Malus pumila*. Entre las variedades de mayor producción mundial de este importante fruto se pueden mencionar las siguientes: *Golden Delicious*, *Red Delicious*, *Rome Beauty*, *Starking* y *Starkimson*, de las cuales *Golden Delicious* y *Red Delicious* se producen en México (González & Holguín., 2016).

El fruto de la manzana se utiliza para elaborar jugo debido a que presenta un 89% de rendimiento, además del aporte nutricional asociado al alto contenido en fibra como la pectina, y además aporta Potasio y Vitamina C y algunos antioxidantes, que son nutrientes en la vida diaria y ayudan a tener una buena nutrición complementando con otros alimentos (Sociedad Española de Nutrición Comunitaria, 2011), (Hidalgo *et al.*, 2016).

Debido a lo mencionado anteriormente, se propone en este trabajo realizar la caracterización de la manzana (*Malus doméstica Borkh Grimes Golden*), la preparación del jugo y la determinación de sus parámetros fisicoquímicos del jugo en vida de anaquel de 3 meses. Este jugo es obtenido y analizado antes y después de la técnica de pasteurización convencional; esto con el objetivo de comparar los resultados en un futuro con los de una pasteurización por cavitación.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

El estudio tuvo 90 días de duración, se consideraron para la comparación los valores de los parámetros fisicoquímicos evaluados al inicio y al final del periodo de estudio, además se realizó una comparación de los parámetros entre el jugo sin pasteurizar el jugo pasteurizado. Las metodologías en general empleadas se describen a continuación.

#### **Caracterización de la manzana antes de elaborar el jugo**

##### **Determinación de acidez titulable**

Se realizó la determinación de acidez titulable por medio de la NMX-FF-011-1982. Productos alimenticios no industrializados, para uso humano. Fruta fresca. Determinación de acidez titulable. Método de titulación. Se pesaron 5 g de manzana a la cual se le agregaron 20 mL de agua destilada para su posterior licuado, después se colocó en un matraz Erlenmeyer de 100 mL, este procedimiento se realizó por triplicado y por último las muestras se titularon con NaOH [0.1N] utilizando como indicador fenolftaleína al 1% en etanol al 80%.

##### **Determinación de pH**

Se licuaron 10 g de manzana en 50 mL de agua y se midió el pH con un Medidor previamente calibrado de la marca Oakton 700.

##### **Elaboración del jugo**

Se elaboró el jugo de manzana bajo la metodología de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Primero se eligió fruta de calidad y madura, posteriormente se realizó un lavado de la fruta en una solución de hipoclorito al 10% y se dejó en reposo 10 min, en seguida del lavado se descorazonó la fruta y se cortó en 4 para proseguir a realizar el escaldado a una temperatura de 85°C por 5 minutos. Al tener la fruta escaldada se prosiguió a realizar el puré donde se colocó la fruta con piel en una procesadora de alimentos y se licuó, ya obtenido el puré se exprimió para obtener el jugo por el método de prensa. El jugo se centrifugó por 15 min a 2,000 rpm para eliminar bagazo del jugo, cuando se obtuvo el jugo filtrado se colocó el recipiente de vidrio previamente esterilizados.

##### **Pasteurización de jugo a UHT (Ultra High Temperature)**

Se colocó el jugo filtrado en recipientes de vidrio previamente lavados y esterilizados y se colocó en la autoclave a una presión de 1.15 Bar durante 1 min. Posterior a la pasteurización se dejó enfriar y se conservó a refrigeración a 4 °C.

##### **Medición de pH en el jugo**

Se midió el pH con un Medidor de pH para Laboratorio Oakton 700.

### **Medición de grados Brix**

Se tomó una alícuota del jugo y se midió sus grados °Brix con el Refractómetro ABBE-REF 1.

### **Determinación de capacidad antioxidante por ABTS**

El jugo de manzana se diluyó 1:1 con etanol al 96% y se homogenizó en vortex. Para la cuantificación se utilizó una curva tipo de Trolox en un intervalo de concentraciones de 0-10 micromolar. La curva patrón se leyó en el espectro-UV a una absorbancia de 730 nm. Para la lectura de muestras problema se colocaron 40 µL de jugo de manzana previamente ya tratado y, se agregó 3960 µL de ABTS completando un volumen de 4 mL, se dejó en reposo 5 minutos y se leyó la absorbancia. Para obtener la concentración de Trolox en el jugo de manzana se interpoló en la curva tipo obtenida.

### **Determinación de Vitamina C**

Para evaluar la Vitamina C se utilizó la NMX-F-229-1972. Método de prueba para la determinación de vitamina "c" en leche con modificaciones. La cuantificación se realizó empleando una curva tipo de ácido ascórbico con un intervalo de concentraciones de 0-1 mg/mL. Para la lectura de muestras problema se colocó 40 µL de jugo de manzana previamente ya tratado y se agregó 3960 µL de la solución de sal sódica del 2.6 diclorofenol indofenol completando un volumen de 4 mL, se dejó en reposo 5 minutos y se leyó la absorbancia.

### **Azúcares totales**

Se determinaron los azúcares totales por el método Fénol-Sulfúrico. Se realizó una dilución 1:200 con agua destilada para el jugo sin pasteurizar. Agregando 1 mL de jugo de manzana y 200 mL de agua destilada. Para el jugo pasteurizado se realizó una dilución de 1:400 de igual manera se diluyó con agua destilada. Para la cuantificación se empleó una curva tipo de glucosa con un intervalo de concentración de 0-1 mg/mL.

## **Metodología para pruebas microbiológicas**

### **Cuantificación de Coliformes Totales**

En la realización de conteo de coliformes totales en placa se utilizó la NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Se utilizó Agar Bilis Rojo. La preparación de la muestra se realizó bajo la NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Las muestras se colocaron en cajas Petri desechables estériles 0.1 mL de la dilución  $10^{-1}$  y se vertió 15-20 mL del medio ABRV. Se repitió el procedimiento con las demás diluciones, se dejó solidificar el medio y se incubó a 35°C durante 24 h, al terminar el periodo de incubación se realizó la cuantificación de bacterias.

### **Cuantificación de mohos y levaduras por método rápido**

Las muestras se colocaron en placas Petrifilm rápido para recuento de hongos y levaduras 0.1 mL de las diluciones, se homogenizó la muestra en la placa y se incubó a 28°C durante 24 h, posteriormente se realizó el conteo de colonias. Se utilizó la dilución de  $10^{-3}$  para el análisis.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La manzana utilizada para la elaboración del jugo tenía un peso promedio de 35 g con una acidez titulable de 0.250 g de ácido málico/100 mL, el pH de la manzana utilizada para el jugo fue de 4.53. Para saber si la manzana tiene la madurez adecuada para elaborar el jugo se debe tener un valor de sólidos solubles 11-13 (Feippe, 1993), los frutos seleccionados cumplieron con un valor de 13.

Para este estudio se consideró jugo sin pasteurizar y jugo pasteurizado por tratamiento térmico, los °Brix obtenidos de cada muestra fueron 13 y 14.5 respectivamente cumpliendo con lo indicado en la NMX-F-045-1982. Alimentos frutas y derivados. Jugo de Manzana.

En la Tabla I, se condensa la información obtenida en el estudio. Al analizar la variación de la capacidad antioxidante en el jugo sin pasteurizar y pasteurizado se observa un aumento en el valor de este parámetro en ambos casos. En el jugo sin pasteurizar tuvo un incremento del 32% y en el jugo pasteurizado 45% el comportamiento de los antioxidantes respecto al tiempo de almacén coincide con lo reportado por (Franco *et al.*, 2016). El aumento de la capacidad antioxidante respecto al tiempo de almacenamiento se puede atribuir a la producción de azúcares reductores durante el almacenamiento; a lo que se refieren como "edulcorante en almacenamiento" y que son estos utilizados como sustratos para la síntesis de compuestos polifenólicos futuros, también puede deberse a un aumento en la actividad fenilalanina amonioliasa (PAL), que se traduce en un incremento en la concentración de compuestos polifenólicos libres, junto con el bajo nivel de actividad polifenoloxidasas que pueden reducir la oxidación de sustratos fenólicos a quinonas. A su vez podrían aumentar los metabolitos mencionados, como respuesta al estrés provocado durante el almacenamiento, ocurriendo reacciones derivadas del metabolismo de los compuestos fenólicos (Ginzberg *et al.*, 2009).

**Tabla I.** Valores de los parámetros evaluados al inicio y final del estudio.

Parámetro	Tratamiento	0 días	90 días
Capacidad antioxidante (Trolox µM/mL)	Sin pasteurizar	4.25	6.26
	Pasteurizado	3.8	6.9
Concentración de Vitamina C	Sin pasteurizar	0.089	0.063
	Pasteurizado	0.085	0.045
Carbohidratos totales (mg/mL)	Sin pasteurizar	228	2696
	Pasteurizado	1300	4600

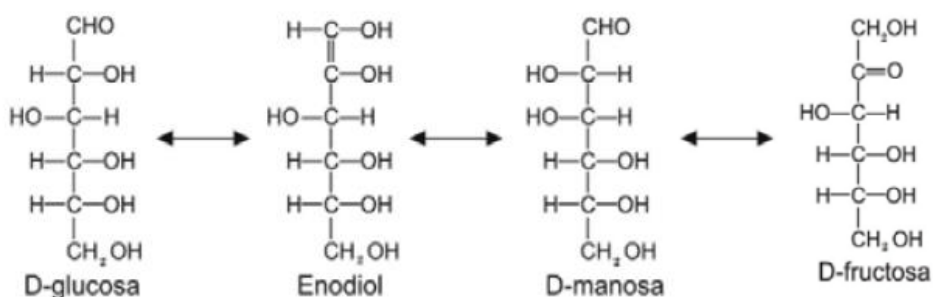
A diferencia de la concentración de los antioxidantes, la concentración de Vitamina C en el jugo de manzana disminuyó un 29.2% en el jugo sin pasteurizar y en el jugo pasteurizado descendió la concentración a un 47%; la gran pérdida de concentración se puede atribuir a la degradación química que sufre dicho componente debido a la oxidación promovida por el enzima ascorbato oxidasa, la ruptura de la fruta acelera su destrucción, debido a que se facilita el acceso del oxígeno a la fruta, así que simplemente con el cortado y pelado de fruta se pierde gran cantidad de Vitamina C, si aparte añadimos calor al jugo de manzana al ser una molécula termosensible se pierde una mayor cantidad de Vitamina C (Domínguez, 2011). Aunque en el jugo elaborado se perdió un gran porcentaje de Vitamina C la menor pérdida es comparada con la pasteurización utilizada con los jugos comerciales como lo reporta (Ayala *et al.* 2014); en jugos con pérdida de Vitamina C de hasta un 93.8%. Los factores que determinan la estabilidad de este compuesto bioactivo en una matriz alimenticia son la temperatura, tiempo, disponibilidad de oxígeno, pH, luz y la presencia de otros agentes antioxidantes y reductores (Zerdin *et al.*, 2003), (Rawson *et al.*, 2011), (Rodríguez *et al.*, 2015).

Sin embargo, la concentración de Vitamina C en el jugo pasteurizado y no pasteurizado cumple con lo que indica la NMX-F-045-1982. Alimentos. Frutas y derivados. Jugo de manzana; ya que tenemos una concentración menor de 0.15 mg/mL. La concentración de Vitamina C se ha utilizado como indicador de la calidad de los zumos de frutas y también como marcador de su vida útil, de acuerdo con algunos autores, los jugos de fruta llegan al final de su vida útil cuando la concentración de la

Vitamina C llega al 50% del contenido inicial, según los resultados obtenidos ninguno de los 2 jugos llegó al final de la vida útil (Klimczak *et al.*, 2006), (Shaw *et al.*, 2000).

Como se observa en la Tabla I, durante el tiempo de almacenamiento se obtuvo un aumento de concentración de azúcares totales; lo cual se debe a la composición química de los monosacáridos ya que tienen un grupo aldehído o una cetona, e hidroxilos y los cambios químicos a los que están sujetos se relacionan con las transformaciones de estos grupos funcionales ya que se ven afectados por ácidos, álcalis, altas temperaturas y agentes oxido-reductores que provocan su ciclación, isomerización, enolización, deshidratación, oxidación y/o reducción (Badui, 2006).

Además, el jugo de manzana al tener presencia de antioxidantes favorece a la isomerización de azúcares simples llamada transposición de Lobry de Bruyn-Van Ekenstein (ver Fig. 1) (Arias & López, 2019).



**Figura 1.** Transformación de Lobry de Bruyn-Alberda van Eckenstein (Arias & López, 2019).

Las reacciones por calentamiento a bajos valores de pH, caracterizadas por la presencia de ácidos inorgánicos, conllevan a la deshidratación de las moléculas de azúcar, formándose compuestos cíclicos responsables de oscurecimiento no enzimático, fenómeno que se observó al pasteurizar el jugo.

En los zumos de fruta sometidos a tratamientos térmicos, las reacciones de monosacáridos dependen estrechamente de la cantidad de sólidos solubles contenidos en el producto (Arias & López, 2019). El cambio de color del jugo después de la pasteurización es por dos motivos; pardeamiento enzimático y no enzimático, en el caso del pardeamiento enzimático, la acción sobre el color del alimento se debe a la presencia de la polifenoloxidasas, mientras que durante el proceso de naturaleza no enzimática se destacan las reacciones de caramelización de Maillard y de oxidación del ácido ascórbico (Manzocco *et al.*, 2000). El efecto de la temperatura si bien es cierto impide la actividad microbiana, acelera la tasa de reacciones químicas en el jugo (Reece, 2003). La producción de azúcares reductores durante el almacenamiento a lo que se refieren como "edulcorante en almacenamiento" es importante y son estos utilizados como sustratos en el proceso.

En cuanto a la parte microbiológica, el jugo de manzana sin pasteurizar y pasteurizado durante los 90 días no presentó coliformes, los resultados se muestran en la Tabla II. En el jugo de manzana sin pasteurizar dio positivo a presencia de levaduras desde el día 51 de almacenamiento lo cual coincide con lo mencionado por (Suárez y Cobranes, 2010), considerando que la fermentación en el jugo de manzana sin inocular con levadura inicia desde el día 20 las principales levaduras que se desarrollan en el jugo de manzana son del género *Saccharomyces*, principalmente *Saccharomyces cerevisiae*

aunque no se puede descartar la presencia de otras especies del mismo género como *S. uvarum* que se ha encontrado en jugos de manzana almacenados a temperaturas de 10 °C (González *et al.*, 2019).

**Tabla II.** Resultados de la evaluación microbiológica.

Tiempo de almacén (Días)	Jugo sin Pasteurizar		Jugo Pasteurizado	
	Coliformes totales	Mohos y levaduras	Coliformes totales	Mohos y levaduras
0	-	-	-	-
24	-	-	-	-
51	-	+	-	-
90	-	++	-	-

## CONCLUSIÓN

A partir del estudio realizado se observó que el jugo de manzana pasteurizado mantiene una inocuidad después de 90 días, además la concentración de Vitamina C presente en el producto, a pesar de presentar una disminución considerable (47 %) se encuentra entro de los límites válidos en cuanto a concentración y vida de anaquel aceptable, por otro lado, los incrementos en contenido de azúcares totales y actividad antioxidante determinada por el método del ABTS, tanto en el jugo pasteurizado como el no pasteurizado, se pueden atribuir a las reacciones químicas de transformación de los azúcares por reacciones de óxido-reducción presentes en el medio.

En general, se observa que el proceso empleado para la obtención del jugo de manzana a partir de un producto regional que pasa por un proceso de pasteurización térmica, mantiene características fisicoquímicas apropiadas para su consumo en un tiempo de anaquel de 90 días, lo que permitiría en su momento plantear alternativas de desarrollo de productos locales de manera artesanal.

## BIBLIOGRAFÍA

- Arias, S., & López, D. (2019). Reacciones químicas de los azúcares simples empleados en la industria alimentaria. *Lápsakos*, 123-136.
- Badui. (2006). *Química de los alimentos*. Capítulo 6. Distrito Federal, México: Pearson Publications Company.
- Barbosa, G., & Bermúdez, D. (2010). Nonthermal Processing of Food. *Scientia Agropecuaria*, 81-93.
- Domínguez, Castello, & Ortola. (2011). Influencia de los tratamientos térmicos en la elaboración de productos untables de kiwi formulados con sacarosa isomaltulosa-fructosa. Tesis en Gestión y seguridad alimentaria, 16.
- Feippe, A. (1993). Momento óptimo de cosecha en Manzana. INIA URUGUAY, 16.
- Franco, Y., Rojano, B., Alzate, A., Morales, D., & Maldonado, M. (2016). Efecto del tiempo de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, antioxidantes y antiproliferativa de néctar de agraz (*Vaccinium meridionale Swartz*). Grupo Impacto de los Componentes Alimentarios en la Salud, 66(4), 216-271.
- Ginzberg, Tokuhisa, & Veilleux. (2009). Potato steroidal glycoalkaloids: Biosynthesis and genetic manipulation. *Potato Research*, 52(1), 1-15.
- González, & Holguín. (2016). Caracterización fisicoquímica de 5 variedades de manzana producida

- en el estado de Chihuahua. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Química.
- Gonzalez, M., Lopes, C., & Rodríguez, E. (2019). *Saccharomyces uvarum* de ambientes naturales bebidas fermentadas de la Norpatagonia. Caracterización y potencial para elaborar sidras a bajas temperaturas. Universidad Nacional del Comahue, Centro Regional Universitario Bariloche, México.
- Hidalgo, R., Gómez, M., Escalera, D., Rojas, P., & Hinojosa, J. (2016). Beneficios de La Manzana (*Malus domestica*) en la Salud. *Revista de Investigación e Información en Salud*, 11(28), 20.
- Klimczak, Malecka, Szlachta, & Gliszczynska. (2006). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2(12), 313-322.
- Manzocco, Calligaris, Mastrocola, Nicoli, & Lerici. (2000). Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science & Technology*, 11(10), 340-346.
- Norma General Para Zumos (Jugos) y Néctares de Frutas (CODEX STAN 247-2005) (Consultado: Julio 2019) Disponible en: [https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B247-2005%252FCXS\\_247s.pdf](https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B247-2005%252FCXS_247s.pdf)
- Norma Oficial Mexicana NMX-F-045-1982. Alimentos. Frutas y derivados. Jugo de manzana. [Consultado Julio 2019]. Disponible en: <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-045-1982.PDF>
- Norma Oficial Mexicana NOM-FF-40-1982, Productos alimenticios no industrializados para uso humano-fruta fresca. (Consultado: Julio 2019) Disponible en: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4779550&fecha=22/11/1982](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4779550&fecha=22/11/1982)
- Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. (Consultado Julio 2019) Disponible en: <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69533.pdf>
- Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. (Julio 2019) Disponible en: <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69536.pdf>
- Rawson, Patras, Tiwari, Noci, Koutchma, & Brunton. (2011). Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. *Food Research International*, 1875-1887.
- Reece. (2003). Optimizing aconitate removal during clarification. Thesis for the degree of Master of Science in Biological and Agricultural Engineering., 122.
- Rodríguez, F. J. (2015). Elaboración de Modelos de Dinámica de Fluidos Computacional (CFD) para Medidores de Flujos Volumétricos y Validación Experimental. Ecuador: Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción.
- Shaw, Frankel, & Rangavai. (2000). Lactoferrin in infant formulas: effect on oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 10(1021), 4984-4990.
- Sociedad Española de Nutrición Comunitaria. (2011). Manzana. España.
- Suárez, A., & Cobranes, C. (2010). Microorganismos de sidra natural asturiana avances de un estudio microbiológico. Centro de experimentación agraria villaciosa, 3-16.
- Zerdin, Rooney, & Vermue. (2003). The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material. *Food Chemistry*, 387.395.



## **Efecto del aceite esencial de orégano sobre el fruto de aguacate *Persea americana***

J. Martínez-Rojas\*<sup>1</sup>, S.R. Sinagawa-García<sup>1</sup>, P. Preciado-González<sup>2</sup>, J.C. López-Puga<sup>3</sup>, D.S. Rico-Costilla<sup>3</sup>, A.I. Luna-Maldonado<sup>1</sup>, J.R. Kawas<sup>1</sup> y G. Méndez-Zamora<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía. Av. Francisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá, General Escobedo, Nuevo León, México. C.P. 66050. Tel. (81) 1340 4399.

\*[jimena.martinezrjs@uanl.edu.mx](mailto:jimena.martinezrjs@uanl.edu.mx)

### **RESUMEN**

México es el principal productor mundial de aguacate, con desafíos en la cadena de suministro: reducir pérdidas en su producción. El objetivo del presente estudio se desarrolló para evaluar el aceite de orégano emulsificado (AEOE) en el aguacate analizando el peso, características métricas, color de la cáscara, pH y firmeza de la pulpa. Los grupos experimentales fueron T0: aguacates inmersos en agua sin AEOE, T200, T400 y T600: aguacates inmersos en agua con 200, 400 y 600 mg/L de AEOE, respectivamente. El peso más alto lo representó T400 y T200 menor pérdida de peso (PP). T200 y T600 presentaron mayor diámetro, y T200 la circunferencia más grande. L\*, a\*, b\* y Chroma (saturación) de la cáscara de los aguacates aumentaron para los aguacates tratados con AEOE. El efecto de los tratamientos fue significativo ( $p < 0.05$ ) para la firmeza, no así ( $p > 0.05$ ) en el pH, siendo T600 el mayor. El AEOE a una concentración de 600 y 400 mg/L en agua podría ser utilizado para retardar el cambio de color de los aguacates, mientras que a una concentración de 200 mg/L de AEO controlaría la pérdida de peso.

**Palabras clave:** calidad, color, emulsificación, firmeza, peso, pH.

### **ABSTRACT**

Mexico is the world's leading avocado producer, with challenges in the supply chain: reducing production losses. The present study was developed with the objective of applying emulsified oregano oil on avocado to evaluate its effect on peel by evaluating weight, metric characteristics, peel color, pH and firmness. The experimental groups were T0: avocados immersed in water without oregano essential oil (AEO), T200, T400 and T600: avocados immersed in water with 200, 400 and 600 mg/L of AEO, respectively. T400 had the highest weight and T200 the lowest weight loss (WL). T200 and T600 had the largest diameter, and T200 the largest circumference. L\*, a\*, b\* and Chroma (saturation) of avocado peel increased for those treated with AEOE. In pH and firmness, the effect of treatments was significant ( $p < 0.05$ ) for firmness, not so ( $p > 0.05$ ) in pH, with T600 being the highest. AEOE at a concentration of 600 or 400 mg/L applied in water immersion could be used to delay the color change of avocados, while at a concentration of 200 mg/L AEOE would control weight loss.

**Keywords:** quality, color, emulsification, firmness, weight, pH.

## INTRODUCCIÓN

México es el principal productor de aguacate en el mundo con el 30% de la producción (FAOSTAT, 2022). Este hecho destaca la importancia del aguacate en el sector agrícola y la cadena de suministro para satisfacer las necesidades de la población brindando un alimento de alta calidad al consumidor. El principal líder exportador y consumidor es México, con un total anual per cápita acerca de 8 kg (FAO, 2009). El aguacate (*Persea americana*) es un fruto climatérico que es utilizado en la industria alimentaria como producto procesado en pasta, salsa, trozos congelados, deshidratados y guacamole (Zafar y Sidhu, 2011; Duarte *et al.*, 2016).

En las cadenas de suministro alimentarias existen varios problemas relacionados con la conservación y la vida útil de los alimentos durante el transcurso de su producción y manejo. De la comida producida mundialmente para el consumo humano se estima que un tercio es desperdiciada, además de que las frutas y verduras tienen la tasa de desperdicio más alta (40-50%) entre las diferentes categorías de alimentos (FAO, 2011).

El color del aguacate cambia durante la maduración de verde a negro, así mismo el porcentaje de la humedad es modificado. La calidad está intrínsecamente relacionada al consumidor, debido a que poca calidad del producto repercute en no ser aceptable para su compra, sin importar el valor nutricional que contenga y finalmente será desperdiciado (Zafar y Sidhu, 2011). Lo cual representa una pérdida alimentaria, a causa de esto se está estudiando la incorporación de compuestos naturales, como sustitutos de los compuestos químicos sintéticos, proporcionando mejores atributos de calidad a los productos finales alimenticios (Paredes *et al.*, 2007).

Un constituyente que puede brindar mejor calidad física al fruto de aguacate pudiera ser el uso del aceite esencial de orégano (AEO). En México, el género más estudiado es *Lippia* (*L. berlanideri* o *L. graveolens*) perteneciente a la familia Verbenaceae, siendo el principal cultivo comercial en el mercado con una producción total del 35-40% mundial (Dunford y Silva, 2005; Cid-Pérez *et al.*, 2016), el cual posee propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Cui *et al.*, 2019; Aguilar-Sánchez *et al.*, 2019) debido a los principales componentes que posee como lo son el carvacrol y timol.

En el siglo XXI se ha incrementado la utilización de especies herbáceas, el AEO se ha utilizado en la industria alimentaria como potenciador de sabor, suplemento dietético, para conservación de alimentos crudos y procesados, reducción de hongos, aflatoxinas y esporas, así mismo para elevar la capacidad antioxidante y como uso antimicrobiano elevando la vida útil del producto y evitando tanto el crecimiento microbiano como la descomposición del mismo (Adame-Gallegos *et al.*, 2016; Portillo-Ruiz *et al.*, 2005; Gómez-Ramírez *et al.*, 2013).

La aplicación del AEO en la conservación del aguacate podría mejorar sus características biológicas manteniendo sus características físicas que pueden ser atractivas tanto para los proveedores como para los consumidores al apreciar los frutos con mejor calidad. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del aceite de orégano emulsificado en el peso, variables métricas, color de la cáscara, pH y firmeza de los aguacates.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Preparación del aceite esencial de orégano emulsificado (AEOE) y soluciones.** El AEO (*Lippia berlandieri* Schauer) se obtuvo de la empresa Natural Solutions S.M.I., Ciudad Jiménez, Chihuahua, México; el AEO tuvo una composición principal de 60 % carvacrol y 3.5 % timol (36.5 % otros componentes minoritarios). La preparación de la solución con AEO fue realizado según el procedimiento realizado por Hashemi *et al.* (2017) con algunas modificaciones. El AEO fue emulsionado con Tween20 en una relación 50:50 (AEOE) mezclándolo manualmente en vaso de precipitado y temperatura ambiente ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) durante 15 min. Una vez preparado, el AEOE se colocó en un tubo eppendorf de 50 mL con tapa para almacenarlo y usarlo hasta la preparación de los tratamientos.

**Diseño experimental.** Un total de 60 aguacates (*Persea americana*) “Hass” fueron seleccionados de acuerdo a su tamaño, estado de madurez, ausentes de deterioro ocasionados por microorganismos y daños en la cáscara por manejo. Posteriormente, los aguacates fueron desinfectados como lo realizaron González-Cuello *et al.* (2017), mediante una solución de sanitizante cítrico orgánico (10 mL/L) durante 5 min y secados a temperatura ambiente, en seguida fueron divididos en cuatro grupos experimentales (un grupo control y tres tratamientos). Los tratamientos con AEOE consistieron en la preparación de tres soluciones en 12 L de agua purificada por tratamiento y los aguacates se sometieron a inmersión en la solución preparada con el AEOE durante 1 min.

Los grupos experimentales fueron T0: aguacates control en inmersión sin aceite esencial de orégano (AEO), T200: aguacates en inmersión con 200 mg/L de AEOE, T400: aguacates en inmersión con 400 mg/L de AEOE, y T600: aguacates en inmersión con 600 mg/L de AEOE. Cada tratamiento consistió en 15 aguacates. Una vez que los aguacates fueron tratados experimentalmente, se colocaron en toallas secantes, escurridos y secados a temperatura ambiente, evitando secarlos directamente. Después, los aguacates fueron colocados en anaqueles. El peso inicial de cada aguacate fue determinado antes de aplicar los tratamientos y se usó como efecto covariable en los análisis de los datos. Las variables se evaluaron 24 h después de haber aplicado los tratamientos.

**Variables evaluadas.** El peso, diámetro y circunferencia de cada aguacate fueron medidos. El pH de la pulpa del aguacate fue determinado con un electrodo de punción (HANNA; HI99163, Woonsocket RI, USA). La firmeza de los aguacates fue determinada utilizando un texturómetro TA.XT.Plus (Stable Micro Systems Serrey, England) por el método de Maftoonazad *et al.* (2007) con algunas modificaciones. Una sonda geometría Dia cylinder P15 (Stable Micro Systems, Serrey, England) fue utilizada para evaluar la firmeza. Las condiciones utilizadas en el instrumento fueron una velocidad pre-prueba de 5 mm/s, 2 mm/s durante la prueba y post-prueba, y una distancia de 10 mm. Curvas de fuerza-tiempo de deformación fueron obtenidas y la firmeza fue presentada en Newtons/mm. Las variables de color se determinaron directamente en la cáscara del fruto usando un colorímetro (SADT®, Chin Spec®, Color Difference Meter, Colorimeter-SC20, Beijing, China) midiendo  $L^*$  (luminosidad),  $a^*$  (componente de verde a rojo),  $b^*$  (componente de azul a amarillo), Chroma (índice de saturación) y ángulo Hue (tonalidad).

**Análisis de datos.** En el análisis de los datos se consideró el peso inicial de los aguacates ( $\lambda$ ) como covariable y efecto del tratamiento ( $\tau_i$ ) en el modelo estadístico, expresado como  $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \lambda + \varepsilon_{ij}$ . Después del análisis de la varianza (GLM; Minitab® (versión 17.3.0, 2014)) para cada variable por

influencia de los efectos fijos, la  $H_0$  se rechazó cuando el valor de probabilidad fue menor a 0.05 ( $P < 0.05$ ), y cuando ocurrió esto, una comparación de medias se realizó con la prueba estadística Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Peso y características métricas.** La Tabla 1 muestra el efecto del AEOE en el peso de los frutos, mientras que la Figura 1 presenta las características métricas (diámetro y circunferencia). El efecto de los tratamientos no fue significativo ( $p > 0.05$ ) sobre el peso, pérdida de peso (PP) y características métricas; sin embargo, T200 (200 mL/L de AEOE) presentó el valor alto del peso. T0 (tratamiento control sin AEOE) perdió más peso. T200 (200 mL/L de AEOE) y T600 (600 mL/L de AEOE) presentaron el mayor diámetro, y T200 obtuvo la circunferencia más grande y T600 la menor. T400 (400 mL/L de AEOE) presentó menor diámetro.

**Tabla 1.** Efecto del aceite esencial de orégano emulsificado en el peso de los aguacates.

Tratamientos <sup>1</sup>	Variables <sup>2</sup>		
	PI (g)	Peso (g)	PP (%)
T0	274.20 <sup>a</sup>	269.32 <sup>a</sup>	1.49 <sup>a</sup>
T200	273.20 <sup>a</sup>	269.74 <sup>a</sup>	1.33 <sup>a</sup>
T400	278.07 <sup>a</sup>	269.67 <sup>a</sup>	1.39 <sup>a</sup>
T600	270.73 <sup>a</sup>	269.31 <sup>a</sup>	1.45 <sup>a</sup>
EEM	6.07	0.95	0.35
P-values			
Tratamiento ( $\tau_i$ )	0.486	0.472	0.499

<sup>1</sup>T0: aguacates control en inmersión sin aceite esencial de orégano emulsificado (AEOE); T200: aguacates en inmersión con 200 mg/L de AEOE; T400: aguacates en inmersión con 400 mg/L de AEOE; T600: aguacates en inmersión con 600 mg/L de AEOE. EEM: error estándar de la media. <sup>a</sup> Medias en columnas con diferente superíndice difieren estadísticamente entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).

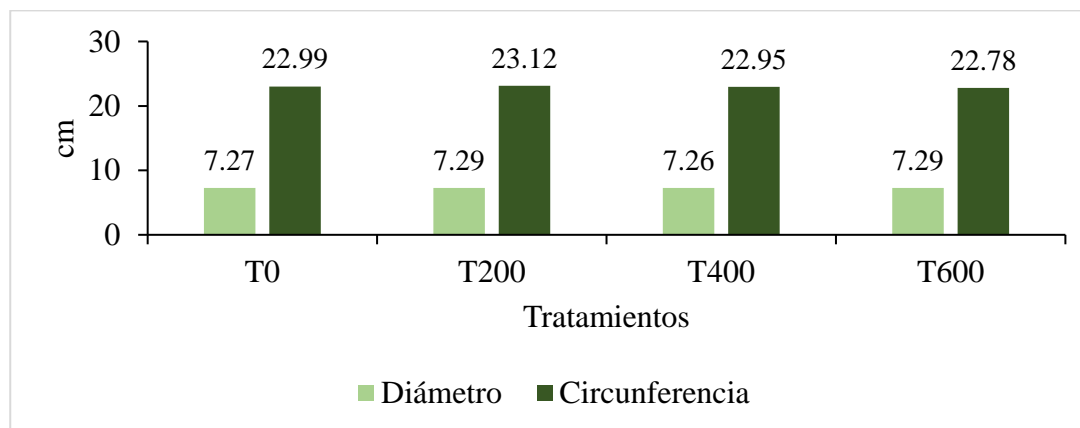
Como se ha mostrado en otras investigaciones en aguacate (Pérez *et al.*, 2004; Aguilar-Méndez *et al.*, 2008; Maftoonazad & Ramaswamy, 2008; Iñiguez-Moreno *et al.*, 2020) y en uva (Pastor, 2011), la PP incrementa durante el almacenamiento. En esta investigación el peso, PP, diámetro y circunferencia no se afectaron por los tratamientos. Aunque en pocas investigaciones (Ge *et al.*, 2017; Abraham *et al.*, 2018) han reportado el comportamiento del peso, diámetro y circunferencia en aguacates, los resultados de la presente investigación están dentro de los datos reportados.

En la investigación realizada por Manuwa y Mahummad (2010) reportaron que el tamaño de los frutos disminuye debido al incremento del contenido de la humedad, por lo cual se puede inferir que T200 tiene la menor humedad ya que es el que presenta mayor circunferencia y diámetro en la investigación. Así mismo, en el estudio realizado por Perdonés *et al.* (2016) en la aplicación de AEO en recubrimientos sobre tomate redujeron la PP de los frutos, sin afectar el peso de los frutos tratados y no tratados como sucedió en esta investigación.

En los frutos la aplicación de los tratamientos no presentó diferencia significativa en el presente estudio; esto se debe a que las nanoemulsiones como recubrimientos comestibles son sistemas de

tamaño submicrométrico, las cuales tienen pesos mínimos casi despreciables (Acosta, 2009; Mora-Huertas *et al.*, 2010; Ranjan *et al.*, 2014).

En el actual estudio fue encontrado que la PP, diámetro y circunferencia presentaron los valores bajos en aguacates tratados con AEOE.



**Figura 1.** Características métricas de los aguacates tratados con aceite esencial de orégano emulsificado.

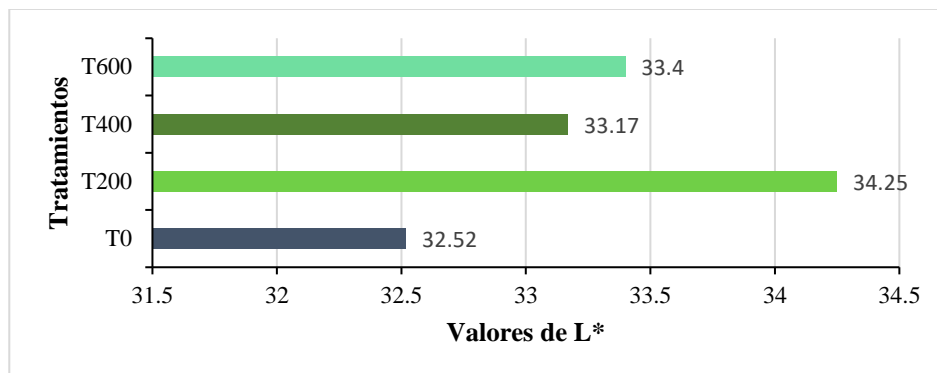
<sup>1</sup>T0: aguacates control en inmersión sin aceite esencial de orégano emulsificado (AEOE); T200: aguacates en inmersión con 200 mg/L de AEOE; T400: aguacates en inmersión con 400 mg/L de AEOE; T600: aguacates en inmersión con 600 mg/L de AEOE.

**Color de la cáscara del aguacate.** El AEOE usado para evaluar el efecto sobre las mediciones de las variables de color en la cáscara de los aguacates es presentado en la Tabla 2. Todas las variables resultaron iguales ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos. El T200 (200 mL/L de AEOE) presentó los valores altos para las variables de  $L^*$ ,  $b^*$  y Chroma, mientras que para  $a^*$  y ángulo Hue, T400 (400 mL/L de AEOE) tuvo los valores altos. Los valores bajos de  $L^*$ ,  $b^*$  y Chroma fueron obtenidos por el T0 (aguacates control en inmersión de sin AEO).

Estudios realizados en la aplicación de recubrimientos y biopelículas (Saucedo-Pompa *et al.*, 2009); Mardigan *et al.*, 2014; Aguirre-Joya *et al.*, 2017) para el tratamiento de frutos de aguacate se han observado resultados similares en el color del fruto, conservando los valores para  $L^*$ ,  $a^*$  y Chroma; en otros casos (Jeong *et al.*, 2003; Maftoonazad y Ramaswamg, 2005; Ashton *et al.*, 2006; Aguirre-Joya *et al.*, 2017;) se obtuvo una ligera disminución; mientras que para aquellos frutos que no fueron tratados (frutos control), las variables resultaron menores en contraste a los sumergidos en agua con 200, 400 y 600 ml/L de AEOE.

En el presente estudio se obtuvieron resultados altos para los tratamientos que en el control en los valores de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Chroma (saturación) y el ángulo Hue (tonalidad) de la cáscara del aguacate; lo que puede demostrarse el efecto del AEOE para retardar el cambio de color de la cáscara de los aguacates inmersos en agua con 200, 400 y 600 mL/L de AEOE, ya que los valores de estos indicaron un color menos negro ( $> a^*$  y  $< Hue$ ). El retardo de cambio de color en los aguacates tratados con AEOE es debido al efecto del carvacrol y timol del AEO, los cuales presentan actividad antioxidante (Rodríguez-García *et al.*, 2015), y disminuyen la pérdida de color; datos similares fueron encontrados

por Saucedo-Pompa *et al.* (2009), Cenabio-Galindo *et al.* (2019) y Handayani *et al.* (2018) en recubrimiento de aguacates y disminuyeron la pérdida de color de la cáscara.



**Figura 2.** Luminosidad de los frutos sumergidos en aceite esencial de orégano emulsificado.

T0: aguacates en inmersión control sin aceite esencial de orégano emulsificado (AEOE); T200: aguacates en inmersión con 200 mg/L de AEOE; T400: aguacates en inmersión con 400 mg/L de AEOE; T600: aguacates en inmersión con 600 mg/L de AEOE.

Los cambios de color presentados en la cáscara del aguacate se deben a la degradación de los pigmentos de clorofila del fruto, lo cual deriva las tendencias de color verde a amarillo y tendencia a tonalidades oscuras (Hndayin *et al.*, 2018). En los resultados obtenidos por Cox *et al.* (2004) mostraron un aumento en metabolitos como las antocianinas y cianidin-3-O-glucosidasa durante la evaluación de los cambios de color en la cáscara y pigmentos, las cuales aumentaban con la tonalidad negra del fruto y disminuyen las concentraciones de clorofila debido a su degradación; esto explica los resultados obtenidos para los aguacates del grupo experimental T0. De acuerdo con Lambert *et al.* (2001) y Dawidowics *et al.* (2014), los aceites esenciales presentan altos porcentajes de carvacrol, eugenol y timol que tienen altas propiedades antioxidantes, siendo reflejadas en T200 y T400.

**Tabla 2.** Aceite esencial de orégano emulsificado en el color de la cáscara de los aguacates.

Tratamientos <sup>1</sup>	Variables de color <sup>2</sup>			
	a*	b*	Chroma	Ángulo Hue
T0	-3.64 <sup>a</sup>	13.96 <sup>a</sup>	14.57 <sup>a</sup>	103.42 <sup>a</sup>
T200	-3.96 <sup>a</sup>	15.40 <sup>a</sup>	15.91 <sup>a</sup>	103.76 <sup>a</sup>
T400	-3.43 <sup>a</sup>	15.10 <sup>a</sup>	15.83 <sup>a</sup>	104.22 <sup>a</sup>
T600	-3.89 <sup>a</sup>	15.23 <sup>a</sup>	15.87 <sup>a</sup>	103.34 <sup>a</sup>
EEM	0.63	1.07	1.09	10.50
P-values				
Tratamiento ( $\tau_i$ )	0.666	0.115	0.484	0.786

<sup>1</sup>T0: aguacates en inmersión control sin aceite esencial de orégano emulsificado (AEOE); T200: aguacates en inmersión con 200 ppm de AEOE; T400: aguacates en inmersión con 400 ppm de AEOE; T600: aguacates en inmersión con 600 ppm de AEOE. EEM: error estándar de la media.

<sup>a</sup> Medias (n=15/tratamientos) dentro de una misma columna, dentro de cada tratamiento, entre días y con diferentes superíndices en minúsculas son estadísticamente diferentes (p<0.05).

**pH y Firmeza.** El efecto de los tratamientos fue significativo (p<0.05) para la firmeza, no así (p>0.05) en el pH. La firmeza fue mayor (p<0.05) para T600, mientras que T0 fue menor (p<0.05).

La firmeza en los aguacates aumentó en aquellos frutos que fueron sumergidos en agua durante un minuto con 200, 400 y 600 mL/L de AEOE. El pH resultó bajo para T0, lo que indica un efecto de los tratamientos debido al AEO. Posiblemente, los poros de la cáscara del aguacate fueron alterados debido a la presencia de grupos fenólicos OH del aceite de orégano, lo que causó un efecto en la cáscara del aguacate. Por lo tanto, el proceso metabólico de maduración no incrementó. Saucedo-Pompa *et al.* (2009) observó un aumento del pH (7.5) al examinar los recubrimientos de aguacate con 2% de quitosano. Los resultados de pH obtenidos de los frutos en el presente estudio aumentaron, a mayor concentración de AEO en el recubrimiento, mayor fue el pH, lo cual fue similar a los resultados reportados por Saucedo-Pompa *et al.* (2009) al estudiar las propiedades físicas y el contenido microbiológico de la pulpa de aguacate “Hass”. El pH del aguacate tiende a tener valores cercanos a la neutralidad (Aguilo-Aguiayo *et al.*, 2014) a diferencia de la información obtenida para T400 y T600, que dieron los valores más altos de pH, a lo contrario por Pintó *et al.* (2001) quienes sugieren que debido al proceso de maduración del fruto y altos niveles de CO<sub>2</sub> resulta en la acidificación del citoplasma, obteniendo valores más bajos de pH. Los resultados actuales sugieren que los aguacates inmersos en agua con 400 y 600 mL de AEOE retardaron el proceso de maduración, ya que la firmeza fue mayor para esos tratamientos.

**Tabla 3.** Influencia del aceite esencial de orégano emulsificado sobre el pH y la firmeza de los aguacates.

Tratamientos <sup>1</sup>	pH	Firmeza (N)
T0	7.31 <sup>a</sup>	44.70 <sup>b</sup>
T200	7.21 <sup>a</sup>	47.78 <sup>b</sup>
T400	7.47 <sup>a</sup>	60.90 <sup>ab</sup>
T600	7.59 <sup>a</sup>	83.10 <sup>a</sup>
EEM	0.08	6.71
P-values		
Tratamiento ( $\tau_i$ )	0.868	0.015

<sup>1</sup>T0: aguacates en inmersión control sin aceite esencial de orégano emulsificado (AEOE); T200: aguacates en inmersión con 200 ppm de AEOE; T400: aguacates en inmersión con 400 ppm de AEOE; T600: aguacates en inmersión con 600 ppm de AEOE. EEM: error estándar de la media.

<sup>a</sup> Medias (n=15/tratamientos) dentro de una misma columna, dentro de cada tratamiento, entre días y con diferentes superíndices en minúsculas son estadísticamente diferentes (p<0.05).

## CONCLUSIÓN

Los aguacates inmersos en agua con 400 mg/L de aceite de orégano (T400) mejoró el peso y diámetro. Por otra parte, los frutos inmersos en agua con 200 mg/L de aceite de orégano (T200) disminuyeron el diámetro y pérdida de peso, pero una mayor circunferencia. Para las variables de color, 600 (T600) y 400 (T400) mg/L de aceite de orégano en agua retardaron la pérdida de tonalidad de color de la cáscara. Finalmente, el aceite esencial de orégano emulsificado a concentraciones de 400 y 600 ml/L en agua podría ser utilizado sobre aguacates ayudando a retardar los cambios de color sobre la cáscara y a 200 ml/L retarda la pérdida de peso.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abraham, J. D., Abraham, J., & Takrama, J. F. (2018). Morphological characteristics of avocado (*Persea americana* Mill.) in Ghana. *African Journal of Plant Science*, 12(4), 88-97.
- Acosta, E. (2009). Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery. *Current opinion in colloid & interface science*, 14(1), 3-15.
- Adame-Gallegos, J. R., Andrade-Ochoa, S., & Nevares-Moorillon, G. V. (2016). Potential Use of Mexican Oregano Essential Oil against Parasite, Fungal and Bacterial Pathogens. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* (19), 553-567.
- Aguilar-Sánchez, R., Munguía-Pérez, R., Reyes-Jurado, F., Navarro-Cruz, A. R., Cid-Pérez, T. S., Hernández-Carranza, P., Beristain-Bauza, S. C., Ochoa-Velasco, C. E., & Avila-Sosa, R. (2019). Structural, physical, and antifungal characterization of starch edible films added with nanocomposites and Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) Essential Oil. *Molecules*, 24(12), 2340.
- Aguilar-Méndez, M. A., Martín-Martínez, E. S., Tomás, S. A., Cruz-Orea, A., & Jaime-Fonseca, M. R. (2008). Gelatine–starch films: Physicochemical properties and their application in extending the post-harvest shelf life of avocado (*Persea americana*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(2), 185-193.
- Aguilo-Aguayo, I., Oms-Oliu, G., Martin-Belloso, O., & Soliva-Fortuny, R. (2014). Impact of pulsed light treatments on quality characteristics and oxidative stability of fresh-cut avocado. *LWT-Food Science and Technology*, 59(1), 320-326.
- Aguirre-Joya, J. A., Ventura-Sobrevilla, J., Martínez-Vazquez, G., Ruelas-Chacón, X., Rojas, R., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2017). Effects of a natural bioactive coating on the quality and shelf life prolongation at different storage conditions of avocado (*Persea americana* Mill.) cv. Hass. *Food Packaging and Shelf Life*, 14(Part B), 102-107.
- Ashton, O. B., Wong, M., McGhie, T. K., Vather, R., Wang, Y., Requejo-Jackman, C., Ramankutty P., & Woolf, A. B. (2006). Pigments in avocado tissue and oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26), 10151-10158.
- Cenobio-Galindo, A. J. de, Ocampo-López, J., Reyes-Munguía, A., Carrillo-Inungaray, M. L., Ca-wood, M., Medina-Pérez, G., Fernández-Luqueño, F., & Campos-Montiel, R. G. (2019). Influence of bioactive com- pounds incorporated in a nanoemulsion as coating on avocado



- fruits (*Persea americana*) during postharvest storage: Antioxidant activity, physicochemical changes and structural evaluation. *Antioxidants*, 8(10), 500.
- Cid-Pérez T. S., Nevárez-Moorillón G. V., Torres-Muñoz J. V., Palou E., & López-Malo A. (2016). Mexican Oregano (*Lippia berlandieri* and *Poliomintha longiflora*) Oils. In: V. R. Preedy (Ed.). *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. Academic Press. pp. 551-560.
- Cox, K. A., McGhie, T. K., White, A., & Woolf, A. B. (2004). Skin colour and pigment changes during ripening of 'Hass' avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 31(3), 287-294.
- Cui, H., Zhang, C., Li, C., & Lin, L. (2019). Antibacterial mechanism of oregano essential oil. *Industrial Crops and Products*, 139, 111498.
- Dawidowicz, A. L., & Olszowy, M. (2014). Does antioxidant properties of the main component of essential oil reflect its antioxidant properties? The comparison of antioxidant properties of essential oils and their main components. *Natural product research*, 28(22), 1952-1963.
- Duarte, P. F., Chaves, M. A., Borges, C. D., & Mendonça, C. R. B. (2016). Avocado: characteristics, health benefits and uses. *Ciência rural*, 46, 747-754.
- Dunford N. T. and Silva V. R. (2005). Effect of water stress on plant growth and thymol and carvacrol concentrations in Mexico oregano grown under controlled conditions. *Journal Veterinary Research* 15, 110-115.
- FAO (2009). Avocado Production in Asia and Pacific. Food and Agriculture Organization of United Nations Regional Office for Asia and the Pacific Bangkok and Thailand. Rap Publication 2000/09.
- FAO (2011). The State of Food and Agriculture 2011. In Moving Forward on Food Loss and Waste Reduction; FAO: Rome, Italy, 2011
- FAOSTAT (2022). Producción de cultivos. Obtenido de fao.org.com. Recuperado de <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>. Acceso abril de 2022.
- Ge, Y., Si, X. Y., Cao, J. Q., Zhou, Z. X., Wang, W. L., & Ma, W. H. (2017). Morphological characteristics, nutritional quality, and bioactive constituents in fruits of two avocado (*Persea americana*) varieties from Hainan province, China. *Journal of Agricultural Science*, 9(2).
- Gómez-Ramírez C., Sosa-Morales M. E., Paulo E. and López-Malo A. (2013). *Aspergillus niger* time to growth in dried tomatoes 164, 23-25.
- González-Cuello, R., Pérez Mendoza, J., & Gelvez Ordóñez, V. (2017). Incremento en la vida útil post cosecha del aguacate (*Persea americana*) utilizando recubrimientos a base de goma gelana. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 20(1), 101-110.
- Handayani, M. N., Karlina, S., Sugiarti, Y., & Cakrawati, D. (2018). Application of edible coating from cassava peel-bay leaf on avocado. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1013, No. 1, p. 012168). IOP Publishing.
- Iniíguez-Moreno, M., Ragazzo-Sánchez, J. A., Barros-Castillo, J. C., Sandoval-Contreras, T., & Calderón-Santoyo, M. (2020). Sodium alginate coatings added with *Meyerozyma caribbica*: Postharvest biocontrol of *Colletotrichum gloeosporioides* in avocado (*Persea americana* Mill. cv. Hass). *Postharvest Biology and Technology*, 163, 111123.

- Jeong, J., Huber, D. J., & Sargent, S. A. (2003). Delay of avocado (*Persea americana*) fruit ripening by 1-methylcyclopropene and wax treatments. *Postharvest Biology and Technology* 28, 247-257.
- Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., & Nychas, G. J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of applied microbiology*, 91(3), 453-462.
- Maftoonazad N., Ramaswamy. H. S., Moalemiyan. M., & Kushalappa A. C. (2007). Effect of pectin-based edible emulsion coating on changes in quality of avocado exposed to *Lasiodiplodia theobromae* infection. *Carbohydrate polymers* 68, 341-349.
- Maftoonazad, N., & Ramaswamy, H. S. (2005). Postharvest shelf-life extension of avocados using methyl cellulose-based coating. *LWT - Food Science and Technology*, 38(6), 617-624.
- Maftoonazad, N., & Ramaswamy, H. S. (2008). Effect of pectin-based coating on the kinetics of quality change associated with stored avocados. *Journal of food processing and preservation*, 32(4), 621-643.
- Manuwa, S. I., & Muhammad, H. A. (2010). Moisture content and compression axis effects on mechanical properties of shea kernel. *Journal of Food Technology*, 8(3), 89-94.
- Mardigan, L., Kwiatkowski, A., Castro, J., & Clemente, E. (2014). Application of biofilms on fruits of avocado (*Persea Americana* Miller) in Postharvest. *International Journal of Sciences*.
- Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., & Elaissari, A. (2010). Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International journal of pharmaceutics*, 385(1-2), 113-142.
- Paredes-Aguilar, M. C., Gastélum-Franco, M. G., Silva-Vázquez, R., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2007). Antimicrobial effect of mexican oregano (*Lippia Berlandieri* Schauer) and its essential oil against five vibrio species. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 30(3), 261-267.
- Pastor, C., Sánchez-González, L., Marcilla, A., Chiralt, A., Cháfer, M., & González-Martínez, C. (2011). Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropylmethylcellulose edible coatings containing propolis extract. *Postharvest Biology and Technology*, 60(1), 64-70.
- Perdones, Á., Tur, N., Chiralt, A., & Vargas, M. (2016). Effect on tomato plant and fruit of the application of biopolymer-oregano essential oil coatings. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4505-4513.
- Perez, K., Mercado, J., & Soto-Valdez, H. (2004). Note. Effect of Storage Temperature on the Shelf Life of Hass Avocado (*Persea americana*). *Food Science and Technology International*, 10(2), 73-77.
- Pintó, E., Lenthalic, I., Vendrell, M., & Larrigaudière, C. (2001). Role of fermentative and antioxidant metabolisms in the induction of core browning in controlled-atmosphere stored pears. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(3), 364-370.
- Portillo-Ruiz, M. C., Viramontes-Ramos, S., Muñoz-Castellanos, L. N., Gastelum-Franco, M. G., & Nevarez-Moorillon, G. V. (2005). Antifungal activity of Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Shauer). *Journal of food protection*, 68(12), 2713-2717.

- Ranjan, S., Dasgupta, N., Chakraborty, A. R., Melvin Samuel, S., Ramalingam, C., Shanker, R., & Kumar, A. (2014). Nanoscience and nanotechnologies in food industries: opportunities and research trends. *Journal of nanoparticle research*, 16(6), 1-23.
- Rodríguez-García, I., Cruz-Valenzuela, M. R., Silva-Espinoza, B. A., González-Aguilar, G. A., Moctezuma, E., Gutiérrez-Pacheco, M. M., Tapia-Rodríguez M.R. Ortega-Ramírez L. A. & Ayala-Zavala, J. F. (2016). Oregano (*Lippia graveolens*) essential oil added within pectin edible coatings prevents fungal decay and increases the antioxidant capacity of treated tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(11), 3772-3778.
- Saucedo-Pompa, S., Rojas-Molina, R., Aguilera-Carbó, A. F., Saenz-Galindo, A., de La Garza, H., Jasso-Cantú, D., & Aguilar, C. N. (2009). Edible film based on candelilla wax to improve the shelf life and quality of avocado. *Food Research International*, 42(4), 511-515.
- Zafar, T., & Sidhu, J. S. (2011). Avocado: production, quality, and major processed products. *Handbook of vegetables and vegetable processing*, 525-543.

## Carotenoides en ate de vegetales

M.C. Calvo-Carrillo\*<sup>1,2</sup>, F. Corone<sup>2</sup> y O.X. López<sup>2</sup>

**1** Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán, Dirección de Nutrición. Vasco de Quiroga 15. Col. Belisario Domínguez, Sección XV, Tlalpan, Ciudad de México, México. **2** Universidad Anáhuac México, Facultad de Turismo y Gastronomía, Av. De las Torres 131, Olivar de los Padres, Alcaldía Álvaro Obregón, C.P. 01780, Ciudad de México, México. \*[concepción\\_calvo1@hotmail.com](mailto:concepción_calvo1@hotmail.com)

### RESUMEN

Por el tipo de alimentación y la calidad de vida se han incrementado enfermedades del crónico degenerativas. Algunas asociadas a la acción de radicales libres y especies reactivas de oxígeno. Se ha sugerido el incremento en el consumo de antioxidantes a través de los alimentos. Son los vegetales los insumos con el mayor contenido y variedad de estos fitoquímicos. Ante la diversidad de técnicas artesanales que están disponibles en la elaboración de productos regionales, se propone como objetivo combinar vegetales como fuente de carotenoides en la elaboración de un Ate rompiendo con la tradición de sólo hacerlo con frutas convencionales. Se utilizaron papaya, zanahoria, jitomate y jugo de mandarina para hacer 4 mezclas que se adicionaron con pectina, sacarosa y ácido cítrico. Se aplicó el procedimiento tradicional para obtener el ate. Se cuantificaron 5 carotenoides (luteína, zeaxantina, criptoxantina,  $\beta$ -caroteno y licopeno) tanto en la materia prima como en los ates desarrollados. Los ates fueron evaluados sensorialmente con una prueba de preferencia. Los resultados indicaron que no hubo diferencia entre ellos. Se concluye que los ates elaborados con vegetales, a pesar del proceso térmico empleado, retuvieron los carotenoides y las combinaciones usadas fueron aceptadas por los panelistas.

**Palabras clave:** Ate, carotenoides, antioxidantes, dulces mexicanos, verduras.

### ABSTRACT

Due to the type of diet and quality of life, chronic degenerative diseases have increased. This problema has been associated with the action of free radicals and reactive oxygen species. Increased consumption of antioxidants through food has been suggested. Vegetables are the inputs with the highest content and variety of these phytochemicals. Given the diversity of artisan techniques that are available in the production of regional products, the aim of these research was to combine vegetables as a source of carotenoids in the preparation of the Ate, breaking with the tradición of only making it with conventional fruits. Papaya, carrot, tomato, and the juice of tangerine were used to make 4 mixtures that were added with pectin, sucrose, and citric acid. The traditional procedure was applied to obtain the Ate. Five carotenoides (lutein, zeaxanthin, cryptoxanthin,  $\beta$ -carotene and lycopene) were quantified, both in the raw material and in the developed products. The Ates were sensorial evaluated with a preference test. The results indicated that there was no difference between them. It is concluded that the Ates made with vegetables, despite the thermal process used, retained the carotenoids and the combination used were accepted by the panelists.

**Keywords:** Ate, carotenoids, antioxidants, mexican candies, vegetables.

## INTRODUCCIÓN

Los fitoquímicos (componentes de los alimentos funcionales responsables de estos beneficios) se han relacionado con la prevención, tratamiento o ambos, de por lo menos, las cuatro principales causas de muerte: cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares y enfermedades degenerativas relacionadas con la edad (Venereo, 2002). Se ha reportado que la presencia de radicales libres (RL) y especies reactivas de oxígeno (ERO) son los responsables del origen de estos padecimientos. Por lo que, el mecanismo sugerido para disminuir estos problemas es a través de la reducción del daño oxidativo del ADN, proteínas y lípidos. Esto lleva a pensar que las vitaminas C y E, los carotenoides, algunos minerales traza y compuestos con propiedades antioxidantes pueden ayudar a retardar el proceso degenerativo que acompaña el envejecimiento, de tal forma que se la esperanza de vida aumente a través de la protección celular (Palozza, 1998).

Los antioxidantes son sustancias que se encuentran presentes en bajas concentraciones, comparado con el sustrato oxidable; su acción está en retrasar o prevenir la oxidación del sustrato. Al estar los RL y ERO en el organismo se incrementa la posibilidad de que la persona desarrolle enfermedades y daños a tejido como el pulmón, sistema cardiovascular, tracto gastrointestinal, ojos, piel, cerebro y, directamente acelerando el proceso de envejecimiento (Sánchez *et al.*, 1999). En nuestro organismo se han identificado diversos antioxidantes endógenos, sin embargo, por el tipo de alimentación y calidad de vida éstos son insuficientes para lograr una prevención de enfermedades. Es por ello por lo que la ingesta de antioxidantes es importante ya que ambos grupos se complementan. Son las frutas y verduras las que contienen una mayor cantidad y variedad de antioxidantes naturales, tales como los carotenoides, flavonoides, tocoferoles y vitamina C (Carranco-Jáuregui, Calvo-Carrillo y Pérez-Gil, 2011).

Los carotenoides tienen como estructura básica un polieno de 40 átomos de carbono, formada por 8 unidades de isopreno; constituyen una clase de hidrocarburos denominados carotenos y sus derivados oxigenados conocidos como xantofilas. Dentro de los primeros destacan el  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno y el licopeno, y de las xantinas la zeaxantina, criptoxantina y luteína. Es por su estructura química, donde se pueden observar los dobles enlaces conjugados, que estos fitoquímicos tienen una acción antioxidante a nivel celular (Carranco-Jáuregui, Calvo-Carrillo y Pérez-Gil, 2011).

De acuerdo con la Norma Mexicana 043 (2013), el mexicano debe incluir en su dieta un 30% de frutas y verduras por día, de preferencia frescas. Sin embargo, debido a su alto contenido de agua y disacáridos su vida útil es corta. Es por ello que la tecnología de alimentos ha desarrollado y aplicado diversas técnicas que permitan incrementar su disponibilidad y presentar una variedad de productos considerados como de conveniencia. Dentro de los ingredientes empleados como parte fundamental de las técnicas de conservación más utilizadas se encuentra la sacarosa que ha permitido el desarrollo de una línea de productos catalogados como dulces regionales y/o artesanales. Es en este grupo donde se encuentra ubicado el ate. Su origen está en el medio Oriente, pero es en la Nueva España, a través de la fusión de técnicas e insumos regionales, que surge este dulce ampliamente conocido como “Ate de Morelia” (Calvo-Carrillo *et al.*, 2022).

En un inicio el ate se hacía con insumos ricos en pectina (membrillo y guayaba) los cuales, por el tipo de proceso empleado, lograba gelificar para generar esa masa compacta con alto contenido de azúcar (sacarosa) que se consumía como un postre. A través del proceso y de los ingredientes (pH ácido, alto contenido de sólidos, agua ligada) este producto llega a tener hasta 1 año de vida útil (Curiel, 2007; Muñoz, 2000).

El antecedente de este proyecto fue la formulación de una bebida que incluía los jugos de zanahoria, jitomate, mandarina, naranja, toronja, guayaba y papaya en un momento en el que se promocionaba el consumo de mezclas de jugos de frutas y verduras. La perspectiva fue el aporte de carotenoides. Las mezclas evaluadas fueron bien aceptadas, siendo la de mayor aceptación aquella que incluía los porcentajes más altos de zanahoria, jitomate, papaya y jugo de mandarina. La sugerencia general fue incrementar el dulzor (Calvo-Carrillo *et al.*, 2006). Tiempo después, ante el repunte de los dulces se buscó como alternativa elaborar el ate combinando ingredientes no convencionales. Por lo que, el objetivo del presente trabajo fue elaborar un ate a partir de la combinación de vegetales, cuantificar el aporte de carotenoides y establecer el nivel de aceptación a través de una evaluación sensorial.

### MATERIALES Y MÉTODOS

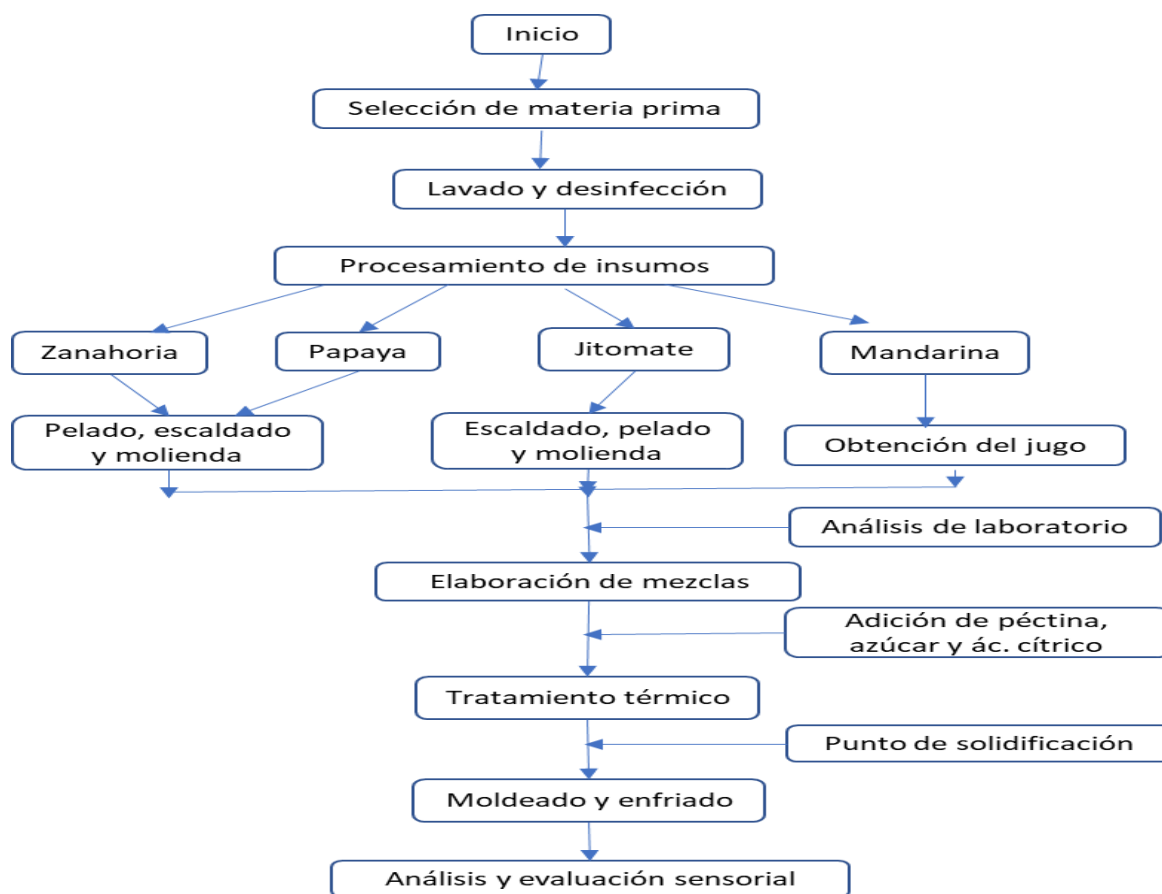
**Materia prima:** Se emplearon zanahoria (*Daucus carota* L.), papaya (*Larica papaya* L.), jitomate (*Licopersicum esculentum* Mill) y mandarina (*Citrus reticulata*). Se adquirieron en un mercado local, sin daño en la superficie y con un grado de madurez adecuado (“a sazón”). Se utilizó pectina y ácido cítrico marca Deiman y azúcar refinada.

**Técnicas analíticas:** Acidez (AOAC 942.15, 2005), pH (AOAC 981.12, 2005), vitamina C (Calvo, 1999), sólidos totales (AOAC 921.151, 2005), humedad (AOAC 934.06, 2005), azúcares reductores directos y totales (curva patrón con glucosa), contenido de carotenoides [extracción con acetona, evaporación a sequedad, disolución en mezcla de acetonitrilo: diclorometano: metanol: hexano (50:25:20:5); identificación y cuantificación por HPLC] empleando los estándares de luteína, zeaxantina, criptoxantina, licopeno y  $\beta$ -caroteno marca Sigma (Rodríguez-Amaya, 2010). Para la evaluación sensorial se aplicó una prueba de preferencia para nivel de agrado y los resultados obtenidos se compararon con la Tabla de significancia para pruebas de dos muestras significativa a un nivel de probabilidad del 5% (Prueba de dos colas) (Anzaldúa, 1994).

**Procedimiento de elaboración:**

Para la elaboración del producto se aplicó el procedimiento general que se ha reportado en la elaboración del ate (Curiel, 2007) con adaptaciones hechas por el tipo de materia prima utilizada (Diagrama No. 1). Para ajustar el pH se preparó una solución de ácido cítrico al 10%.

**Diagrama No. 1.** Procedimiento de elaboración de un ate de vegetales.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El procedimiento que se siguió fue: a la papaya y zanahoria se les retiró la cáscara y se cortaron en cuadros y rodajas de 4 cm para proceder a escaldarlos a 92°C/3 min. En el caso del jitomate, primero se escaldó, se peló y eliminaron las semillas (Tabla I). Este procedimiento tuvo como objetivo inactivar enzimas, disminuir la carga microbiana, modificar el color.

En el caso de la mandarina se procedió a obtener el jugo que se pasteurizó (85°C/3 min), se enfrió y envasó.

**Tabla I.** Escaldado de la materia prima.

Insumo vegetal	Temperatura	Tiempo
Papaya	92°C	3 minutos
Zanahoria	92°C	3 minutos
Jitomate	92°C	2 minutos

Ya escaldados los vegetales se procedió a su molienda y a partir de esta se determinó el contenido de carotenoides, pH, vitamina C y humedad (Tabla II).

**Tabla II.** Carotenoides, vitamina C, pH y humedad presentes en los insumos empleados en la elaboración del ate.

mg/100 g de muestra	Papaya	Zanahoria	Jitomate	Jugo de Mandarina
β-caroteno	0.51±0.03	24.85±0.51	5.20±0.64	0.34±0.023
Luteína	0.03±0.01	0.55±0.11	ND	0.13±0.01
Zeaxantina	0.09±0.01	ND	ND	0.28±0.02
Criptoxantina	0.23±0.04	ND	ND	0.59±0.09
Licopeno	0.180.02	ND	6.05±0.49	ND
Vitamina C	69.86	0.72	18.26	19.7
pH	5.4	6.44	5.3	5.07
Humedad (g/100 g de muestra)	88.16±0.43	85.55±0.25	87.31±0.74	87.84±0.28

n=6 repeticiones ND= No detectado

La zanahoria fue la que tuvo el mayor contenido de β-caroteno y luteína, la mandarina tuvo zeaxantina y criptoxantina y en el jitomate se cuantificó el licopeno. Estos insumos se caracterizan por su contenido de vitamina C, sobre todo la papaya. En el caso del jugo de mandarina el valor que se reporta corresponde al ácido ascórbico que no se vio afectado durante el proceso de extracción (oxidación por el oxígeno del medio ambiente) y el proceso térmico al que se sometió. En relación con el pH, los valores se encontraron entre 5 y 6.5, los que tuvieron una mayor concentración de iones hidrógeno fueron el jugo de mandarina, mientras que las pastas de papaya y jitomate tuvieron valores similares y la zanahoria fue la que se acercó más a un pH neutro. Cabe mencionar que las materias primas estaban con un grado de madurez adecuado para su consumo. Como en la gran mayoría de los vegetales el contenido de humedad es alto, en este caso osciló entre el 86 y 90.04%.

Para la elaboración de un ate se requiere conjugar una serie de condiciones que favorezca generar una estructura compacta considerada como un sistema coloidal del tipo gel. Éste consta de una fase dispersa interconectada y entrelazada en una estructura tridimensional en la que queda atrapada el agua del sistema a través de puentes de hidrógeno considerando al agua como la fase continua. Los compuestos químicos que forman geles de forma más rápida son aquellos que tienen grupos hidrofílicos que rápidamente atrapan los componentes de la fase continua presentando varios grados de rigidez y elasticidad, por lo que pueden tener una estructura semisólida o sólida (Montejano, 2006). En el caso del ate, los compuestos químicos que interactúan para formar este tipo de estructura son la pectina, sacarosa o azúcar, un medio ácido, agua y aplicando calor y movimiento constante.

La pectina está formada por unidades de ácido galacturónico y las que presentan un alto grado de metoxilo requieren de un pH de 2.5 a 3.5, entre 60-65% de sacarosa para poder gelificar. Las uniones que se presentan entre ellas son débiles, los carboxilos están protonados (con cargas positivas) y crean puentes de hidrógeno entre sí o con los hidroxilos de la pectina o de la sacarosa. La adición de este último favorece las interacciones polisacárido-polisacárido de manera hidrófoba favoreciendo la estructura tridimensional que rodea las moléculas de sacarosa altamente hidratadas.

La materia prima seleccionada en este proyecto no se caracteriza por tener un alto contenido de pectina, aunado al hecho de que se les eliminó la cáscara, fue por ello por lo que se decidió añadir pectina cítrica.

Se realizaron cuatro combinaciones (Tabla III), en todas estuvieron presentes la papaya y el jugo de mandarina, mientras que la adición de zanahoria se hizo en una muestra (A1) y jitomate se añadió a dos (A3 y A4) en diferente cantidad. Se podría considerar como la mezcla base la muestra A2 que sólo tuvo papaya y mandarina. A las cuatro formulaciones se les adicionó pectina y azúcar.



Se calcularon las mezclas y se procedió a su elaboración (Diagrama 1) Los vegetales molidos mezclaron con el jugo de mandarina, se añadió el azúcar mezclado con la pectina hasta tener 65°Bx. Se ajustó el pH a 3.5 con la solución de ácido cítrico. Se calentó a ebullición hasta tener una pasta homogénea, compacta y que al moverla dejaba ver el fondo del recipiente. Se suspendió el calentamiento, se colocó en moldes de acero aleado (14.6 x 7.6 x 5.8 cm) cubiertos con papel encerado. Se dejaron refrigeraron por 24 horas. Posteriormente se desmoldaron y se empacaron para utilizarlos en la evaluación sensorial.

**Tabla III.** Mezclas de ingredientes empleadas en la elaboración de Ates (% de insumo).

	Papaya	Jugo de Mandarina	Zanahoria	Jitomate	Pectina	Azúcar	Total (%)
A1	30	16	17	0	1	36	100
A2	30	28	0	0	2	40	100
A3	27	31	0	4	2	36	100
A4	26	18	0	18	2	36	100

El tratamiento térmico requirió de un movimiento constante de la mezcla para favorecer las reacciones entre pectina, azúcar y agua para estructurar la red que conforma al gel, aunado a la formación de azúcar invertido (azúcares reductores) gracias al efecto del ácido cítrico. La presencia del azúcar invertido (sacarosa-glucosa-fructosa) evita la formación de cristales de sacarosa en el gel.

Como ya se mencionó, el punto para suspender el calentamiento esta dado cuando, al introducir la cuchara en el recipiente, se logra ver el fondo de éste. A partir de ahí se dejaron enfriar para proceder a su empacado, análisis químico y evaluación sensorial.

Los ates se molieron y se procedió a muestrear para realizar los análisis de laboratorio. En cuanto a las variables químicas de los ates (Tabla V), el porcentaje de humedad disminuyó por el calentamiento y sólo se retuvo el agua que logró integrarse al gel. Esta agua quedo inmersa en el sistema dando las características de humectación al producto, así como las relacionadas con textura. El producto final, durante el almacenamiento, no presentó sinéresis. Con relación al pH éste se ajustó y se mantuvo en valores adecuados en el producto final aportando un equilibrio de acidez y dulzor que fue evaluado a nivel sensorial. En cuanto al contenido de vitamina C los valores estuvieron entre 25.31 y 34.06 mg/100 g de muestra. De los carotenoides se observa que los 5 analizados estuvieron presentes en todas las muestras y la cantidad presente estuvo relacionada con los insumos empleados.

**Tabla IV.** Variables analíticas aplicadas a los ates desarrollados.

	A1	A2	A3	A4
% Humedad	43.64	42.99	37.65	40.09
% Sacarosa	54	60	55	54
% Inversión de sacarosa	45	53	49	56
% Ácido cítrico	0.58	1.05	0.81	1.40
pH	3.2	3.1	3.2	2.7
Vit. C y carotenoides (mg/100g)				
Vit.C	33.71	25.31	34.06	27.85
Luteína	0.31	1.3	0.14	0.37
Zeaxantina	0.30	0.77	0.19	0.17

Criptoxantina	1.75	3.07	2.44	1.95
$\beta$ -caroteno	3.29	0.64	0.83	0.83
Licopeno	1.61	1.63	1.96	2.20
Total de carotenoides	7.26	7.41	5.56	5.52

Al sumar los carotenoides cuantificados las muestras con mayor contenido fueron A2 y A1, la primera solo se elaboró con papaya y jugo de mandarina y la segunda incluyó además de la papaya y jugo de mandarina a la zanahoria. A los ates codificados como A3 y A4 tuvieron jitomate en lugar de zanahoria.

En cuanto a la evaluación sensorial se aplicó una prueba de preferencia a 80 panelistas que no tenían problemas con los vegetales utilizados. En la Tabla V se concentran los resultados.

**Tabla V.** Resultados de la Prueba de preferencia de ates elaborados con verduras.

	Jueces que aceptaron la primera	Jueces que aceptaron la segunda
A1 vs A2	47	33
A1 vs A3	45	35
A1 vs A4	45	35
A2 vs A3	46	34
A2 vs A4	42	38
A3 vs A4	46	34

Para la interpretación de los resultados obtenidos se utilizó la Tabla de significancia para pruebas de dos muestras con número de juicios de 80, prueba de “dos colas” con un nivel de probabilidad del 5%. El número mínimo de juicios coincidentes necesarios para establecer diferencia significativa entre las dos muestras fue de 50 (Anzaldúa-Morales, 2005). Por lo tanto, no hubo diferencia significativa con un nivel de probabilidad del 5% entre las 4 formulaciones de ate.

## CONCLUSIONES

La mezcla de vegetales puede ser una alternativa en la elaboración de dulces típicos mexicanos, sobre todo cuando se busca que ese postre sea vehículo de fitoquímicos de importancia como lo son los carotenoides. Los ates tuvieron un buen contenido de carotenoides, a pesar del proceso térmico al que fueron sometidos. Sin embargo, habría que revisar el efecto que tiene la pectina durante la gelificación que pueda, de alguna forma, proteger estas moléculas y evitar una degradación térmica como sucede en su estado natural.

El tratamiento de la materia prima, así como el procedimiento empleado en la elaboración de la pasta ayudó a liberar los carotenoides, por lo que, al estar libres, se pudieron cuantificar por HPLC. La cantidad de carotenoides totales fue buena (5.52 a 9.25 mg/100g de muestra) y en todas las mezclas estuvieron presentes los cinco carotenoides analizados.

Bajo la perspectiva de salud que muchos consumidores buscan, este tipo de postre podría ser una alternativa, sin embargo, el aporte calórico es alto por la cantidad de sacarosa que se usa en su elaboración. Cabe mencionar que una alternativa de estudio es elaborar las pastas de frutas y hortalizas utilizando pectina con bajo grado de metoxilo que, para gelificar, no requiere de sacarosa, sólo la presencia de iones de calcio y el dulzor se puede dar con edulcorantes no calóricos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Anzaldúa-Morales, A. (1994). La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y en la práctica. (pp. 67-80, 161-162). Zaragoza: Acribia.
- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis*. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersbury, Maryland, USA.
- Calvo, C. M. C. (1999). Manual de técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos. Depto. de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Instituto Nacional de Nutrición.
- Calvo-Carrillo, M. C., Calvo-Morales, O. R., López, O. X. & Carranco-Jauregui, M. E. (2022). Ate de guayaba (*Psidium guajava* L.) bajo en calorías. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* (7), 311-316.
- Calvo-Carrillo, M. C., Carranco-Jáuregui, M. E., Luna-Ocampo; R. M. & Pérez-Gil R. F. (2006). Elaboración de una bebida con alto contenido de carotenoides. *Bebidas Mexicanas*, 15 (5), 9-17.
- Carranco, J. M. E., Calvo, C. M. C & Pérez-Gil, R.F. (2011). Carotenoides y su función antioxidante: Revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 61, 233-241.
- Curiel, M. J. L. (2007). La Dulcería Mexicana. Historia, Ciencia y Tecnología. (pp. 161-165). México:Limusa.
- Montejano, J. G. (2006). Estado de dispersión. En: D. S. Baduí, *Química de Alimentos* (pp. 556-557). México, PearsonEducación.
- Muñoz, Z. R. (2000). Diccionario Enciclopédico de Gastronomía Mexicana (pp. 46, 47, 226). Clío.
- Norma Oficial Mexicana NOM-043-SSA2-2012, Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación. <https://www.cndh.org.mx> JUR-20170331-NOR37
- Palozza, P. 1998. Prooxidant actions of carotenoids in biologic systems. *Nutrition Reviews*, 56, 257-265.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2010). Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids—A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 726–740.
- Venéreo, G. J. R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina de Medicina Militar*, 31,126-33.

## **Aplicaciones de ozono como tecnología postcosecha en fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.): impacto en la calidad microbiológica del fruto**

C.M. Tinajero-Castro<sup>1</sup>, E.P. Trejo-Nava<sup>1</sup>, C.G.M. Barajas-Díaz<sup>2</sup> y  
C. Ozuna\*<sup>1</sup>

**1** Departamento de Alimentos División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Carretera Irapuato Silao km 9, 36500, Irapuato, Guanajuato, México. **2** Ozono Carbar's, Av. León 902, Valle del Campestre, 37150, León, Guanajuato, México. \*[cesar.ozuna@ugto.mx](mailto:cesar.ozuna@ugto.mx)

### **RESUMEN**

La fresa es una fruta de gran importancia a nivel global gracias a sus propiedades organolépticas y nutricionales. Sin embargo, su vida útil es corta, incluso en refrigeración, debido a su alta tasa de respiración y susceptibilidad al ataque de hongos. Este hecho dificulta el transporte de la fresa desde el sitio de producción/procesamiento hasta el consumidor. Se ha demostrado que el ozono es un gas con propiedades antimicrobianas que puede prolongar la vida útil de la fresa. El objetivo de esta revisión fue investigar los avances en la aplicación de ozono en fresas como tecnología postcosecha y su impacto en la calidad microbiológica del fruto. Se revisaron artículos publicados en los últimos diez años que investigan la aplicación de ozono para reducir la carga microbiológica en fresa. Los resultados de los trabajos revisados demuestran que el tratamiento postcosecha con ozono puede usarse para prolongar su vida útil y proteger a la fresa de la contaminación microbiana. Se recomienda realizar un estudio previo de las condiciones de tratamiento para cada producto potencialmente tratable con ozono, así como realizar un análisis integral del sistema de gestión del producto para lograr un mayor impacto y factibilidad de aplicación de esta tecnología postcosecha.

**Palabras clave:** Almacenamiento, berries, calidad postcosecha, tecnologías no térmicas.

### **ABSTRACT**

Strawberry is a fruit of great global importance thanks to its organoleptic and nutritional properties. However, its shelf life is short, even in refrigeration, due to its high respiration rate and susceptibility to fungal attack. This fact makes it difficult to transport strawberries from the production/processing site to the consumer. Ozone has been shown to be a gas with antimicrobial properties that can extend the shelf life of strawberries. The objective of this review was to investigate the advances in the application of ozone in strawberries as a postharvest technology and its impact on the microbiological quality of the fruit. Articles published in the last ten years that investigate the application of ozone to reduce the microbiological load in strawberries were reviewed. The results of the reviewed studies show that postharvest treatment of strawberries with ozone can be used to prolong their shelf life and protect them from microbial contamination. It is recommended to carry out a preliminary study of the treatment conditions for each product potentially treatable with ozone, as well as to carry out a comprehensive analysis of the product management system to achieve a greater impact and feasibility of applying this post-harvest technology.

**Keywords:** Storage, berries, postharvest quality, non-thermal technologies.

## INTRODUCCIÓN

La fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) es uno de los cultivos más apreciados y consumidos a nivel mundial (Contiagini *et al.*, 2020; Crowe *et al.*, 2012). Este hecho ha provocado su alta demanda en el mercado global (González-Razo *et al.*, 2019). La fresa es una fruta no climatérica, apreciada por sus propiedades sensoriales y su alto valor nutritivo. Esta fruta posee grandes beneficios para la salud humana debido a su alto contenido de antocianinas, compuestos fenólicos y vitamina C, los cuales están relacionados con su alta capacidad antioxidante (Aday *et al.*, 2014; Nayak *et al.*, 2020; Alexandre *et al.*, 2012; Giampieri *et al.*, 2012).

A pesar de todos sus beneficios, la fresa tiene como desventaja su corta vida postcosecha, relacionada con sus altas tasas metabólicas, su rápido ablandamiento y pérdida de humedad y color (Aday *et al.*, 2014; Nayak *et al.*, 2020; Crowe *et al.*, 2012). Además, la fresa es altamente susceptible a la infección por hongos, siendo la *Botrytis cinerea* el principal patógeno que afecta al fruto antes y después de la cosecha (Contiagini *et al.*, 2020). Sin embargo, también se ha demostrado que las especies *Mucor*, *Rhizopus*, *Collectotrichum* y *Phytophthora* son responsables de la pudrición postcosecha de este fruto (Contiagini *et al.*, 2018). La incidencia de hongos en la etapa postcosecha de la fresa depende de su grado de maduración, del ablandamiento de la baya y de la susceptibilidad a las lesiones epidérmicas causadas por el manejo postcosecha (Panou *et al.*, 2021). Con todo lo expuesto anteriormente, la industria agroalimentaria está en constante búsqueda de nuevas tecnologías postcosecha que permitan extender la vida útil de la fresa y preservar sus atributos de calidad (Contiagini *et al.*, 2020).

Por tal motivo, el objetivo de esta revisión bibliográfica es revisar los avances que se han tenido en los últimos años en las aplicaciones de ozono como tecnología postcosecha en fresa y su impacto en la calidad microbiológica del fruto. En el siguiente apartado del presente trabajo se revisan las tecnologías postcosecha convencionales comúnmente utilizadas con la fresa, tales como el uso de fungicidas, el almacenamiento en frío, el envasado en atmósfera modificada y atmósfera controlada, y se mencionan sus principales ventajas y desventajas. En apartados posteriores, se presenta el uso de ozono como una tecnología viable, segura e inocua para diversas aplicaciones relacionadas con la industria alimentaria, se explican los principios de inactivación de microorganismos a través de ozono, y se revisan las aplicaciones de esta tecnología postcosecha en fresa y su impacto en la calidad microbiológica del fruto. El trabajo cierra con un apartado de conclusiones y otro de referencias bibliográficas.

### **Tecnologías postcosecha convencionales para evitar la degradación de la fresa durante su almacenamiento**

El uso de fungicidas para prolongar la vida postcosecha en fresa ha sido ampliamente aplicado en la industria de alimentos. Actualmente, se ha demostrado que el uso de fungicidas en frutas y vegetales impacta de manera negativa en el medio ambiente y en la salud humana. Además, existen regulaciones nacionales e internacionales que establecen las concentraciones residuales de pesticidas en productos vegetales, tal es el caso de la fresa (Contiagini *et al.*, 2018, Romanazzi *et al.*, 2016).

Para evitar el uso de fungicidas como tratamiento postcosecha en fresas, el almacenamiento en frío representa una tecnología viable e inocua. El almacenamiento en condiciones de refrigeración reduce el deterioro de la calidad en fresa, ya que las reacciones químicas y bioquímicas y el crecimiento microbiano se ralentizan cuando se reduce la temperatura (Alexandre *et al.*, 2012). Para incrementar la vida útil de la fresa durante refrigeración, se ha empleado la combinación de esta tecnología con ciertos fungicidas (Crowe *et al.*, 2012). Sin embargo, las preocupaciones del consumidor sobre el

impacto de los alimentos en su salud han disminuido la demanda de frutas tratadas con fungicidas (Nayak *et al.*, 2020).

Dentro de las técnicas novedosas que ya han sido probadas para prolongar la vida útil de fresas destacan el envasado en atmósfera modificada y atmósfera controlada. Dentro de los principales gases empleados en estas tecnologías están el CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, y O<sub>2</sub> (Giuggioli *et al.*, 2015; Aday *et al.*, 2014). El envasado en atmósfera modificada representa un método atractivo de conservación de fresas, ya que proporciona una vida útil prolongada con un deterioro mínimo o nulo del sabor, la textura o el valor nutricional del producto. El envasado en atmósfera modificada permite comercializar el producto en mercados internacionales y reducen los costos de distribución (Emblem, 2013; Concha-Meyer *et al.*, 2015). Sin embargo, estas tecnologías tienen como desventaja que requieren mantener el producto a bajas temperaturas durante toda la cadena de suministro, lo que eleva los costos de producción. Además, el uso de algunos gases que comúnmente son empleados en el envasado en atmósfera modificada puede producir cambios físicos y organolépticos negativos las fresas (Emblem, 2013).

Por otro lado, en el envasado en atmósferas controladas, el producto se coloca en un ambiente estanco, donde la atmósfera gaseosa se cambia y se controla de cerca durante el tiempo del almacenamiento. Se ha demostrado que esta tecnología reduce la frecuencia respiratoria en las fresas. Sin embargo, estos efectos sobre la frecuencia respiratoria podrían también afectar la calidad de esta fruta. Generalmente, los productos almacenados en atmósferas controladas tienen una vida útil más larga debido a que la tasa de los procesos metabólicos es más lenta. También se ha demostrado que existen efectos interactivos entre el CO<sub>2</sub> y el O<sub>2</sub>, lo que tiene un efecto en la prolongación de la vida de anaquel de la fresa (Nakata *et al.*, 2020; Thompson, 2018).

### **Ozono: conceptos básicos y aplicaciones en la industria de alimentos**

El ozono es una molécula de oxígeno triatómico (O<sub>3</sub>) que tiene una alta capacidad oxidativa y una potente actividad antimicrobiana contra numerosas especies de microorganismos (Panou *et al.*, 2021; Aday *et al.*, 2014). La molécula del ozono presenta una alta inestabilidad, principalmente en estado de líquido la cual se degrada rápidamente en oxígeno evitando dejar residuos tóxicos o subproductos indeseables en la superficie del producto (Contiagini *et al.*, 2018; Crowe *et al.*, 2012).

El ozono ha sido reconocido como una tecnología segura e inocua para diversas aplicaciones relacionadas con la industria alimentaria, las cuales incluyen la higiene y conservación de la superficie de los alimentos, el saneamiento de equipos y plantas de alimentos y la reutilización de aguas residuales (Alexandre *et al.*, 2011). En 1997, la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos de América clasificó al ozono como una sustancia generalmente reconocida como segura (Generally Recognized As Safe: GRAS) para su uso como desinfectante en alimentos (Alexandre *et al.*, 2011; Giuggioli *et al.*, 2015). No obstante, fue en 2001 cuando la FDA dio su fallo definitivo y aprobó la normativa del uso de ozono como aditivo de alimentos durante su procesamiento o almacenamiento (Nayak *et al.*, 2020; Crowe *et al.*, 2012; Panou *et al.*, 2021).

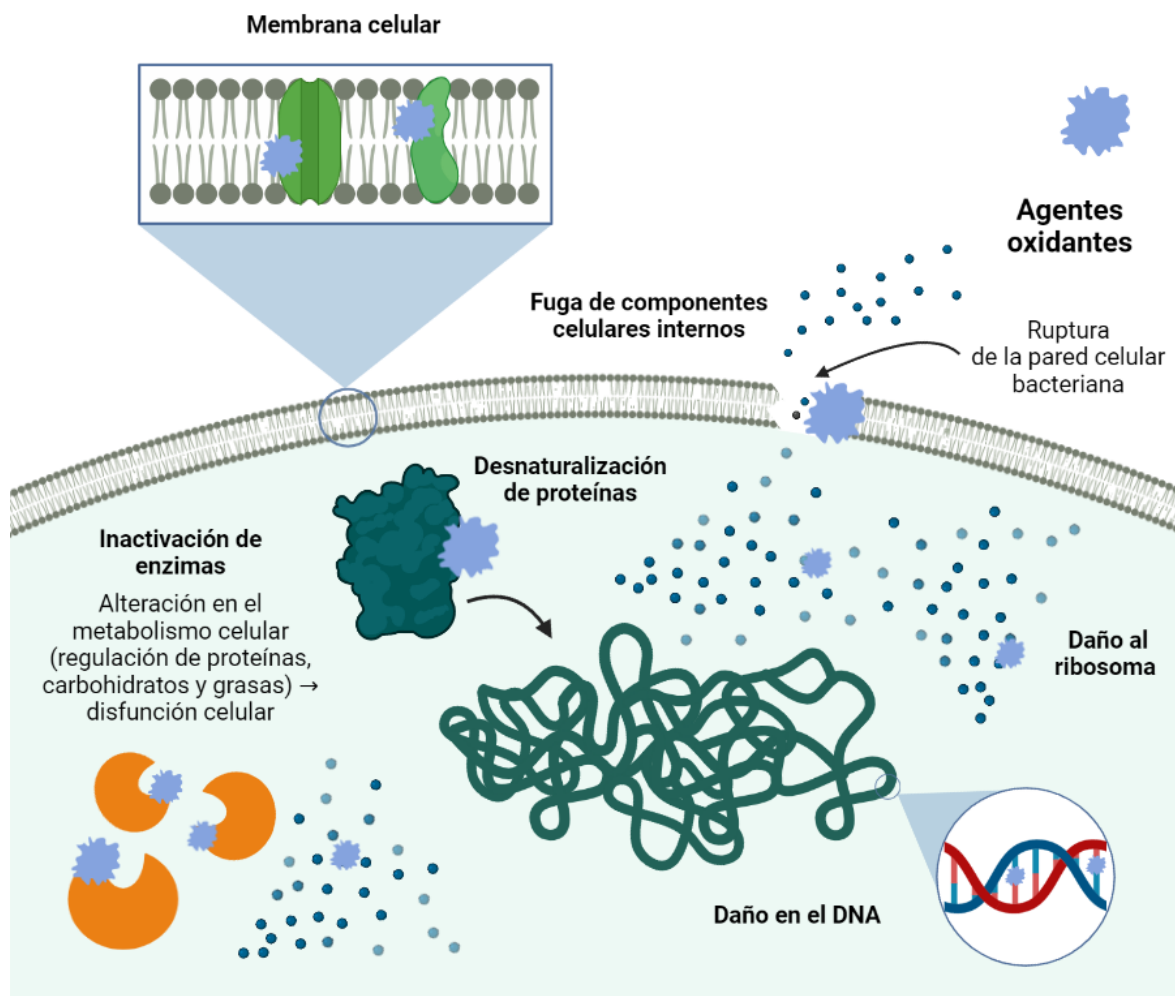
El ozono ha demostrado ser un desinfectante económico y ecológico con un amplio espectro de actividades antimicrobianas (incluidos virus, bacterias gram negativas y gram positivas, esporas y hongos), debido a su poderoso efecto oxidante (Horvitz y Cantalejo, 2014). Además de su poder antimicrobiano, el ozono representa una tecnología atractiva para el consumidor y respetuosa con el medio ambiente (Alexandre *et al.*, 2011).

El ozono también induce la síntesis de antioxidantes, creando estrés oxidativo en las frutas frescas. Las moléculas de ozono ralentizan la acumulación de radicales libres con una mayor actividad enzimática antioxidante (Aday *et al.*, 2014). Por lo tanto, el ozono es considerado un reemplazo potencial del cloro, ya que tiene un potencial oxidante 1.5 veces mayor que el del cloro y, por lo tanto, puede controlar un espectro más amplio de microorganismos sin dejar residuos nocivos (Nayak *et al.*, 2020; Zhu, 2018).

### **Principios de inactivación de microorganismos a través de ozono**

El ozono representa una buena alternativa para la desinfección de frutas y verduras frescas, ya que puede descomponer el etileno y destruir los microorganismos mediante la oxidación progresiva de las moléculas de fosfolípidos y proteínas, vitales para el funcionamiento de su membrana celular (Han *et al.*, 2017). El ozono inactiva las células como resultado del estrés oxidativo causado por especies reactivas de oxígeno (ROS) como OOH-, OH- y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que son producidas por el ozono durante su descomposición (Nayak *et al.*, 2020).

De acuerdo con la Figura 1, el efecto del ozono sobre las células de los microorganismos provoca una estructura celular irregular debido a los efectos de oxidación del ozono y de las ROS, inducidas en las moléculas de lípidos y proteínas incrustadas en la membrana celular bacteriana. La producción de peróxidos de lípidos y la oxidación de los grupos sulfhidrilo de la proteína aumenta la fluidez y permeabilidad de la membrana celular del microorganismo. Este hecho provoca la reducción de la integridad celular y provoca la ruptura de la pared celular. En consecuencia, estos cambios estructurales permiten la fuga del contenido celular, la pérdida excesiva de nutrientes y finalmente, conduce a la muerte de los microorganismos (Han *et al.*, 2017; Nayak *et al.*, 2020).



**Figura 1.** Mecanismos de inactivación de microorganismos por efecto del ozono (Creado con BioRender.com; consultado el 29 de mayo de 2022).

### Aplicaciones de ozono como tecnología postcosecha en fresa y su impacto en la calidad microbiológica del fruto

El uso de ozono, tanto en forma gaseosa como acuosa, ha sido ampliamente estudiado como desinfectante potencial contra patógenos en berries como arándanos, frambuesas y fresas (Alexandre *et al.*, 2011; Contigiani *et al.*, 2018; Aday *et al.*, 2014; Bialka *et al.*, 2008; Contiagini *et al.*, 2020; Onopiuk *et al.*, 2017). El ozono gaseoso ha sido capaz de inactivar en berries su microbiota nativa y microorganismos inoculados artificialmente como *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* y *Botrytis cinerea* (Alexandre *et al.*, 2011; Contigiani *et al.*, 2018; Aday *et al.*, 2014; Bialka *et al.*, 2008; Contiagini *et al.*, 2020). Dentro de las aplicaciones de ozono como tecnología postcosecha en berries, los generadores de ozono acoplados a cámaras frigoríficas han permitido prolongar su vida útil a lo largo de toda la cadena de suministro (Giuggioli *et al.*, 2015).



Dentro de las aplicaciones de ozono en la calidad microbiológica en fresas (Tabla 1), Zhou *et al.* (2018) reportaron que con la exposición de las fresas al ozono gaseoso se lograron reducciones de 2.1, 1.5, 1.8 y 3.3 log UFC/g para *Salmonella*, *E. faecium*, MNV-1 y MS2, respectivamente, y no se detectaron diferencias sensoriales tras el tratamiento con ozono. Por otra parte, Alexandre *et al.* (2011) estudiaron el efecto de los lavados de fresa con ozono sobre la inhibición de microorganismos mesófilos totales. Los autores encontraron las mayores reducciones microbianas cuando se utilizó la concentración más alta de ozono (2 mg/L). Estas reducciones fueron equivalentes a las alcanzadas con procesos de escaldado a 50 °C durante 3 min. Alexandre *et al.* (2012) observaron que el ozono redujo el crecimiento de microorganismos mesófilos totales en fresas a  $15 \pm 2^\circ\text{C}$ .

**Tabla 1.** Efecto del ozono sobre la inactivación de microorganismos en fresa.

Condiciones del tratamiento con ozono	Microorganismos estudiados	Reducciones en la carga microbiológica	Referencia
Ozono acuoso, 3.5 mg/L, t: 5 min, 95% HR, T: 5°C	<i>Botrytis cinerea</i>	17% menos que la control	Contiagini <i>et al.</i> (2020)
Ozono gaseoso, 18 mg/L, t: 30 min, 95% HR, T: 5°C	Levaduras y mohos	1 log UFC/g	Alves <i>et al.</i> (2019)
Ozono gaseoso, 18 mg/L, t: 30 min, 95% HR, T: 5°C	Bacterias aerobias mesófilas	3.5 log UFC/g	Alves <i>et al.</i> (2019)
Ozono acuoso, 3.5 mg/L, t: 5 min, 95% HR, T: 5°C	Hongos	22-25% menos que la control	Contiagini <i>et al.</i> (2018)
Ozono gaseoso, 80 mg/L, t: 30 min, T: 4°C	<i>Salmonella</i> , <i>E. faecium</i> , MNV-1 y MS2	2.1, 1.5, 1.8 y 3.3 log UFC/g	Zhou <i>et al.</i> (2018)
Ozono acuoso, 0.25 mg/L, t: 5 min, 95% HR, T: 4°C	Hongos	Inhibición completa	Aday <i>et al.</i> (2014)
Ozono acuoso, 3 ppm, t: 12 días, 95% HR, T: $15 \pm 2^\circ\text{C}$	Bacterias aerobias mesófilas	$1.21 \pm 0.33$ log UFC/g	Alexandre <i>et al.</i> (2012)
Ozono acuoso, 2 mg/L, t: 3 min, T: 15°C	Bacterias aerobias mesófilas	$2.3 \pm 0.4$ log UFC/g	Alexandre <i>et al.</i> (2011)

\* HR: humedad relativa, ppm: partes por millón, t: tiempo, T: temperatura, UFC: unidades formadoras de colonia.

Contiagini *et al.* (2020) evaluaron la eficacia de los tratamientos con ozono acuoso para controlar la infección por *B. cinerea* en fresas almacenadas a 5 °C. El retraso en el inicio de la infección con respecto al control fue de 2 días para las fresas tratadas durante 15 min y de 4 días para las muestras ozonizadas durante 5 min. En este último tiempo de ozonización, se redujo significativamente su incidencia a medida que avanzaba el almacenamiento (17 % menos que en el control en el día 8) sin afectar los parámetros fisicoquímicos o la calidad sensorial. Por otro lado, Contigiani *et al.* (2018) observaron que el ozono es capaz de disminuir el crecimiento de hongos (22-25%) en fresas almacenadas a 5 °C durante 12 días. Aday *et al.* (2014) encontraron una inhibición completa del crecimiento fúngico durante 3 semanas de almacenamiento a 4 °C. Alves *et al.* (2019) reportaron que la exposición de las fresas al ozono gaseoso redujo el crecimiento de mohos y levaduras y el total de bacterias mesófilas en 1 y 3.5 log UFC/g, respectivamente, después de 6 días de almacenamiento en frío.

Con base en los artículos revisados, el ozono es una tecnología no térmica que ha demostrado ser eficaz para inhibir el crecimiento de microorganismos deterioradores en la fresa durante su almacenamiento y así incrementar su vida en anaquel. En los estudios publicados, el uso de ozono a temperaturas de refrigeración durante tiempos cortos (5 min) y bajas concentraciones (1-2 mg/L) permite reducir significativamente la carga microbiológica en la fresa. Sin embargo, es importante establecer parámetros óptimos de tiempo de exposición al ozono y su concentración con base en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y nutricionales de las diferentes variedades de fresa.

### CONCLUSIONES

Los datos recopilados en la presente revisión respaldan el uso potencial del ozono gaseoso como tecnología postcosecha en fresa y como método de desinfección sostenible en su procesamiento. Los microorganismos estudiados en los distintos estudios muestran susceptibilidad al ozono gaseoso, la cual es atribuida a la reacción de oxidación de diferentes componentes celulares del microorganismo. Las moléculas de ozono entran principalmente en contacto con la superficie celular del microorganismo y pueden atacar varios componentes de la membrana celular, dañando los constituyentes del contenido celular con el aumento del tiempo de exposición. Los resultados reportados en los avances revisados muestran que aumentar la duración y la concentración del tratamiento con ozono gaseoso puede mejorar el efecto de inactivación microbiana. Sin embargo, en los estudios publicados se utilizan diferentes configuraciones experimentales y dosis de ozono, lo que dificulta comparar de manera más precisa su efecto como tecnología postcosecha en la calidad microbiológica de la fresa, tanto con otras tecnologías postcosecha como con otros tratamientos de ozono.

En conjunto, el ozono ha demostrado tener un efecto de inhibición e inactivación del crecimiento de microorganismos patógenos y de levaduras y hongos de descomposición en la fresa. Considerando que el ozono se genera fácilmente y tiene la ventaja de ser un tratamiento que no genera residuos químicos, puede considerarse una tecnología de procesamiento muy prometedora y sostenible. Además, el ozono es aplicable a fresas frescas para controlar la cantidad de patógenos transmitidos por este alimento y para aumentar su vida postcosecha. Se recomienda realizar un estudio previo de las condiciones de tratamiento para cada producto potencialmente tratable con ozono, así como realizar un análisis integral del sistema de gestión del producto para lograr un mayor impacto y factibilidad de aplicación de esta tecnología postcosecha.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aday, M. S., Büyükcan, M. B., Temizkan, R., Caner, C. (2014). Role of ozone concentrations and exposure times in extending shelf-life of strawberry. *Ozone: Science & Engineering*, 36 (1), 43–56.
- Alexandre, E., Santos-Pedro, D. M., Brandão, T., Silva, C. (2011). Influence of aqueous ozone, scalding and treatments combined in the microbial load of red bell peppers, strawberries and watercress. *Journal of Food Engineering*, 105 (2), 277–282.
- Alexandre, E., Brandão, T. Silva, C. (2012). Efficacy of non-thermal technologies and sanitizer solutions on microbial load reduction and quality retention of strawberries. *Journal of Food Engineering*, 108: 417–426.
- Alves, H., Alencar, E. R., Ferreira, W. F. S., Silva, C. R., & Ribeiro, J. L. (2019). Microbiological and physical-chemical aspects of strawberry exposed to ozone gas at different concentrations during storage. *Brazilian Journal of Food Technology*, 22, 1-12.
- Bialka, K. L., Demirci, A., & Puri, V. M. (2008). Modeling the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on raspberries and strawberries resulting from exposure to ozone or pulsed UV light. *Journal of Food Engineering*, 85(3): 444-449.
- Concha-Meyer, A., Eifert, J. D., Williams, R. C., Marcy, J. E., Welbaum, G. E. (2015). Shelf-life determination of fresh blueberries (*Vaccinium corymbosum*) stored under controlled atmosphere and ozone. *International Journal of Food Science*, 1-9.
- Contigiani, E. V., Jaramillo-Sánchez, G. M. Castro, M. A., Gómez, P. L., Alzamora, S. M. (2018). Postharvest quality of strawberry fruit (*Fragaria x Ananassa* Duch cv. Albion) as affected by ozone washing: fungal spoilage, mechanical properties, and structure. *Food and Bioprocess Technology*, 11 (9), 1639-1650.
- Contigiani, E. V., Kronberg, M. F., Jaramillo-Sánchez, G., Gómez, P. L., García-Loredo, A. B., Munarriz, E., Alzamora, S. M. (2020). Ozone washing decreases strawberry susceptibility to *Botrytis cinerea* while maintaining antioxidant, optical and sensory quality. *Heliyon*, 6 (11).
- Crowe, K. M., Bushway, A., Davis-Dentici, K. (2012). Impact of postharvest treatments, chlorine and ozone, coupled with low-temperature frozen storage on the antimicrobial quality of lowbush blueberries (*Vaccinium angustifolium*). *Food Science and Technology*, 47 (1), 213-215.
- Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J. M., Quiles, J. L., Mezzetti, B., Battino, M. (2012). The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*, 28 (1), 9-19.
- Giuggioli, N., Briano, R., Girgenti, V., Peano, C. (2015). Quality effect of ozone treatment for the red raspberries storage. *Chemical Engineering Transactions*, 44, 25-30.
- González-Razo, F. D. J., Rebollar-Rebollar, S., Hernández-Martínez, J., Morales-Hernández, J. L., Abarca-Ramírez, O. (2019). Situación actual y perspectivas de la producción de berries en México. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 44 (1), 260-272.
- Han, Q., Gao, H., Chen, H., Fang, X., Wu, W. (2017). Precooling and ozone treatments affects postharvest quality of black mulberry (*Morus nigra*) fruits. *Food Chemistry*, 221, 1947-1953.
- Horvitz, S., Cantalejo, M. J. (2014). Application of ozone for the postharvest treatment of fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54 (3), 312–339.
- Jaramillo-Sánchez, G., Contigiani, E. V., Castro, M. A., Hodara, K., Alzamora, S. M., García-Loredo, A., Nieto, A. B. Nieto. (2019). Freshness maintenance of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) during postharvest using ozone in aqueous phase: microbiological, structure, and mechanical issues. *Food and bioprocess technology*, 12, 2136-2147.
- Nakata, J., Uzimi, H. (2020). Microbiological and quality responses of strawberry fruit to high CO<sub>2</sub>, CA and MA storage. *HortScience*, 55 (3), 649-690.

- Nayak, S. L., Sethi, S., Sharma, R. R., Sharma, R. M., Singh, S., Singh, D. (2020). Aqueous ozone controls decay and maintains quality attributes of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.). *Journal of Food Science and Technology*, 57 (1), 319-326.
- Onopiuk, A., Póltorak, A., Moczowska, M., Szpicer, A., & Wierzbicka, A. (2017). The impact of ozone on health-promoting, microbiological, and colour properties of *Rubus ideaus* raspberries. *CyTA-Journal of Food*, 15 (4), 563-573.
- Panou, A. A., Akrida-Demertzi, K., Demertzis, P., Riganakos, K. A. (2021). Effect of gaseous ozone and heat treatment on the quality and shelf life of fresh strawberries during cold storage. *International Journal of Fruit Science*, 21 (1), 218 -231.
- Romanazzi, G., Smilanick, J. L., Feliziani, E., Droby, S. (2016). Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. *Postharvest Biology and Technology*, 113, 69-76.
- Thompson, A. K. (2018). Effects and interactions of CA storage. En A. K. Thompson, *Controlled atmosphere storage of fruits and vegetables* (pp. 11-24). Londres: CABI.
- Xu, Y., Charles, M.T., Luo, Z., Mimee, B., Chao, T, Veronneau, P.Y., Rolland, D., Roussel, D. (2019). Ultraviolet-C priming of strawberry leaves against subsequent *Mycosphaerella fragariae* infection involves the action of reactive oxygen species, plant hormones, and terpenes. *Plant Cell Environ*, 42, 815–831.
- Zhu, F. (2018). Effect of ozone treatment on the quality of grain products. *Food Chemistry*, 264, 358-366.

## Obtención de un sazónador de xoconostle (*Opuntia joconostle*) con inclusión de su cáscara

A.S. Ramírez-Contreras<sup>1</sup>, V.L. Negrete-Villafaña<sup>1</sup>, A. López-Zepeda<sup>1</sup>, E. Mares-Mares<sup>2</sup>, M.E. Sosa-Morales<sup>1</sup> y M.R. Abraham-Juárez\*<sup>1</sup>

**1** Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato–Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex-Hacienda El Copal, Carretera Irapuato-Silao km 9, 36500 Irapuato, Gto., México.

**2** Tecnológico Nacional de México, Campus Instituto Tecnológico Superior de Guanajuato. Carr. Guanajuato-Puentecillas km 10.5 Puentecillas. CP. 36262. Guanajuato, Gto., México. \*[mabraham@ugto.mx](mailto:mabraham@ugto.mx)

### RESUMEN

El aprovechamiento de la cáscara de xoconostle se ve limitada por la cultura de consumo de este fruto, debido a su textura fibrosa. El objetivo de este trabajo fue el desarrollo de un sazónador aceptado por el consumidor a base del fruto del xoconostle usando su cáscara y empleando un secado solar, para contar con un método ecoamigable y de bajo costo. Se evaluó el tiempo de secado en relación con la escala de color CIELAB, pH y °Brix y a la preferencia del consumidor, utilizando una escala hedónica de 5 puntos. Se analizaron los resultados para determinar cuál fue el mejor tratamiento (formulación del sazónador) en base a las variables evaluadas y a la mezcla del producto final. El secado solar de fruto de xoconostle con inclusión de su cáscara, nos permitió obtener un polvo de manera rápida y con el doble del rendimiento que sin el uso de la cáscara. Se pudieron hacer diferentes combinaciones para buscar el mejor sabor y obtener un sazónador nutritivo de proceso rápido con sabor, color y textura atractivo y del gusto del consumidor, teniendo como principal ingrediente un fruto tradicional y que se puede incluir en el mercado de la nostalgia.

**Palabras clave:** Xoconostle, cáscara, secado, sazónador.

### ABSTRACT

The use of the xoconostle shell is limited by the culture of consumption of this fruit, due to its fibrous texture. The objective of this work was the development of a seasoning accepted by the consumer based on the fruit of the xoconostle using its shell and using solar drying, to have an eco-friendly and low-cost method. Drying time was evaluated in relation to the CIELAB color scale, pH and °Brix, and consumer preference, using a 5-point hedonic scale. The results were analyzed to determine which was the best treatment (formulation of the seasoning) based on the variables evaluated and the mixture of the final product. Solar drying of the xoconostle fruit, including its shell, allowed us to obtain a powder quickly and with twice the yield than without the use of the shell. Different combinations could be made to find the best flavor and obtain a fast-process nutritious seasoning with an attractive flavor, color and texture and to the taste of the consumer, having a traditional fruit as the main ingredient and that could be included in the nostalgia market.

**Keywords:** Xoconostle, peel, drying, seasoning.

## INTRODUCCIÓN

La palabra de xoconostle proviene del náhuatl “xococ” que significa agro y “nochtli” tuna. Este fruto nace de la variedad de nopal conocido como *Opuntia joconostle*, tiene un gran parecido a la tuna pero de sabor agrio, y en su pulpa podemos encontrar importantes cantidades nutricionales para nuestro organismo. (García, 2017). En algunas investigaciones realizadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), se evaluó y encontró, que el contenido de compuestos nutricionales y farmacéuticos del xoconostle en su consumo fresco, junto con la cáscara, aporta una gran cantidad de antioxidantes. Desde varios puntos de vista el xoconostle es distinguido por ser un importante factor de sustento económico del campesino mexicano, quien lo utiliza en su alimentación y como medicina alternativa. Y en su importancia ecológica, por su resistencia a la sequía debido a su enorme adaptación a los cambios climáticos y su contribución a la formación del suelo. Por otro lado, la historia gastronómica del xoconostle se incrementa cada vez más, pues además de consumirse como fruto fresco, por su versatilidad también se utiliza para la preparación de salsas, botanas, dulces, postres y licores. En México, los principales estados productores de xoconostle son: Estado de México, San Luis Potosí, Hidalgo, Puebla y Querétaro y en menor proporción Aguascalientes, Zacatecas y Guanajuato. (SADER, 2022). El consumo de la cáscara de xoconostle, aporta un tercio de los requerimientos mínimos diarios de vitamina C para un adulto. Es rico en antioxidantes y fibra, por lo que fortalece el sistema inmunológico. También se han encontrado buenos resultados del consumo habitual de la cáscara del fruto de xoconostle para regular los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos. (García, 2017). Este proyecto tiene como objetivo desarrollar un nuevo producto a base de xoconostle incluyendo su cáscara y en una presentación de sazónador en polvo, buscando ofertar al consumidor un producto práctico y con un costo accesible. Teniendo en cuenta que debemos de proporcionar un producto innovador y con una vida de anaquel y sabor que sea competitivo con otros productos en el mercado. Se presentarán e incluirán diferentes métodos para su preparación (Dávila, 2019). La utilización de residuos agroindustriales, como materia prima de bajo costo para obtener nuevos productos, representa una opción para transformar los desechos en nuevas materias primas que se perfilan como una alternativa atractiva para conseguir compuestos con propiedades benéficas. Sin embargo, los residuos generados por las transformaciones agroindustriales y por las pérdidas postcosecha en nuestro país aún no han sido aprovechados eficientemente, en parte, porque su valor es desconocido y sobre todo por la falta de métodos apropiados para la preparación y caracterización de sustancias de mayor valor agregado, las cuales contengan la suficiente calidad e inocuidad como para ser usadas en esos procesos (Angulo *et al.*, 2011). El papel que tienen los vegetales y productos alimenticios en la prevención de enfermedades ha sido atribuido a las propiedades antioxidantes de sus compuestos polifenólicos. Con este conocimiento, se trata de demostrar el valioso potencial de algunos materiales subutilizados o de escaso interés comercial como fuente de compuestos antioxidantes (Oliveira *et al.*, 2009). Estos residuos representan una alternativa para la formulación de alimentos funcionales libres de productos químicos sintéticos al aprovechar su capacidad antioxidante con lo que se lograría disminuir el porcentaje de desechos provenientes de la industria al ser empleados como materias primas de fortificación. (Vargas y Vargas *et al.*, 2019). Por lo que el objetivo de este trabajo fue el desarrollo de un sazónador a base del fruto del xoconostle usando su cáscara y empleando un secado solar, para contar con un método ecoamigable y de bajo costo pero que fuera de la aceptabilidad del consumidor.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Obtención de polvo de xoconostle sin y con cáscara.** El polvo del fruto de xoconostle se obtuvo mediante secado al sol (realizando tres replicas independientes). Se utilizaron xoconostles con coloración 80% verde y 20% púrpura, posteriormente fueron lavados con solución de hipoclorito de sodio a 50 ppm por 15 minutos. Los frutos fueron cortados en rodajas y puestos a secar. El secado del xoconostle sin y con cáscara se llevó a cabo a 36 °C como temperatura máxima de 15 °C como mínima durante 18 y 22 horas respectivamente hasta obtener un producto con un contenido de humedad del  $14.0 \pm 0.3\%$ . Para la molienda se utilizó una licuadora marca Oster, por la cual se pasaron las rodajas de fruta seca hasta ser pulverizados.

### **Formulaciones para obtener el aderezo utilizando el polvo de xoconostle obtenido**

Se realizaron 3 repeticiones por cada tratamiento:

Tratamiento 1: Xoconostle con cáscara

Tratamiento 2: Xoconostle sin cáscara

Tratamiento 3: Xoconostle con cáscara y azúcar glass (1:1.5)

Tratamiento 4: Xoconostle con cáscara y sal (1:0.5)

Tratamiento 5: Xoconostle con cáscara, chile de árbol, sal y ácido cítrico (se formuló una mezcla compuesta con 35 g de polvo de xoconostle con cáscara, 5.25 g de chile de árbol (polvo), 7 g de sal y 7 g de ácido cítrico).

**Análisis sensorial de las diferentes formulaciones por test hedónico de cinco puntos.** Se llevó a cabo un análisis sensorial para los cinco tratamientos.

### **Evaluación de Sólidos Solubles Totales (SST) expresados en °Brix, pH y Humedad.**

Para realizar la medición de SST (° Brix) se utilizó un refractómetro HANNA HI 96801. Para medir pH, se utilizó el equipo HANNA instruments y para la determinación de humedad se llevó a cabo mediante diferencia de peso. Ambas mediciones se realizaron por triplicado para cada tratamiento.

**Evaluación de los parámetros de color.** Se estudiaron los parámetros de color para las formulaciones resultantes. Se evaluó el color de cada una de manera objetiva empleando un espectro fotocolorímetro 3hn modelo NR60CP, empleando el espacio de color L\*, a\* y b\* también conocido como CIELAB. El parámetro de color L\* corresponde a la luminosidad (+L\* es blanco y -L\* es negro) y a\* indica la dirección del color rojo (+a\*) a la dirección del verde, (-a).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Obtención de polvo de xoconostle sin y con cáscara.** Se pudo estandarizar el método de secado (36° C la máxima temperatura y 15° C la mínima) para obtener el polvo deseado del fruto de xoconostle sin y con cáscara, lo que nos dio la materia prima para llevar a cabo las formulaciones. El secado se puede realizar de una manera rápida, al considerar que es un secado solar, sabemos que la temperatura en este caso es de vital importancia para que se realice el secado de una manera correcta, esto debido a que con el tiempo de exposición es el principal factor a considerar.

**Rendimiento del polvo de xoconostle después del secado**

Xoconostle fresco sin cáscara (en base a 1kg de xoconostle sin pelar): 380 g (38%)

Desechos totales: 62% (620 g)

Xoconostle fresco con cáscara: 100% (1 kg)

Cantidad obtenida después del secado y molienda:

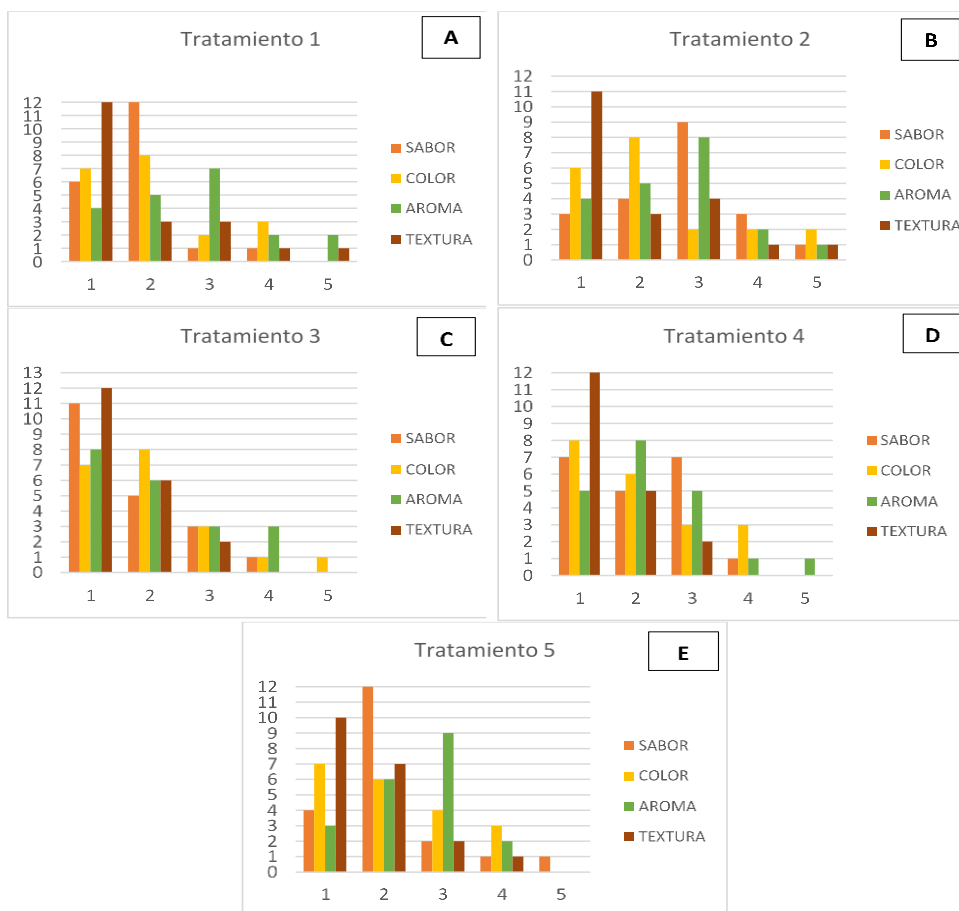
Polvo xoconostle sin cáscara: 58 g (15.26%)

Polvo xoconostle con cáscara: 371 g (37.10%)

Los resultados anteriores nos indican que cuando se utiliza la cáscara a diferencia que cuando no, se puede obtener el doble del rendimiento en el polvo obtenido.

**Análisis sensorial de las diferentes formulaciones por test hedónico de cinco puntos.** Se llevó a cabo un análisis sensorial a los cinco tratamientos (formulaciones de aderezo) para evaluar sabor, color, aroma y textura (apariencia) y la preferencia general del consumidor, buscando obtener al mejor sazónador a base de xoconostle (Figura 1). Podemos observar que la formulación que más prefirieron los consumidores fue la correspondiente al tratamiento 5, que se suponía era la que más gustaría por el número de ingredientes utilizados, pero que simula más a un aderezo comercial, aunque cabe destacar que los ingredientes elegidos no se encuentran en ningún aderezo comercial. Con respecto a la aceptabilidad del polvo de xoconostle con cáscara, se esperaba que el consumidor no lo aceptara por el sabor más ácido que presentó, sin embargo, como se observa, gustó el sabor y la textura a todos los consumidores, siendo menor esta aceptabilidad al polvo de xoconostle sin cáscara, es por ello que se decidió formular el tratamiento 5 con el polvo de xoconostle con cáscara.



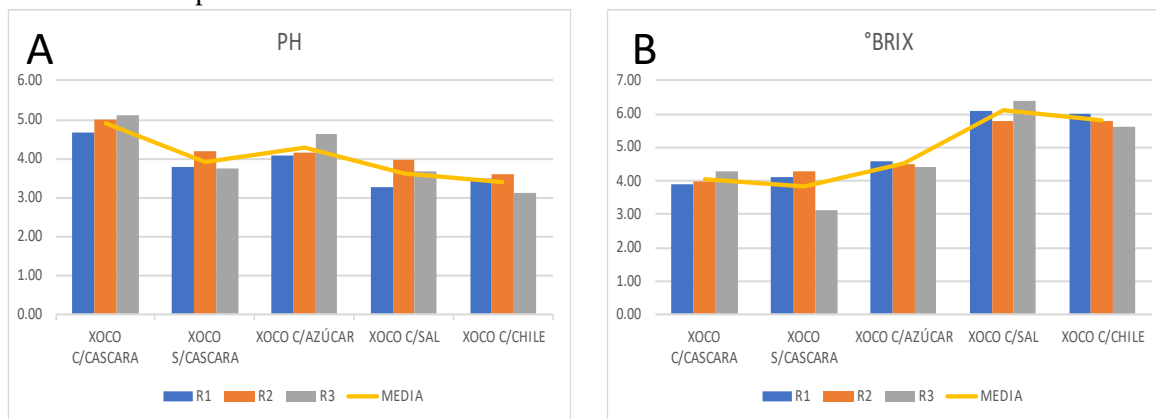


**Figura 1.** Análisis sensorial y aceptabilidad general de las diferentes formulaciones del aderezo respecto a sabor, color, aroma y textura (apariencia). **A. Tratamiento 1:** Xoconostle con cáscara. **B. Tratamiento 2:** Xoconostle sin cáscara. **C. Tratamiento 3:** Xoconostle con cáscara y azúcar glass (1:1.5). **D. Tratamiento 4:** Xoconostle con cáscara y sal (1:0.5). **E. Tratamiento 5:** Xoconostle con cáscara, chile de árbol, sal y ácido cítrico (se formuló una mezcla compuesta con 35 g de polvo de xoconostle con cáscara, 5.25 g de chile de árbol (polvo), 7 g de sal y 7 g de ácido cítrico).

### Evaluación de Sólidos Solubles Totales (SST) expresados en °Brix y pH

Se evaluó para cada uno de los tratamientos los SST y el pH y como se observa en la Figura 2, de forma general se presenta un pH menos ácido para el tratamiento 1: polvo de xoconostle con cáscara que el de sin cáscara, esto parece ser esperado debido a que la cáscara tiene menor acidez que el pericarpio del fruto, siendo el pH del polvo de xoconostle sin cáscara parecido al xoconostle fresco que va de 3.5-3.8 (García, 2019), y como se esperaba el tratamiento 5 (xoconostle con chile) el pH queda en el pH de 3.5, lo que se buscó con la mezcla final con el objeto de ser más agradable al gusto del consumidor. Pudimos notar que en el caso del xoconostle con cáscara, chile, sal y ácido cítrico

fue el que presento menor pH. En los demás tratamientos su pH fue muy cercano, y no hay mucha variación en sus repeticiones de estos.



**Figura 2.** Comparación de (A) pH y (B) °Brix (SST) de diferentes tratamientos.

En el fruto de xoconostle sin cáscara se reporta que se tiene hasta un promedio de 11.5 °Brix (García, 2019) y hasta de un mínimo de 5.3 °Brix (Pinedo-Espinoza, 2014), lo que coincide con los resultados obtenidos en los distintos tratamientos (Fig. 2B), y de manera lógica el aumento en los tratamientos de sal y chile, lo que nos indica que hay un balance entre el pH y SST de la formulación más aceptada por los consumidores (Tratamiento 5).

### Evaluación de los parámetros de color

Podemos observar en la Figura 3, las coordenadas cromáticas y tonalidad de los diferentes tratamientos a base de xoconostle y podemos observar que la luminosidad (L) es similar en todos los tratamientos (entre 48 y 55) similar a la luminosidad reportada para el xoconostle fresco, con un ligero incremento en el tratamiento que se le adicionó azúcar. Respecto a la coordenada a que indica el color cercano al rojo se esperaba para el tratamiento con chile y para el polvo de xoconostle con cáscara a diferencia del de sin cáscara se presenta un valor mayor, atribuido al color de la cáscara. Respecto a la coordenada b, que tiende al color amarillo se presenta la misma tendencia que b (Morales, 2009). Podemos decir que el secado solar no nos afecta en gran medida el color del polvo obtenido, lo que es importante para el producto terminado. La formulación del tratamiento 5 presenta un color agradable a la vista aún sin la adición de chile de árbol, este último se adiciona principalmente por el sabor buscado siendo el fin un aderezo.



**Figura 3.** Comparación de color (L, a y b) de los diferentes tratamientos.

## CONCLUSIÓN

El secado solar de fruto de xoconostle con inclusión de su cáscara, nos permitió obtener un polvo de manera rápida y con el doble del rendimiento al usar la fruta sin cáscara, usando este método ecoamigable y de bajo costo por su naturaleza. Además de permitirnos obtener un sazón con un sabor, color y textura atractivo y del gusto del consumidor. Se pudieron hacer diferentes combinaciones para buscar el mejor sabor. Es un proceso que no lleva mucho tiempo su elaboración, pero puede ser un gran acompañante en diferentes alimentos, basado y realizado de manera nutritiva y teniendo como principal ingrediente un fruto de amplia tradición en nuestro país que se pudiera incluir en el mercado de la nostalgia en otros países también. Cumpliendo entonces, con el objetivo de este trabajo, el desarrollo de un sazón a base del fruto del xoconostle usando su cáscara aceptado por el consumidor.

## BIBLIOGRAFÍA

- Angulo, P., Díaz, D., Espinoza, J., Fernández, V., Figueroa, M., y Galarza, A. (2001). Implicaciones farmacológicas y toxicológicas del óxido nítrico en la inflamación intestinal II: enteritis inducida por AINES como modelo experimental para el estudio de la flora medicinal peruana. *Revista de Ciencias Veterinarias*, 17(3), 21-26
- Dávila Hernández, G. (2019). Effect of microwave pretreatment on bioactive compounds extraction from xoconostle (*Opuntia joconostle*) by-products. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 18(1), 191–204. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbi/revmexingquim/2019v18n1/davila>
- García Romero, A. L. (2017). Físicoquímica y propiedades antioxidante de xoconostle burro (*Opuntia joconostle*). Tesis de Maestría Tecnológica en Agroindustria. Colegio de Postgraduados. Amatlán de los Reyes. Veracruz, México.
- Morales, A. (2009). Caracterización fitoquímica funcional del fruto de xoconostle cuaresmeño (*Opuntia matudae*) y el efecto de su consumo en parámetros bioquímicos de ratas diabéticas. Tesis de Maestría en Ciencias y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México.
- SADER. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2022). Access Denied. Gobierno de México. Recuperado 2 de junio de 2022, de <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/xoconostle-una-tuna-maravillosa>
- Vargas y Vargas, M., Figueroa Brito, H., Tamayo Cortez, J., Toledo López, V., & Moo Huchin, V. (2019). Aprovechamiento de cáscaras de frutas: análisis nutricional y compuestos bioactivos. *CIENCIA Ergo-Sum*, 26(2). doi:10.30878/ces.v26n2a6

## Obtención de tacos de adobo a base de zanahoria (*Daucus carota*)

J.A. Caudillo-Corona<sup>1</sup>, C.S. Chávez-Gaytán<sup>1</sup>, C.P. Núñez<sup>1</sup>, C. Ortiz-Canchola<sup>1</sup>, E. Díaz-Cervantes y M.R. Abraham-Juárez\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de alimento, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex-Hacienda El Copal, Carretera Irapuato-Silao km 9, 36500, Irapuato, Gto., México.

\*[mabraham@ugto.mx](mailto:mabraham@ugto.mx)

### RESUMEN

Las verduras contienen vitaminas, minerales y fibra; formando parte de una dieta saludable. La zanahoria es una buena fuente de betacaroteno, que nuestro organismo convierte en vitamina A o retinol y una materia prima de bajo costo. Por lo que el objetivo de este trabajo fue desarrollar un adobo para simular el uso de la carne, sacando provecho de su contenido de fibra y sabor, presentado en tacos acompañada de una salsa que diera mejor aceptación. La metodología contempló las siguientes variables: en el caso de la tortilla su peso, grosor y tamaño, siendo la tortilla de 25 g de tres prensados con 0.1cm de grosor y 10.4 cm de largo la que tuvo mejor presentación; respecto al adobo se realizaron escaldados de 5, 10 y 15 minutos, siendo el de 10 minutos quien proporcione una textura suave y poco crujiente a la zanahoria para luego ser sometida a un marinado de 24 horas, posteriormente se monitoreo su pH antes y después de saltearse, obteniendo así una imitación de carne de pastor marinada; para la salsa el grado de acidez respecto a su vida útil, consiguiendo una mejor aprobación la salsa con mediano grado de picor.

**Palabras clave:** Zanahoria, adobo, sustituto, tortilla, salsa.

### ABSTRACT

Vegetables contain vitamins, minerals and fiber; as part of a healthy diet. Carrot is a good source of beta-carotene, which our body converts into vitamin A or retinol and a low-cost raw material. Therefore, the objective of this work was to develop a marinade to simulate the use of meat, taking advantage of its fiber content and flavor, presented in tacos accompanied by a sauce that would give better acceptance. The methodology contemplated the following variables: in the case of the tortilla, its weight, thickness, and size, with the 25 g three-pressed tortilla, 0.1 cm thick and 10.4 cm long, having the best presentation; Regarding the marinade, scalding of 5, 10 and 15 minutes was carried out, being the one of 10 minutes who provided a soft and slightly crunchy texture to the carrot to then be subjected to a marination of 24 hours, later its pH was monitored before and after sauté, thus obtaining an imitation of marinated shepherd's meat; for the sauce, the degree of acidity with respect to its useful life, obtaining a better approval for the sauce with a medium degree of spiciness.

**Keywords:** Carrot, marinade, substitute, tortilla, sauce.

## INTRODUCCIÓN

La obesidad infantil, es un enorme problema de salud pública donde México ocupa el primer lugar a nivel mundial y el segundo en obesidad en adultos, superado por Estados Unidos, es uno de los problemas más graves del siglo XXI y ha ido aumentando en los últimos años de forma alarmante, el problema empieza desde la edad preescolar (ISSSTE, 2017). Concentrándonos en los infantes mexicanos es preocupante la dieta que les acostumbran a consumir, donde es evidente el prácticamente nulo consumo de frutas y verduras, pues de acuerdo con el artículo “Consumption of fruits and vegetables and health status of Mexican children from the National Health and Nutrition Survey 2012” solo 3 de cada 10 niños mexicanos cumplen con la ingesta de frutas y verduras recomendada por la OMS. Tenemos en cuenta que el buen funcionamiento de nuestros órganos, el crecimiento y el desarrollo que deberíamos tener desde nuestro nacimiento es por la calidad de los alimentos que consumimos; el plato del buen comer, es una guía alimentaria que es parte de la Norma Oficial Mexicana (NOM), ilustra cada uno de los grupos de alimentos; frutas y verduras, cereales y tubérculos, leguminosas y alimentos de origen animal, con el fin de que la población vea la variedad de alimentos que podemos consumir (SIAP, 2019). La zanahoria (*Daucus carota*) contiene una cantidad apreciable de hidratos de carbono, su vitamina que predomina es la A. Una zanahoria de tamaño medio cubre el 89% de las necesidades diarias de esta vitamina en hombres y el 112% en mujeres; Contiene también vitaminas C, B1, B2, B6 y ácido fólico; azúcares, como la levulosa y dextrosa, de asimilación directa; ácidos málico y silícico; inositol, también contienen pequeñas cantidades de minerales como hierro, yodo y potasio (EFSA, 2010). Favorece las funciones digestivas, contiene sustancias hipoglucemiantes que la hacen recomendable para los diabéticos, es depurativa y diurética por su riqueza en potasio, lucha contra el estreñimiento por su fibra insoluble, baja el colesterol y combate el cansancio crónico (Hortalizas, 2018). En México, hay más de 13 mil hectáreas destinadas para el cultivo de la zanahoria, se obtiene alrededor de 331 mil toneladas de zanahoria al año, se producen en 21 estados de la república mexicana, donde destacan Zacatecas, Puebla, Guanajuato, Sinaloa, Baja California, Jalisco y el Estado de México, siendo los tres primeros estados los mayores productores. Por otro lado, el 33% restante se obtiene de otros estados como Coahuila y Chiapas (Agricultura en México, 2017). En frutas y hortalizas la actividad de diversas enzimas tal como la peroxidasa ha sido relacionada con la aparición de efectos no deseados, tales como modificaciones en color, sabor y textura, así como en la producción de olores. Según lo anterior, es importante que los productos vegetales requieran de un tratamiento térmico con la finalidad de inactivar enzimas que causen efectos negativos y de esta manera evitar o minimizar los cambios de calidad en el producto durante el almacenamiento o procesamiento posterior (Ramírez-Becerra, 2009). El escaldado consiste en una primera fase de calentamiento del producto a una temperatura que oscila entre 70°C y 100°C. A esta etapa le sigue otra, que consiste en mantener el alimento durante un periodo de tiempo, que varía entre 30 segundos a 3 minutos, a la temperatura deseada. El último paso es realizar un enfriamiento rápido (choque térmico) (Gimferrer-Morató, 2009). La enzima peroxidasa es utilizada como enzima indicadora para comprobar la eficiencia de un proceso de escaldado, ya que al ser desactivada durante el tratamiento térmico se asume que ha ocurrido la inactivación de otras enzimas deteriorativas. Esto se debe a que la peroxidasa presenta mayor resistencia térmica que el resto de las enzimas presentes (Ramírez-Becerra, 2009). El marinaje es una técnica que se suele emplear como método de conservación ya que se pone en remojo en un líquido aromático y condimentado durante un tiempo determinado a un alimento, normalmente a carnes antes de ser cocinadas. Por lo general no se debe de marinar más de veinticuatro horas bajo refrigeración

(Clemente, 2013). La cocción de los alimentos consiste en aplicar un tratamiento térmico para hacerlos consumibles. El objetivo principal es el desarrollo de las características organolépticas del producto: mejorar el sabor, olor, color y textura (Chavarrías, 2013). El pH mide el grado de acidez o alcalinidad de una disolución, donde el grado de acidez reduce la aparición de microorganismos patógenos en los alimentos poniéndolo como un método de conservación (Torres-Caraballo y Pájaro-Salgado, 2021). Tomamos en cuenta métodos de conservación para cada uno de los subproductos que realizamos, con el fin de aumentar su vida de anaquel con la debida inocuidad: marinado, escaldado, la cocción (en este caso se utilizó para el adecuado consumo) y pH. Es necesario puntualizar que un mexicano promedio consume 90 kilogramos de tortilla al año, siendo un alimento que no puede faltar en la mesa, así mismo el consumo de salsa es de 8 a 17 kg al año y el adobo de tipo “pastor” es uno de los guisados más consumidos en los tacos, donde 5 de cada 10 mexicanos consumen tacos al menos una vez por semana, poniendo esto a un consumo de 54.14 veces al año (Rodríguez, 2021). Por todo ello, el objetivo general de este proyecto fue desarrollar un adobo, una tortilla y una salsa a base de zanahoria acompañado, para simular el adobo a base de carne, y promover una alimentación sana con el consumo de esta verdura.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Elaboración de Tortilla

Se emplearon 178 g de zanahoria desinfectada, a la que se le cortó las puntas. Se hizo uso de 187.5 g de harina de maíz (Maseca), 62.5 g de harina de trigo, 4 g de sal, 10 g de ajonjolí tostado y 1 g de mejorana.

**Obtención de la masa para tortilla:** se procedió a rayar la zanahoria, para ser molida con 70 mL de agua. En un recipiente se colocó la harina de maíz, la harina de trigo, sal, el ajonjolí y la mejorana. Paulatinamente se fue adicionando la zanahoria y se fue mezclando hasta obtener la consistencia adecuada. Se probaron tres métodos: se realizaron bolitas de 20, 25 y 35 g con 1, 2 y 3 prensados para luego ser sometidas a un tiempo de cocción de calor directo de 1 minuto por cada lado de la superficie de la tortilla.

### Preparación del Adobo

Se utilizaron 300 g de zanahoria desinfectada y rayada en tiras delgadas con cortes similares a carne de pastor. Se utilizaron diferentes especias en pequeñas cantidades y chiles de diferentes especies (15 g de ajo, 0.84 g de pimienta gorda, 1.5 g de pimienta, 1.8 g de laurel, 0.5 g de orégano, 1.5 g de sal, 2.4 g de clavo, 8.25 g de cubo de pollo, 18 g de chile pasilla, 30 g de chile ancho y 84 g de chile guajillo) y 200 g de piña en madurez comercial picada en cubos.

**Obtención de la mezcla para simular la carne al pastor.** Se probaron tres métodos. Se utilizaron 500 mL de agua que se calentaron hasta ebullición, se divide en 3 alícuotas y a cada una se le agregan 100 g de zanahoria para cocción por periodos de 5, 10 y 15 minutos, respectivamente.

**Obtención de salsa para adobo:** Se realizaron tres pruebas de salsa para cada tiempo de cocción. Para cada una se agregó lo siguiente: 6 g de chile pasilla desvenado, 10 g de chile ancho y 28 g de chile guajillo y se cocieron en agua para inmediatamente enfriar para alcanzar 25 °C, licuar agregando 0.28 g de pimienta gorda, 0.5 g de pimienta negra, 0.6 g de laurel, 2 pizcas de orégano, 5 g de ajo, 0.5 g de sal, 0.8 g de clavos de comer, 2.75 g de cubo de pollo y 35 mL de agua.

**Obtención de marinado de la salsa:** se añadió la salsa para adobo a 3 muestras de zanahoria, incorporando 66 g de piña para cada una, se reservaron por 24 horas en refrigeración.

**Freído del adobo:** se realizó durante 5 minutos para cada muestra.

### Elaboración de la Salsa

Se utilizaron 342 g de zanahoria desinfectadas, se retiraron los extremos de cada zanahoria. Además, se emplearon otras verduras y especias para darle el sabor (3.5 g de chiles del árbol, 198 g de chiles guajillos, 70 g de cebolla, 12 g de sal y 12 g de ajo) y 360 mL de agua.

**Preparación de salsa:** Los chiles, la cebolla y el ajo se sometieron a cocción por 35 minutos, transcurrido el tiempo se retiró la placenta de los chiles, se probaron 3 formulaciones para la obtención de 3 salsas con diferente grado de picor, todas contaron con una base igual (62.6 g de chiles guajillo, 110 g zanahorias, 23.3 g de la cebolla, 4 g de ajo, 3 g de sal y 120 mL de agua), y para la primera formulación no se le añadieron chiles de árbol, a la segunda únicamente 1.10 g y la tercera contiene 2.20 g, cada mezcla de ingredientes se licuó y envasó.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Evaluación de características físicas de la tortilla al número de veces de prensado.

En la Tabla 1, se muestran los resultados obtenidos.

**Tabla 1.** Características físicas de las tortillas con distinto peso y prensado.

Condición de la Muestra	Peso (g)			Tiempo de cocción por lado (min)
	35	25	20	
<b>1 Prensada</b>	Muy gruesa Quebradiza	Gruesa Quebradiza	Ligeramente gruesa Quebradiza	1
<b>Grosor</b>	0.3 cm	0.2 cm	0.1 cm	
<b>Largo</b>	10.5 cm	8.6 cm	8.1 cm	
<b>2 Prensadas</b>	Ligeramente gruesa Se despedaza un poco	Grosor uniforme Difícilmente se despedaza	Tamaño adecuado No se despedaza	
<b>Grosor</b>	0.10 cm	0.30 cm	0.10 cm	
<b>Largo</b>	10.90 cm	9.80 cm	8.70 cm	
<b>3 prensadas</b>	Mas uniforme el grosor No se despedaza	Tamaño adecuado No se despedaza Se puede enrollar	Delgadas, uniforme el tamaño No se despedaza	
<b>Grosor</b>	0.10 cm	0.10 cm	0.05 cm	
<b>Largo</b>	11.90 cm	10.40 cm	9.6 cm	

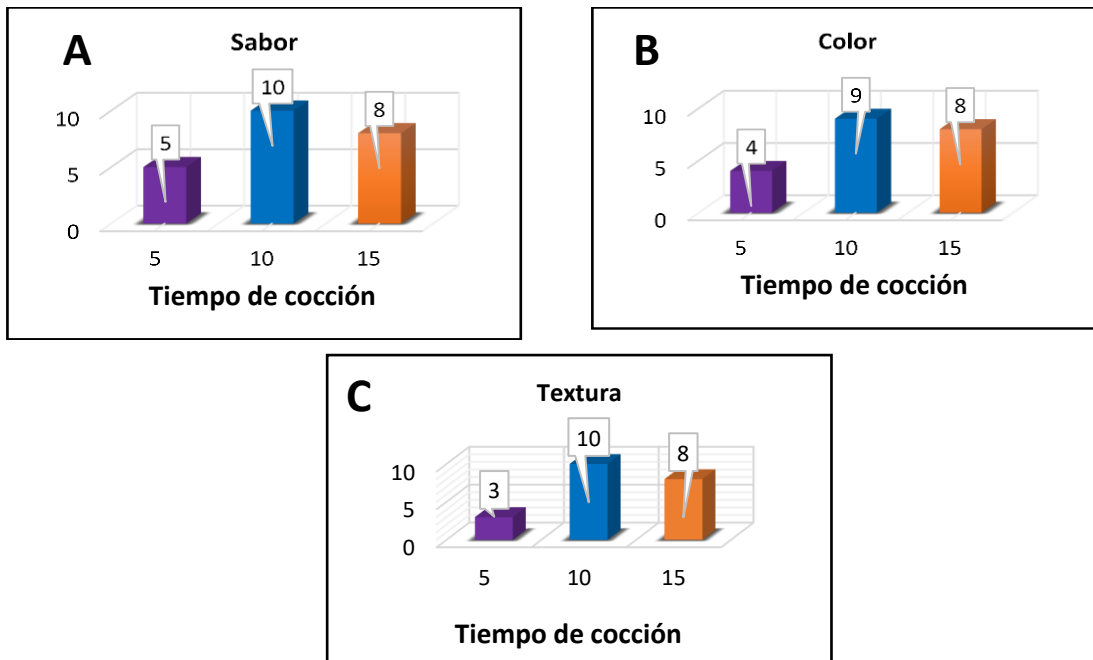


Podemos observar que el número de veces de prensado nos ayuda a tener la tortilla con las mejores características físicas para nuestro fin. La tortilla de 25 g con 3 prensadas, fue la que más gusto al consumidor por el tamaño y la consistencia que permite hacer el taco tradicional, tiene un diámetro mayor y su grosor es menor, lo que la asemeja al estándar de una tortilla comercial, tiene una mayor flexibilidad, su tiempo de cocción es 1 minuto de cocción por cara, por lo que es con la que nos quedaremos para la presentación del producto.

### Preparación del Adobo

Se utilizaron tres tiempos de cocción a los 5, 10 y 15 minutos, los cuales fueron medidos para obtener 3 variables: el sabor, color y el sabor y textura de acuerdo con el análisis organoléptico de aceptabilidad. Lo que se buscaba era obtener la textura parecida a la de la carne en este tipo de guiso, buscando un color amarillo-naranja y un sabor ligeramente dulce. Y debido a ello, con la cocción se desactivó la enzima peroxidasa para evitar la oxidación de la zanahoria, y poder garantizar una apariencia atractiva en el producto final.

Podemos observar en la Figura 1, los resultados obtenidos de la evaluación sensorial para los tiempos de cocción a los 5, 10 y 15 minutos. El tiempo de cocción si influyó en estos atributos (sabor, color y textura). Se determinó que el tiempo de cocción de 10 minutos fue el que expuso los atributos mencionados para ser preferido por el consumidor.



**Figura 1.** Aceptabilidad en base al tiempo de cocción de la zanahoria rayada en relación a la textura, color y sabor del adobo. A. Sabor. B. Color. C. Textura.



### Determinación de pH de la zanahoria marinada

Antes de marinar se llevó a cabo la determinación de pH por triplicado, así como a las 24 horas de marinado y después del freído. Los valores graficados son el promedio de cada una de las determinaciones de pH en distintas etapas del proceso. Podemos observar al graficar los resultados en la Figura 2 que el aceite y la temperatura de freído influyen, presentándose un incremento en el pH después de cada condición. Esta información es importante ya que influye en el sabor del producto final y en la vida de anaquel del mismo. Lo que nos da pauta a controlar los tiempos del proceso para obtener el mejor sabor y consistencia.

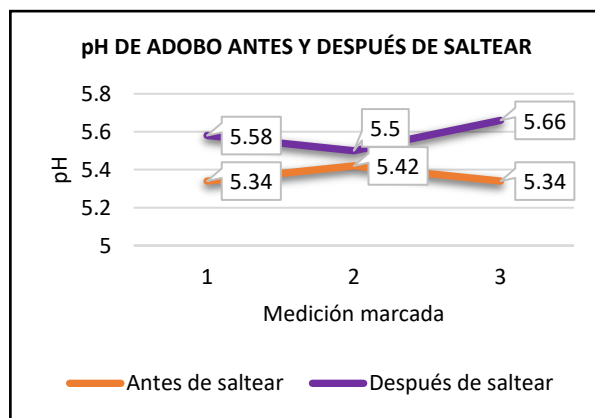


Figura 2. Determinación de pH antes de marinar, a las 24 horas de marinado y después del freído.

### Salsa de zanahoria

#### Determinación de pH de la salsa de zanahoria

Se determinó el pH por triplicado en las tres salsas con distinta formulación, se promediaron las repeticiones y se graficaron los resultados determinando que la formulación más estable es la que cuenta con 1 chile de árbol, presentándose una acidificación de forma gradual, en comparación con la formulación que contiene 2 chiles donde su pH incrementa, la formulación con 0 chiles presenta una recta lo que nos indica que el aumento de pH también es estable, estas mediciones pH de toman de forma simultánea a la determinación de vida de anaquel que fue de 7 días preservando sus características en color, olor, y textura. Se concluye a mayor contenido de chiles más bajo será su pH.

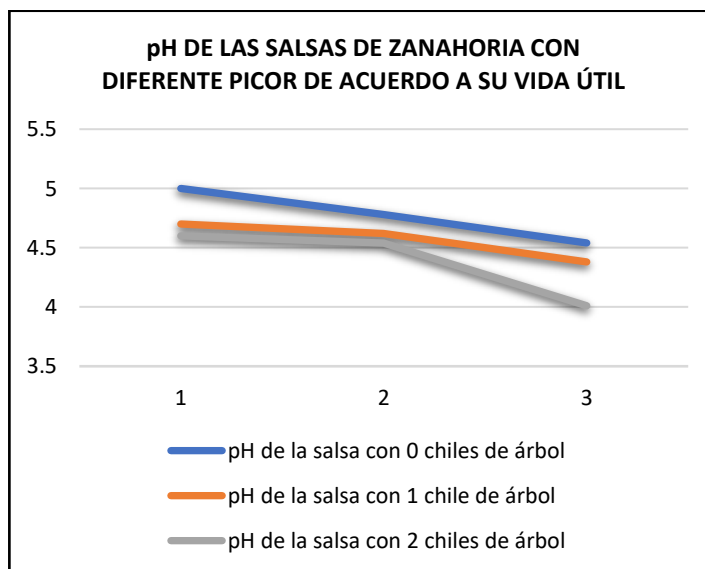
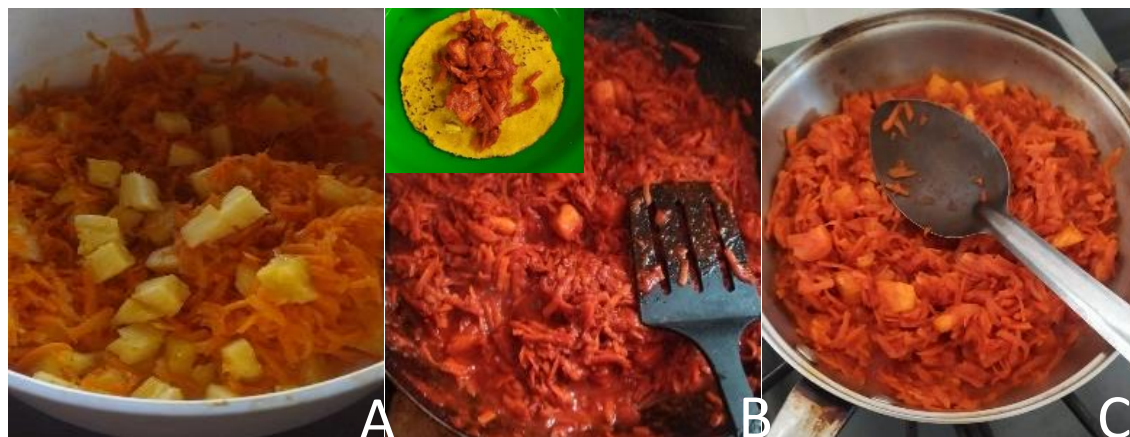


Figura 3. Determinación de pH en las salsas según su grado de picor respecto a su vida útil.

### Adobo en salsa de zanahoria (*Daucus carota*) como sustituto de carne

En la Figura 4 podemos ver el desarrollo finalizado. Un adobo a base de zanahoria donde el tiempo de cocción fue una variable importante para la apariencia y aceptabilidad del consumidor, como se mencionó anteriormente. El adobo presentado en la Figura 4B fue el que tuvo una mejor aceptabilidad por parte del consumidor ya en combinación con la tortilla de 25 gramos y tres prensadas.



**Figura 4.** Presentación final del adobo marinado preparado a base de zanahoria. A. Adobo con zanahoria cocida por 5 minutos. B. Adobo con zanahoria cocida por 10 minutos. C. Adobo con zanahoria cocida por 15 minutos.

## CONCLUSIÓN

Se cumplió con el objetivo general de este proyecto al desarrollar un adobo, una tortilla y una salsa a base de zanahoria, para simular el adobo a base de carne, y promover una alimentación sana con el consumo de esta verdura. Como producto final, se obtuvo un taco de 25 g con 3 prensadas teniendo un espesor de 10 mm y 10.40 cm de largo, para el tiempo de cocción se determinó a usar el de 10 minutos, con un marinado a 24 horas con una dilución de chiles y la formulación que contiene un chile de árbol. Podemos decir que es un producto relativamente fácil de costear para familias de países en desarrollo, al no usar la carne como ingrediente principal.

## BIBLIOGRAFÍA

- A.M. (2017). *Zanahorias mexicanas reconocidas a nivel mundial*. hidroponia.mx. Recuperado el 28 de mayo de 2022, disponible en <https://hidroponia.mx/zanahorias-mexicanas-reconocidas-a-nivel-mundial/>
- Chavarrías, M. (2013). *Conservar alimentos mediante calor*. <https://www.consumer.es/>. Recuperado el 29 de mayo de 2022, disponible en <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/conservar-alimentos-mediante-calor.html#:~:text=La%20cocci%C3%B3n%20de%20los%20alimentos,%2C%20olor%2C%20color%20y%20textura>
- Gimferrer-Morató, N. (2009) *Escaldado de alimentos para mayor inocuidad*. <https://www.consumer.es/>. Recuperado el 29 de mayo de 2022, disponible en <https://www.consumer.es/>

- <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/escaldado-de-alimentos-para-mayor-inocuidad.html>
- H. (2018). *Zanahoria Carrot Daucus Carota L.* Recuperado el 28 de mayo de 2022, disponible en <https://www.fen.org.es/MercadoAlimentosFEN/pdfs/zanahoria.pdf>
- I.S.S.S.T.E. (2017). *Sobrepeso y obesidad infantil.* www.gob.mx. Recuperado el 28 de mayo de 2022, disponible en: <https://www.gob.mx/issste/articulos/obesidad-infantil>
- Ramírez-Becerra, C. A. (2009) *Estudio experimental de la desactivación de la Enzima Peroxidasa Durante el Proceso de Escaldado de Papas (Solanum tuberosum) y el Almacenamiento a -18°C.* Recuperado el 29 de mayo de 2022, disponible en <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2009/far173e/doc/far173e.pdf>
- Rodríguez, A. (2021). *5 de 10 mexicanos consumen taquitos una vez por semana.* www.elfinanciero.com.mx. Recuperado el 28 de mayo de 2022, disponible en <https://www.elfinanciero.com.mx/nacional/2021/03/31/5-de-10-mexicanos-consumen-tacos-al-menos-una-vez-a-la-semana/>
- S.I.A.P. (2010). *El plato del bien comer.* www.gob.mx. Recuperado el 28 de mayo de 2022, de <https://www.gob.mx/siap/es/articulos/el-plato-del-bien-comer?idiom=es>
- Torres-Caraballo, S., Pájaro-Salgado, K. (2021). *Escaldado en alimentos [Diapositivas].* idoc.pub. <https://idoc.pub/documents/escaldado-en-alimentos-ylyxkrreyqnm>

## Efecto del tratamiento de extracción en las características de fucoïdan de *Sargassum sinicola* del Golfo de California

Vargas González G. <sup>a\*</sup> Ibarra González P. A. <sup>a</sup>, Sandoval Larios G. <sup>b</sup>, Guzmán Partida A.M <sup>b</sup>, Ramos Clamont Montfort G. <sup>b</sup>

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

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

\* [gramos@ciad.mx](mailto:gramos@ciad.mx).

### RESUMEN

El fucoïdan es un bioactivo, con potencial nutraceutico. Este polisacárido se encuentra principalmente en las algas marinas cafés (clase Phaeophyceae). Para determinar la concentración y propiedades del fucoïdan de *Sargassum sinicola* se realizaron seis colectas en varios puntos de las costas de Sonora. Las algas se clasificaron, lavaron, y secaron (humedad, 4%), se molieron y tamizaron. Los lípidos y parte de los pigmentos se extrajeron con etanol. Posteriormente se utilizaron dos métodos para extraer el fucoïdan, el primero (A) en condiciones ácidas (0.1M HCl) y el segundo (B) a estas condiciones, y añadiendo formaldehido [0.1%] final, con propósito de blanqueo. Se obtuvieron rendimientos de 3.4±0.58 % y 4.2±1.45% para Ay B, respectivamente, sin que hubiera diferencia significativa ( $p>0.05$ ) en el parámetro de transparencia  $L^*$  (56.80±5.47). Sin embargo, los espectros de infrarrojo con transformada de Fourier mostraron que el método B produjo una desulfatación del fucoïdan, lo cual se confirmó al observar una reducción de la carga superficial obtenida mediante dispersión dinámica de la luz donde la carga del fucoïdan A fue de -18±0.25 mv y la del B de -9.8 ±0.85 mV. El método de extracción es importante porque algunas bioactividades del fucoïdan dependen de su grado de sulfatación.

**Palabras clave:** Algas pardas, bioactivos, fucoïdan

### ABSTRACT

Fucoïdan is a biologically active sulfated polysaccharide synthesized y brown alga (class Phaeophyceae). To determine the concentration and properties of the fucoïdan from *Sargassum sinicola*, six collections were made at various points along the coast of Sonora. The seaweeds were classified, washed and dried ((moisture content, 4%), ground, and sieved. The lipids and part of the pigments were extracted with ethanol. Subsequently, two methods were used for fucoïdan extraction, the first (A) under acid conditions (0.1M HCl) and the second (B) under these conditions, and adding 0.1% formaldehyde final concentration, for bleaching purposes. Yields of 3.4±0.58% and 4.2±1.45% were obtained for A and B, respectively, with no significant difference ( $p>0.05$ ) in the transparency parameter  $L^*$  (56.80±5.47). However, Fourier transform infrared spectra showed that method B produced a desulfation of fucoïdan, which was confirmed by observing a reduction in surface charge obtained by dynamic light scattering where the charge on fucoïdan. Fucoïdan extracted by method A had a surface charge of - 18±0.25 mv and that of B was -9.8 ±0.85 mV. The extraction method is important because some bioactivities of fucoïdan depend on its degree of sulfation.

**Keywords:** Brown algae, bioactive, fucoïdan

## INTRODUCCIÓN

Las macroalgas, también conocidas como algas marinas, pertenecen a uno de varios grupos de algas multicelulares; algas marrones, rojas y verdes. Esta biomasa ha sido utilizada como alimento, medicamento y fuente de bioactivos por culturas que habitan Asia y el Norte de Europa. Un bioactivo importante por sus propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias, antioxidantes y anticoagulantes es el fucoidan. Actualmente se consume como nutraceutico y se estudia su potencial para incorporarlo en alimentos funcionales (Deniaud-Bouët *et al.*, 2017). El fucoidan es un polisacárido rico en L-fucosas, las cuales pueden estar sulfatadas; también se encuentran pequeñas cantidades de otros monosacáridos; Este carbohidrato forma parte de la pared celular de las algas pardas (Phaeophyceae) y está presente en algunos invertebrados marinos como los erizos y pepinos de mar (Li *et al.*, 2008). Comercialmente se obtiene a partir de las algas *Ascophyllum nodosum* y *Fucus vesiculosus* (Wang *et al.*, 2019). Tiene una masa molecular que varía de 13 a 950 kDa, y constituye del 3 % al 10 % de la biomasa de algas secas, dependiendo de la especie y el periodo de recolección. (Deniaud-Bouët *et al.*, 2017). El grado de sulfatación se encuentra relacionado a la bioactividad del fucoidan, sobre todo en aquellas actividades en las que la carga negativa es importante para que este carbohidrato interactúe con otras moléculas, por ejemplo, para el caso de evitar la formación de coágulos y disminuir los efectos de la hipertensión (Wang *et al.*, 2019).

El aislamiento de polisacáridos a partir de algas marinas consiste en una serie de procesos que incluyen la preparación del alga, el pretratamiento, la extracción de los polisacáridos y su aislamiento; si quieren purificarse, se tendrán que añadir operaciones unitarias adicionales (Dobrinčić *et al.*, 2020). La preparación consiste en secar el alga a temperatura ambiente y posteriormente molerla para aumentar el área de contacto con los solventes que se usarán para la extracción de los polisacáridos (Lim *et al.*, 2017). El pretratamiento se realiza con la finalidad de evitar o reducir la extracción de componentes no deseados como pigmentos, lípidos y polifenoles. Para esto, se pueden usar solventes con diferente grado de polaridad como el hexano, éter etílico, cloroformo y etanol, entre otros (Fernando *et al.*, 2019).

Las técnicas convencionales para la extracción de polisacáridos de las algas marinas consisten en el uso de agua o soluciones acuosas ácidas a altas temperaturas. Comúnmente se utiliza agua o ácido clorhídrico en una concentración 0.1 M para romper la pared celular del alga y, dependiendo de la especie, se aplican diferentes condiciones de tiempo y temperaturas altas para optimizar el proceso. La composición y la cantidad de fucoidan están altamente influenciados por el pH, la temperatura (30-90 °C) y el tiempo de reacción (1-5 horas), por lo que estos factores deben ser optimizados de forma simultánea (Flórez-Fernández *et al.*, 2018). Después de solubilizar a los polisacáridos, el alginato se puede extraer con carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) para realizar la conversión de ácido algínico a alginato de sodio y posteriormente se purifica. Otra alternativa es la utilización de cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>) para formar alginato de calcio. Después de separar el alginato, la solución remanente que contiene al fucoidan se somete a una purificación para remover proteínas, ácido algínico y otros compuestos de bajo peso molecular (Dobrinčić *et al.*, 2020). El fucoidan crudo se extrae por precipitación utilizando etanol como solvente. Esta precipitación permite al mismo tiempo separar impurezas de bajo peso molecular no deseadas. Para remover componentes disueltos que no se pudieron separar, se utilizan métodos de purificación como la separación por membranas, intercambio iónico, cromatografía por exclusión de tamaño y cromatografía de afinidad (Dobrinčić *et al.*, 2020).

Los sargazos pertenecen a la familia Sargassaceae, orden Fucales, clase Phaeophyceae y género *Sargassum*. La mayoría de sus especies crecen fijas a las rocas, aunque existen algunas pocas especies pelágicas, entre las que se encuentran aquellas que arriban desde el 2011 a las playas del Caribe mexicano. En este estudio nos enfocamos a *Sargassum sinicola* por ser la especie más abundante en el Golfo de California, constituyendo más del 70% de los bosques de algas marinas de esta región

(Casas-Valdez *et al.*, 2016). El alga se fija en las superficies de piedras, rocas o cantos rodados por medio de un rizoide cónico. A partir del rizoide se forma el eje central o estipe con sus respectivas ramificaciones (Norris, 2010). El largo al que crecen se encuentra entre 0.6 a 2.1 m, pudiendo encontrarse desde el golfo de Santa Clara en la costa noroeste de Sonora hasta el Cabo San Lucas en Baja California Sur (Casas-Valdez *et al.*, 2016). La especie se ha estudiado como alimento para ganado caprino y aviar. Sin embargo, no se utiliza comercialmente. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento de extracción en el rendimiento, características moleculares (evaluadas mediante espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier), carga superficial y tamaño de partícula, de fucoïdan extraído a partir de *Sargassum sinicola* del Golfo de California. El fucoïdan se obtuvo mediante el método ácido, comparándolo con un método ácido modificado a fin de obtener un compuesto más claro. Debido que este método de aclaramiento se ha probado para la extracción del alginato, que es el otro polisacárido obtenido a partir de las algas pardas, la hipótesis inicial fue que dicho tratamiento no afecta la estructura del fucoïdan.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Lugar, área de trabajo

El proyecto se desarrolló en el Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos Orientados a la Salud (CyTAOS), en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Coahuila (UAdeC) en Torreón, Coahuila, y en el Laboratorio de Función y Funcionalidad de Proteínas y Glicanos del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD) en Hermosillo, Sonora.

#### Recolección y preparación de las algas

Para la caracterización del sargazo y la extracción de fucoïdan, se realizaron seis colectas de *S. sinicola* en las costas sonorenses del Mar de Cortés. Los muestreos se llevaron a cabo en Bahía de Bacochibampo, San Pedro Nolasco y playa Estero del Soldado, durante los meses de junio de 2018 y 2019. Las algas se clasificaron, enjuagaron con agua dulce y se extendieron en un secador solar hasta que alcanzaron una humedad  $\leq$  a 4 %. Posteriormente, se tamizaron para eliminar impurezas, se molieron (Nbulet 900, Homeland Housewares, LLC, China) y se tamizaron nuevamente. La harina obtenida se envasó en recipientes plásticos a temperatura ambiente, hasta su posterior análisis.

#### Pretratamiento de harina de *S. sinicola* para la extracción de lípidos y pigmentos

Se mezcló harina de *S. sinicola* con etanol al 96 % en una relación de 1:10 (p/v). La mezcla se dejó en agitación (SP131325 Stirring Digital, Thermo Scientific USA) constante durante 16 h a 25°C. Posteriormente, los sólidos se separaron por decantación y se repitió la operación hasta que el etanol quedo claro. Los sólidos se extendieron en una superficie de vidrio secándose a temperatura ambiente antes de continuar con la extracción.

#### Extracción de fucoïdan

Para el Método A, se procedió como sigue. A la harina de alga se le añadió ácido clorhídrico 0.1 M en proporción 1:20 colocando la mezcla en baño María con agitación a 65°C durante 1h. Posteriormente se filtró a vacío agregando al NaOH 3 M gota a gota hasta pH neutro. El sobrenadante se ajustó a una concentración final de etanol de 70%, utilizando etanol al 96 %; se dejó precipitar a 6 °C durante 24 h, recuperando el precipitado por centrifugación a 3000 rpm durante 30 min, a 4 °C. (Sorvall ST 16R, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) . EL precipitado se resuspendió en agua deionizada, agregándole una solución de CaCl<sub>2</sub> 3 M hasta ajustar a una concentración de

CaCl<sub>2</sub> 2 M. La mezcla se dejó en constante durante 4 h a 25 °C; posteriormente se centrifugó a 3000 rpm durante 30 min a 4 °C. El sobrenadante se utilizó para extraer el fucoïdan, añadiéndole ácido tricloroacético en cristales hasta ajustar a una concentración de ácido del 10 % dejándolo en reposo a 25°C por 4 h para precipitar a las proteínas presentes, las cuales se separaron por centrifugación a 3000 rpm durante 30 min, a 25 °C. Al sobrenadante se le añadió etanol frío al 96 % dejándolo a 6 °C por 24 h para precipitar al fucoïdan. Después de obtenerlo por centrifugación (3000 rpm durante 30 min y 4 °C), se dejó secar a temperatura ambiente en un desecador herméticamente sellado. Para el método B se siguió el mismo procedimiento con la diferencia de que al sobrenadante de la extracción con HCl se le añadió formaldehído al 37 % hasta obtener una concentración final del 0.1 %, dejándolo en reposo durante 1 h a 50 °C y a continuación filtrando al vacío, antes de continuar con la primera adición de etanol (McHugh, 1987). Se realizaron un total de 10 extracciones independientes, para cada método.

### Rendimiento

El rendimiento del fucoïdan extraído por ambos métodos se obtuvo en base al peso de la muestra mediante la fórmula siguiente:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{peso del alginato seco}}{\text{peso del polisacárido seco}} * 100 \quad \text{Ec. (1)}$$

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

El análisis de los grupos funcionales del fucoïdan, se llevó a cabo mediante FTIR-ATR en un espectroscopio Cary 630 FTIR (Agilent, Santa Clara, CA, USA). Se utilizó un rango espectral de 4000 a 650 cm<sup>-1</sup> con una resolución de 4 cm<sup>-1</sup>. Los análisis se hicieron por triplicado graficando el promedio de las absorbancias obtenidas en cada réplica. Se utilizó el software SigmaPlot versión 11 para obtener los espectros los cuales fueron analizados en base a las absorbancias de los grupos funcionales presentes en polisacáridos y polisacáridos sulfatados.

### Dispersión dinámica de la luz (DLS)

El tamaño de la molécula de fucoïdan y el índice de dispersión del tamaño, se determinaron en un equipo Zetasizer Nano-ZS90 (Malvern Instrument Ltd., Worchestershire, UK) utilizando agua desionizada como diluyente. Se prepararon soluciones de 1 mg mL<sup>-1</sup>. Las mediciones se hicieron por triplicado con 100 lecturas para cada una de las réplicas. Antes de analizar cada muestra, se llevó a cabo una homogenización durante 3 min un en vórtex, para evitar la formación de agregados. La carga de la molécula se determinó también por DLS, utilizando el mismo equipo, programándolo para medir la potencial zeta. Las determinaciones se hicieron por triplicado

### Estimación del contenido de proteína

La concentración de proteínas en el fucoïdan se estimó mediante el método Bradford (1976), utilizando albúmina de suero bovino (BSA) como estándar. Los resultados se expresaron como mg de proteína/g de peso seco del polisacárido.

### Determinación de color y actividad de agua

Para la determinación del color del fucoïdan se obtuvo el parámetro L\* que indica luminosidad (0=negro, 100= blanco), Se utilizó un colorímetro Konica Minolta CR-400/410 (Minolta, Japón). Se

realizaron por lo menos tres mediciones para cada extracción. La actividad de agua ( $A_w$ ) se determinó con un medidor de  $A_w$  AQUALAB PAWKIT (España).

### Análisis estadístico

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

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El rendimiento de fucoídano extraído en base al peso del alga utilizada fue de  $3.4 \pm 0.58$  y  $4.2 \pm 1.45$  % para los métodos A y B respectivamente. El color del fucoídano obtenido en ambos métodos fue café claro el cual es característico de los aislados de fucoídano (Azeem *et al.*, 2017). No hubo diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) al determinar el parámetro  $L^*$  en los dos fucoídanos  $L^*$  ( $56.80 \pm 5.47$ ), indicando que el tratamiento de blanqueo no fue efectivo para este carbohidrato, mientras que el contenido de proteína fue de  $28.6 \pm 3.3$  y  $30.2 \pm 2.3$  mg de proteína /g de fucoídano para los fucoídanos obtenidos por el método 1 y el método 2, respectivamente. Estos contenidos son similares a los reportados por otros autores (Wang y Chen, 2016). La  $A_w$  fue de  $0.18 \pm 0.00$  y  $0.19 \pm 0.01$  para los fucoídanos de los métodos A y B, respectivamente, indicando que el polvo obtenido puede tener una larga vida de anaquel.

### Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier con Reflexión Total Atenuada (FTIR\_ATR)

La figura 1 muestra el espectro típico del fucoídano obtenido por el método 1. Se presentó una banda entre los 3000 y 3500  $\text{cm}^{-1}$  que se atribuye a los grupos OH, (muy abundantes en los polisacáridos, por ser de naturaleza polihidroxilica. El pico observado en valores cercanos a los 2900  $\text{cm}^{-1}$  se atribuye a grupos C-H. La huella dactilar de los carbohidratos se presenta en la región de 1800 a los 800  $\text{cm}^{-1}$ . La banda a 1600 a 1622  $\text{cm}^{-1}$  se asocia con el grupo C=O, de ácido urónico presente en pequeñas cantidades en el fucoídano. Las bandas entre 1418 y 1420  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyen a la vibración de tensión del grupo -COOH mientras que la señal característica de los polisacáridos sulfatados y debida a los grupos S=O, se presentó alrededor de los 1220  $\text{cm}^{-1}$ , esta es una prueba de lo que se extrajo es fucoídano ya que el alginato no está sulfatado. La señal cercana a los 1000  $\text{cm}^{-1}$  se atribuye a los enlaces glucosídicos típicos de los polisacáridos. La vibración de flexión del enlace C-O-S quedó registrada entre los 820 y los 840  $\text{cm}^{-1}$ , esto sugiere que los grupos sulfato se encuentran mayoritariamente en los C4 y C2 de la fucosa (Zou *et al.*, 2021).



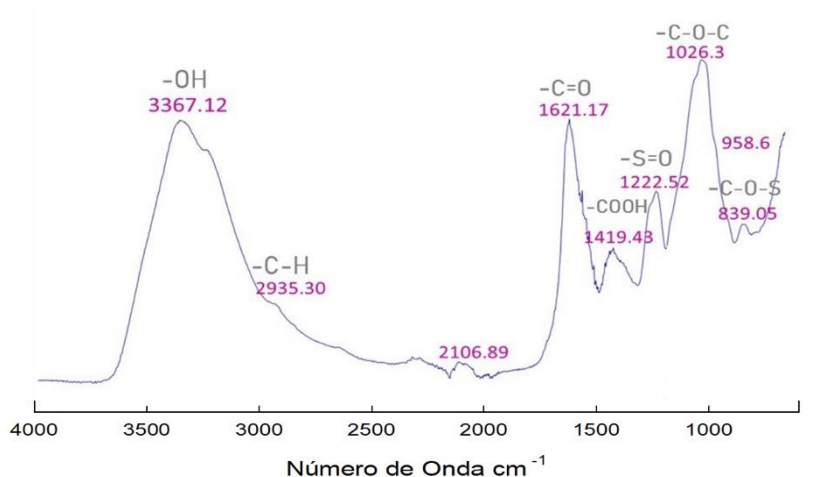


Figura 1. Espectro FTIR-ATR típico de fucoídano de *S. sinicola* extraído por el método 1.

La Figura 2 muestra el espectro del fucoídano obtenido en este trabajo mediante en método 1 con el espectro del fucoídano de *Sargassum bindieri* obtenido por Saepudin *et al.* (2017); se puede observar que ambos presentan el mismo patrón, aunque con diferencias principales en los grados de sulfatación. Esto confirma que lo que se extrajo fue fucoídano.

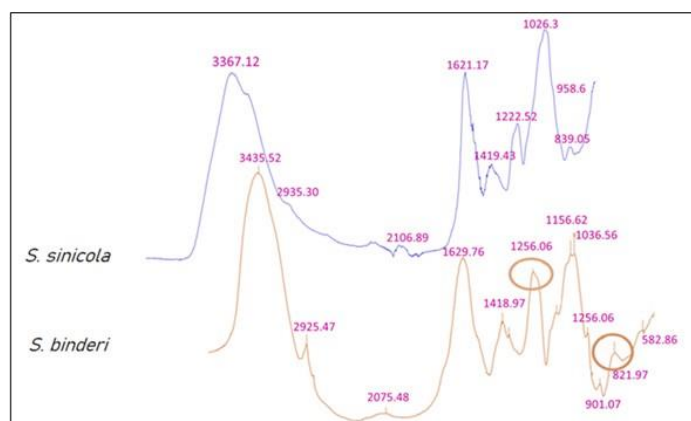


Figura 1. Comparación de espectros FTIR-ATR de *S. sinicola* y *S. bindieri*.

En la figura 3. Se muestran los espectros de varias extracciones de fucoídano obtenido por el método 2. Lo que resulta más notable al compararlos con la figura 1 es la desaparición del pico correspondiente a los grupos S=O lo que puede estar indicando una desulfatación del fucoídano, ya que el pico correspondiente a los C-O-S (820  $\text{cm}^{-1}$ ) si aparece. Los picos asignados a los enlaces carboxílicos también disminuyeron indicando que la presencia del formaldehído pudo haber afectado a la estructura del fucoídano.

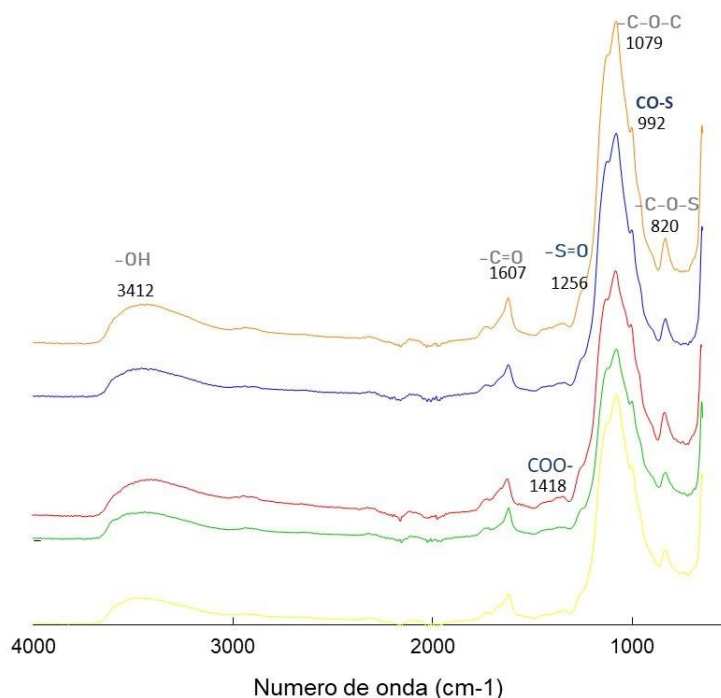


Figura 3. Espectros FTIR-ATR de las extracciones de fucoidan utilizando el método 2.

La molécula de fucoidan extraída de *S. sinicola* por el método 1, presentó una carga de  $-18.3 \pm 0.25$  mv. En contraste, la molécula obtenida por el método 2 fue muy heterogénea presentando cargas superficiales de  $-9.81 \pm 0.85$  (Figura 4). Esto es un indicio de que la molécula pudo de desulfatarse durante la obtención. El índice de polidispersidad del fucoidan obtenido por el primer método fue de 0.45 mientras que el del método 2 fue de 0.9. El índice de polidispersidad indica la diversidad de poblaciones de diferentes tamaños presentes en una muestra, es una medida adimensional cuyo valor máximo es 1. Por tanto, las poblaciones de moléculas con diferentes tamaños presentes en el fucoidan extraído mediante el método dos fueron mayores que las del método siendo un indicativo indirecto de que pudo haberse presentado degradación de la molécula debida a la presencia del formaldehído.

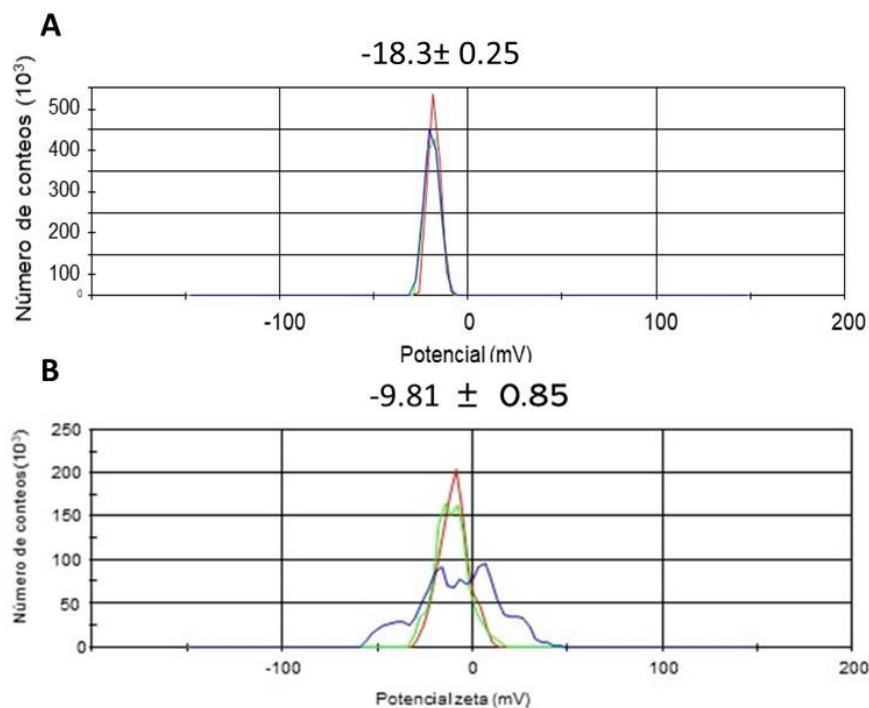


Figura 4. Carga superficial de la molécula de fucoidan a) Método 1; b) Método 2

## CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos sugieren que el método de blanqueo utilizando formaldehído no es efectivo para aclarar el color del fucoidan y puede afectar su estructura, particularmente su grado de sulfatación, el cual está ligado a algunas de sus actividades biológicas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Casas-Valdez, M., Sánchez-Rodríguez, I., Serviere-Zaragoza, E., & Aguila-Ramírez, R. N. (2016). Temporal changes in the biomass and distribution of *Sargassum* beds along the southeastern coast of the Baja California Peninsula. *Ciencias marinas*, *42*(2), 99-109.
- Deniaud-Bouët, E., Hardouin, K., Potin, P., Kloareg, B., & Hervé, C. (2017). A review about brown algal cell walls and fucose-containing sulfated polysaccharides: Cell wall context, biomedical properties and key research challenges. *Carbohydrate Polymers*, *175*, 395-408.
- Dobrinčić, A., Balbino, S., Zorić, Z., Pedisić, S., Bursać Kovačević, D., Elez Garofulić, I., & Dragović-Uzelac, V. (2020). Advanced technologies for the extraction of marine brown algal polysaccharides. *Marine drugs*, *18*(3), 168. doi:10.3390/md180301.
- Fernando, I. S., Kim, D., Nah, J. W., & Jeon, Y. J. (2019). Advances in functionalizing fucoidans and alginates (bio) polymers by structural modifications: A review. *Chemical Engineering Journal*, *355*, 33-48.
- Flórez-Fernández, N., Torres, M. D., González-Muñoz, M. J., & Domínguez, H. (2018). Potential of intensification techniques for the extraction and depolymerization of fucoidan. *Algal research*, *30*, 128-148.
- Li, B., Lu, F., Wei, X., & Zhao, R. (2008). Fucoidan: structure and bioactivity. *Molecules*, *13*(8), 1671-1695.

- Lim, S. J., & Aida, W. M. W. (2017). Extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from brown seaweed. In *Seaweed Polysaccharides* (pp. 27-46). Elsevier.
- Saepudin, E., Sinurat, E., & Suryabrata, I. (2017). Depigmentation and Characterization of Fucoidan from Brown Seaweed *Sargassum binderi* Sonder. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 299, 012027. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/299/1/012027>
- McHugh, D. J. (1987). Production, properties and uses of alginates. *Production and Utilization of Products from Commercial Seaweeds. FAO. Fish. Tech. Pap*, 288, 58-115.
- Norris, J. N. (2010). Marine algae of the northern Gulf of California: Chlorophyta and Phaeophyceae. *Smithsonian contributions to botany*. 210-213.
- Wang, Y., Xing, M., Cao, Q., Ji, A., Liang, H., & Song, S. (2019). Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: A review of recent studies. *Marine Drugs*, 17(3), 183.
- Zou, P., Yang, X., Yuan, Y., Jing, C., Cao, J., Wang, Y., & Li, Y. (2021). Purification and characterization of a fucoidan from the brown algae *Macrocystis pyrifera* and the activity of enhancing salt-stress tolerance of wheat seedlings. *Int J Biol Macromol*, 180, 547-558.

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

Carrillo-Vargas L.<sup>ab\*</sup> Caraveo Enríquez V.<sup>b</sup>, Galván Calamaco Z.<sup>a</sup>, Vargas González G.<sup>a</sup> Ramírez Moreno A.<sup>a</sup>, Guzmán Partida. A.M.<sup>c</sup>, Ramos Clamont Montfort G.<sup>c</sup>

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

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

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

\* [gramos@ciad.mx](mailto:gramos@ciad.mx).

### RESUMEN

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

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

### ABSTRACT

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

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

## INTRODUCCIÓN

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

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

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

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

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recolección y preparación de vainas de *C. siliqua*

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

### Composición nutricia

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

### Actividad de agua y análisis de color

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

### Contenido de fenoles

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

### Actividad antioxidante

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

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

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

### Análisis microbiológico

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

### Análisis estadístico

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

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Composición nutricia de las harinas

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

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

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

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

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



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

### **Actividad de agua y análisis de color**

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

### **Contenido de fenoles y actividad antioxidante**

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

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

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

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

### Análisis Microbiológico

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

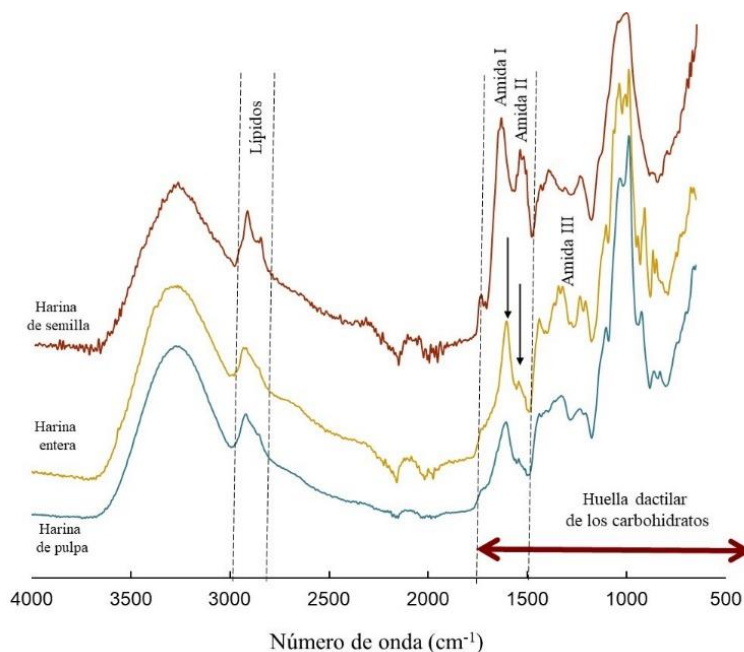


Figura 1. Comparación de los espectros FTIR-ATR de harinas de pulpa, vaina entera y semilla de *C. silicua*.

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

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

Los análisis se realizaron por duplicado

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

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

Los análisis se realizaron por duplicado

## CONCLUSIÓN

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

## BIBLIOGRAFÍA

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

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

## Revisión sobre las características biológicas y estructurales de fucoïdan y la posibilidad de extraerlo a partir de *Sargassum sinicola*

Ailin Robles López Cuéllar<sup>1</sup>, Gabriela Ramos Clamont Montfort<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Sonora. Departamento de Ciencias Químico Biológica. Blvd. Luis Encinas J, Calle Av. Rosales &, Centro, 83000 Hermosillo, Sonora, México.

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Coordinación de Ciencia de los Alimentos. Laboratorio de Función y Funcionalidad de Proteínas y Glicanos. Carretera Gustavo Enrique Astiazarán No 46, Colonia la Victoria. C.P. 83304. Hermosillo, Sonora, México.

\* [gramos@ciad.mx](mailto:gramos@ciad.mx)

### RESUMEN

En los últimos años ha aumentado el interés por el aislamiento de bioactivos marinos con gran potencial para el desarrollo de productos nutracéuticos y de alimentos funcionales. En este sentido las algas cafés y en particular los sargazos son fuente importante de antioxidantes, vitaminas, antiinflamatorios y en particular de un polisacárido sulfatado conocido con el nombre de fucoïdan. Debido a su composición química el fucoïdan presenta diversas bioactividades beneficiosas a la salud humana, tales como anticancerígenas, moduladoras del sistema inmune, antiinflamatorias, prebióticas y anticoagulantes. Además, el fucoïdan tiene potencial para el encapsulamiento y liberación de fármacos y bioactivos y en biorremediación de cuerpos de agua. Debido a dichas aplicaciones, en México, ha habido un reciente interés en el desarrollo de un proceso de extracción de fucoïdan. En este trabajo se revisa la biología del fucoïdan y sus bioactividades, los métodos usados para su extracción, además se incluye la ingeniería básica para la extracción de fucoïdan a nivel de laboratorio a partir del alga *Sargassum sinicola* presente en mares mexicanos.

**Palabras clave:** algas cafés, fucoïdan, bioactividad, extracción, balance de materia

### ABSTRACT

In recent years, interest has increased in the isolation of marine bioactives with great potential for the development of nutraceutical products and functional foods. In this sense, brown algae and in particular sargassum are an important source of antioxidants, vitamins, anti-inflammatories and, in particular, a sulfated polysaccharide known by the name of fucoïdan. Due to its chemical composition, fucoïdan has various beneficial bioactivities for human health, such as anticancer, immune system modulator, anti-inflammatory, prebiotic and anticoagulant. In addition, fucoïdan has potential for the encapsulation and release of drugs and bioactivities and in bioremediation of water bodies. Due to these applications, in Mexico, there has been a recent interest in the development of a fucoïdan extraction process. This paper reviews the biology of fucoïdan, its bioactivities, the methods used for its extraction, and basic engineering for the extraction of fucoïdan at the laboratory level from the algae *Sargassum sinicola* present in Mexican seas.

**Keywords:** brown algae, fucoïdan, bioactivity, extraction, material balance

## INTRODUCCIÓN

El fucoidan es un polisacárido sulfatado que se encuentra en la pared celular de algas pardas. Se compone principalmente de L-fucosa, unida mediante enlaces  $\alpha$  1-3,  $\alpha$  1-4 y  $\alpha$  1-2, algunos de los cuales se encuentran sulfatados. Debido a ello, el fucoidan presenta una carga negativa, que le permite interactuar con muchas moléculas. Además de la fucosa, el fucoidan puede presentar pequeñas cantidades de otros monosacáridos como galactosa, xilosa, glucosa y manosa (Ale *et al.*, 2011; H. Hsu & Hwang, 2019).

Existe mucho interés en el uso de fucoidan debido a sus amplias propiedades y efectos terapéuticos prometedores. Por ejemplo, *in vitro* y en animales de laboratorio, se han demostrado las siguientes bioactividades o propiedades: antioxidante, antiinflamatorio, antifúngico, anti angiogénico, antitumoral, antiviral, antitrombótico, anticoagulante e inmunorregulador; y también se han utilizado, en la protección cognitiva y como agente anti-hiperglucémica. Además, el fucoidan tiene amplio potencial de ser utilizado en la industria cosmética como antioxidante y antienvjecimiento. Otro dato importante es que las poblaciones asiáticas que consumen algas cafés presentan menor incidencia al cáncer y esto se atribuye a la presencia del fucoidan (Desrochers *et al.*, 2020). Por ello, este compuesto se comercializa actualmente como suplemento alimenticio y tiene un amplio potencial de uso como nutraceutico y para el desarrollo de alimentos funcionales

La composición del fucoidan de las algas pardas depende de la especie y sus características de carga superficial y masa molecular y grado de sulfatación, están influidas, además de la especie, por el método de extracción (Ale *et al.*, 2011). En general, los métodos de extracción más utilizados son el acuoso y la extracción ácida, aunque se están desarrollando métodos cada vez más innovadores como las extracciones asistidas por microondas, ultrasonido y la extracción supercrítica. Sin embargo, para una pequeña planta piloto a nivel laboratorio, puede iniciarse con un método convencional e ir mejorando el método de extracción posteriormente. Este trabajo revisa las propiedades del fucoidan y sus métodos de obtención, llevando a cabo un diseño básico de laboratorio para una planta piloto de fucoidan obtenido a partir de *S. sinicola*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Principales fuentes naturales y estructura del fucoidan

El fucoidan es un polisacárido sulfatado presente en la pared celular y en la matriz extracelular de las algas cafés. También se encuentra en invertebrados marinos como el pepino de mar y el erizo de mar (Wang *et al.*, 2020). La estructura química del fucoidan está compuesta principalmente por una columna vertebral de residuos de  $\alpha$ -L-fucopiranososa (1  $\rightarrow$  3) y (1  $\rightarrow$  4), que pueden estar organizados en tramos de (1  $\rightarrow$  3)- $\alpha$ -fucano o de residuos de L-fucopiranososa unidos a  $\alpha$ (1  $\rightarrow$  3) y  $\alpha$ (1  $\rightarrow$  4) alternados, polimerizada con grupos éster sulfatados y residuos de d-galactosa, d-glucosa, d-manosa, d-xilosa y ácido glucurónico en menor cantidad (Ale *et al.*, 2011; Hsu & Hwang, 2019). También contiene proteínas, calcio, cobre, magnesio, manganeso, potasio, selenio, sodio, zinc, entre otros minerales ( Hsu & Hwang, 2019). Sin embargo, la composición química y estructura de la molécula de fucoidan varía entre especies de algas cafés dificultando la determinación de una molécula en conjunto (Li *et al.*, 2008). Otros factores que influyen en la estructura química del fucoidan son la temporada de cosecha, el método de purificación, el nivel de madurez, ubicación geográfica y clima (Langkawi *et al.*, 2018). En la Tabla 1 se presentan algunos ejemplos de las diferencias en la composición química del fucoidan según la especie de alga.

**Tabla I.** Composición química de fucoidan de diferentes especies de algas cafés

Especie	Composición
---------	-------------

<i>Himanthalia lorea</i>	Fucosa, xilosa, ácido urónico, sulfato.
<i>Ascophyllum nodosum</i>	Fucosa, xilosa, galactosa, glucosa, sulfato.
<i>Sargassum stenophyllum</i>	Fucosa, xilosa, manosa, galactosa, glucosa, sulfato y ácido urónico.
<i>Sargassum linifolium</i>	Residuos de manosa, galactosa, xilosa, ácido urónico y fucosa.
<i>Fucus evanescens; Fucus distichus</i>	Fucosa, xilosa, galactosa, ácido urónico y sulfato.
<i>Hizikia fusiforme</i>	Fucosa, manosa, galactosa, xilosa, glucosa, ramnosa, arabinosa, ácido urónico y sulfato.
<i>Fucus vesiculosus; Fucus spiralis</i>	Fucosa, xilosa, manosa, glucosa, galactosa, ácido urónico y sulfato.
<i>Ascophyllum nodosum</i>	Fucosa, xilosa, manosa, glucosa, galactosa, ácido urónico y sulfato.

Fuente: Ale *et al.* (2011).

### Bioactividades del fucoïdan

El fucoïdan presenta varias bioactividades como son anticoagulantes, antitrombóticas, antiviruses, anticancerígenas, antiinflamatorias, y propiedades inmunomoduladores, reductoras de lípidos en sangre, antioxidantes. Además presenta actividad contra la hepatopatía, uropatía y renalpatía, efectos protectores gástricos y potencial terapéutico en cirugía (Li *et al.*, 2008). A continuación, se analizan algunas de las bioactividades más estudiadas.

### Actividad Anticancerígena

Se ha demostrado que el fucoïdan inhibe la proliferación de células cancerosas al inducir la detención del ciclo celular, induciendo la apoptosis, regulando las moléculas de señalización de crecimiento e inhibiendo la metástasis y la angiogénesis (Brown *et al.*, 2014; Senthilkumar *et al.*, 2013). Algunos estudios se mencionan en la tabla 3.

Las células tumorales disociadas cruzan la matriz celular dando como resultado la intravasación. Esto implica la diseminación de células tumorales a órganos distantes a través de vasos sanguíneos o linfáticos y también parte de los procesos de metástasis (Hsu *et al.*, 2020). Debido a que la molécula de fucoïdan presenta similitudes estructurales con la heparina, disminuye la expresión y la actividad de las metaloproteinasas de la matriz, lo que hace que las células tumorales no puedan atravesar la pared capilar (Atashrazm *et al.*, 2015; Chandía & Matsuhiro, 2008). Así, el fucoïdan de *Laminaria japonica* inhibe los procesos de micrometástasis en un modelo de pez cebra *in vivo* (Hsu *et al.*, 2020). Otra acción del fucoïdan es que reduce los efectos de la quimioterapia (Ikeguchi *et al.*, 2011).

En general los experimentos *in vivo* en ratones han demostrado que la fuente, la dosis, la frecuencia y vía de administración del fucoïdan conducen a diferentes actividades anticancerígenas. Estos estudios *in vivo* han considerado varios métodos de administración; por ejemplo, inyecciones intraperitoneales, la adición del fucoïdan en alimentos, alimentación por sonda, inyección subcutánea o intravenosa. La vía de administración seleccionada tiene un efecto específico en la concentración y tasa metabólica de fucoïdan en el cuerpo; por lo que se presentan diferentes efectos en la aparición y desarrollo de tumores (Lin *et al.*, 2020). Debido a la actividad anticancerígena del fucoïdan, esta molécula es candidata para desarrollar alimentos y fármacos funcionales, así como para sus aplicaciones nanotecnológicas para el tratamiento del cáncer y sinergismo con quimioterapias. En la Tabla II podemos observar que los fucoïdanes más estudiados son los provenientes de *Fucus vesiculosus* y *Laminaria japonica*.

**Tabla II.** Listado de algunos fucooidanes aislados de especies marinas de algas cafés y tipo de cáncer al que se aplicó

<b>Especie</b>	<b>Tipo de cáncer</b>
<i>Fucus vesiculosus</i>	Linfoma (células HS-Sultan); Leucemia (células HL-60 y THP-1); Pulmón (células A549); Leucemia aguda ( <i>in vitro</i> ); Linfoma ( <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> ); Cáncer oral ( <i>in vitro</i> ); Cáncer de pulmón ( <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> ); Cáncer de mama ( <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> ); Cáncer de estómago ( <i>in vitro</i> ); Carcinoma hepatocelular ( <i>in vitro</i> )
<i>Cladosiphon novae-caledoniae</i>	Mama (MDA-MB-231)
<i>Saccharina japonica</i>	Vejiga (T-47D)
<i>Saccharina cichorioides</i>	Carcinoma colorrectal ( <i>in vitro</i> )
<i>Undaria pinnatifida</i>	Melanoma (SK-MEL-28) Cáncer de próstata
<i>Cladosiphon okamuranus</i>	Hígado (línea celular Huh7 y HepG2)
<i>Laminaria japonica</i>	Carcinoma nasofaríngeo ( <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> ); Cáncer de pulmón ( <i>in vitro</i> , <i>in vitro</i> y humano); Cáncer de mama ( <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> )
<i>Turbinaria conoides</i>	Cáncer de pulmón ( <i>in vitro</i> )
<i>Cladosiphon okamuranus tokida</i>	Hepatoblastoma ( <i>in vitro</i> ) Colangiocarcinoma ( <i>in vitro</i> )

Adaptado de Brown *et al.* (2014) y H. Hsu & Hwang (2019).

### Actividades prebiótica y antiinflamatoria

El efecto prebiótico se define como la capacidad de un compuesto para estimular el crecimiento del microbiota benéfica del aparato digestivo. En un principio este término se aplicaba únicamente a carbohidratos no digeribles, principalmente fibras solubles. Posteriormente fueron incluidos otros compuestos como algunos ácidos grasos poliinsaturados (CLA) y antioxidantes como los polifenoles (Gibson *et al.*, 2017). En este sentido existen estudios que prueban que los microbiomas orales, y digestivos pueden ser modulados por el fucooidan, produciendo cambios favorables. En el caso del microbioma oral el efecto observado al suministrar fucooidan resulta más de índole antimicrobiana que prebiótica. Se ha observado que el fucooidan inhibe la formación biopelículas (placa dental) y la adhesión de *Streptococcus mutans* a los dientes (Jun *et al.*, 2018; Oka *et al.*, 2020). Además, mejora notablemente la estomatitis aftosa recurrente, la lengua inflamada sintomática y el herpes labial oral recurrente (Oka *et al.*, 2020). Estos resultados son prometedores para la inclusión del fucooidan en productos dentales.

La influencia del fucooidan en el microbiota intestinal se ha determinado principalmente en modelos murinos (ratas, ratones) donde el resultado ha sido muy variable. Esto dificulta concluir si es beneficioso o no. Aunque en varios estudios se ha observado el aumento de Bifidobacterias, es importante realizar estudios sobre la promoción de crecimiento de bacterias intestinales que liberan sulfato y otros estudios relacionados al aprovechamiento del fucooidan por diferentes bacterias para asegurar que no promueve el crecimiento de alguna bacteria potencialmente dañina (Gotteland *et al.*, 2020).

El fucooidan tiene la capacidad de actuar como antiinflamatorio al presentar acciones terapéuticas sobre factores de transcripción, antioxidantes, metaloproteinasas de matriz, moléculas de adhesión y



otras propiedades. Por ejemplo, regula la expresión génica relacionada con la inflamación y las actividades enzimáticas proinflamatorias (Saeed *et al.*, 2021). Es importante resaltar que los efectos dependerán de la estructura molecular del fucoïdan utilizado y, consecuentemente, del alga de donde se haya extraído, incluyendo, además, el método de extracción. Todos estos factores producen variaciones en el efecto; de allí la importancia de realizar estudios precisos sobre la estructura del fucoïdan que se está estudiando a fin de aprovechar esta actividad antiinflamatoria del fucoïdan, en el desarrollo de alimentos funcionales o en la producción de nutraceúticos

### **Actividad Anticoagulante**

Una de las opciones de tratamiento para enfermedades que pueden producir trombosis es la administración de anticoagulante. En este sentido la heparina es uno de los anticoagulantes intravenosos más utilizados debido a sus propiedades polianiónicas únicas. Sin embargo, su uso prolongado puede tener efectos secundarios como el producir hemorragias. Por tanto, se necesitan fármacos alternativos con menos efectos secundarios y se están desarrollando anticoagulantes más seguros y eficaces (Moll & Roberts, 2002). El fucoïdan al ser sulfatado, también es un compuesto polianiónico; además, su estructura presenta cierta similitud con la de la heparina (Motta & Sofía, 2013).

Algunos estudios demuestran que el fucoïdan y sus derivados pueden prolongar el tiempo de tromboplastina parcial y el tiempo de trombina al intervenir en la cascada de coagulación. (Ustyuzhanina *et al.*, 2013). La evidencia indica que la actividad anticoagulante del fucoïdan depende en gran medida de su masa molecular (Mw), grado de sulfatación, patrón de sulfatación, relación sulfato/azúcar total y ramificación de glucósidos. En este sentido se ha observado que el fucoïdan de baja Mw es más efectivo (Chandía & Matsuhira, 2008). Por ello, es importante caracterizar las estructuras de los diferentes fucoïdanes y probar su actividad anticoagulante. A pesar de que hacen falta más estudios, el fucoïdan se muestra prometedor como un anticoagulante nuevo, eficaz y no tóxico, con menos efectos secundarios.

### **Aplicaciones nanotecnológicas para la liberación de fármacos y bioactivos**

Debido a su naturaleza aniónica el fucoïdan juega un papel importante en el diseño de varias formas de dosificación de fármacos especialmente nanopartículas, micropartículas, películas o hidrogeles que puedan utilizarse para el encapsulamiento de fármacos y su posterior liberación en el sitio donde se requieren (Citkowska *et al.*, 2019). La carga negativa del fucoïdan le permite establecer interacciones con otras moléculas cargadas positivamente. Por ejemplo, el fucoïdan se combina con el quitosano, otro polisacárido de carga opuesta, y se estudia actualmente para el desarrollo de una variedad de apósitos que permitan la migración controlada de moléculas funcionales (fármacos) al sitio de la herida para ayudar al proceso de curación (Benbow *et al.*, 2017).

Por otro lado, se estudian aplicaciones del fucoïdan para la síntesis de nanopartículas transportadoras de bioactivos para mejorar su absorción intestinal. Un ejemplo es la curcumina, también conocida como azafrán indio, cuyos efectos antiinflamatorios han sido ampliamente documentados. Huang *et al.* sintetizaron nanopartículas sensibles al pH para la administración oral de curcumina (CUR), que se caracteriza por una biodisponibilidad limitada debido a su escasa solubilidad y sensibilidad a las condiciones ambientales del tracto gastrointestinal. Mientras que a pH 1.2 se inhibió la liberación de CUR, a pH 7.0 se observó un aumento significativo en la liberación del fármaco. Estas nanopartículas pueden considerarse un portador que permite la administración oral de CUR, brinda protección contra la degradación en el estómago y una biodisponibilidad adecuada después de la absorción en el intestino (Huang & Lam, 2011). Este mismo proceso puede utilizarse para suministrar por vía oral antibióticos muy insolubles en agua o hidrófobos, por vía oral. La ventaja es que regularmente estos

antibióticos no se suministran por esta vía y por ello la posibilidad de que las bacterias gastrointestinales hayan creado resistencia contra ellos es muy poca. La otra ventaja es que se suministran dosis más pequeñas de antibióticos y por tanto los efectos adversos son menores

### **Fuentes de producción comercial de fucoidan y países productores**

La fuente comercial para la extracción de fucoidan son las algas pardas o cafés pertenecientes a los ordenes Fucales y Laminariales. Entre las especies más explotadas se encuentran *Fucus vesiculosus*, *Laminaria digitata*, *Fucus evanescens*, *Fucus serratus*, *Ascophyllum nodosum*, *Pelvetia canaliculata*, *Cladosiphon okamuranus*, *Laminaria japonica*, *Sargassum horneri*, *Nemacystus decipiens*, *Padina gymnospora*, *Laminaria japonica*, *Undaria pinnatifida* y *Macrocystis pyrifera* (Luthuli *et al.*, 2019; Zayed & Ulber, 2020).

Los principales países productores de fucoidan son los asiáticos (Japón, Corea del Norte, China, Taiwán y Singapur). Las principales compañías productoras de fucoidan en el mundo son Kanehite (Okinawa, Japón), Kamerycah (Singapur), Takara (Shiga, Japón), Yaizu Suisankagaku (Japón), FMC (Filadelfia, USA), Nature's BioScience Fucoïdan Force (San Francisco CA, USA), Seaherb Co. LTS (Corea), Haerim Fucoïdan (Corea), Marinova (Tasmania, Australia), FucoHiQ (Taiwán), y Qingdao Rongde Seaweed Co LTD (China). Otras compañías son Alginor (Noruega), BASF (Noruega) (Winmarker Research, 2021). El mercado global de Fucoïdan se valoró en US\$ 32 millones en 2019 y se espera que alcance los US\$ 41 millones a fines de 2026, creciendo a una CAGR del 3.4 % durante 2021-2026. Asia es la región de mayor consumo. En 2017 consumió 6751 kg de fucoidan. China y Japón son, por separado, el primer y segundo país de mayor consumo de Asia. En 2017, China consumió el 38,54 % del fucoidan total de Asia. Estados Unidos es otro país de gran consumo a nivel mundial. En 2017, EE. UU. consumió 5248 Kg de fucoidan, lo que representa una participación del 36.32%.

### **Posibilidad de producir fucoidan a partir del género *Sargassum* spp**

La familia Sargassaceae comprende 512 especies, con 26 de ellas estudiadas en lo que se refiere a fucoidanes (Ponce & Stortz, 2020). Los contenidos de fucoidan reportados para *Sargassum* se encuentran entre 1.2 y 6.31% dependiendo de la especie, el método de obtención y la época del año (Skriptsova, 2016). Aunque existen grandes cantidades de sargazo disponibles, su uso está limitado. Por ejemplo, en Vietnam se estima una producción anual de 4000 toneladas de sargazo en peso seco, de las que se utilizan entre 300 y 500 toneladas / año (peso seco), para la fabricación de alginato en unidades a pequeña escala y de fertilizante para el cultivo de cebolla, ajo, chiles y papa (Bui *et al.*, 2007).

En México, el sargazo se encuentra en todas sus costas. Por ejemplo, se estima que en la costa oeste del Golfo de California pueden llegar a cosecharse 183 000 toneladas (peso húmedo/año) (Pacheco-Ruíz *et al.*, 1998). Por otro lado, desde 2011 se ha presentado el fenómeno de la llegada periódica de sargazo pelágico a las costas del Caribe. En particular, el Caribe Mexicano, tiene un litoral de alrededor de 800 km, el cual ha recibido volúmenes promedio anuales de sargazo de  $3.2 \times 10^3$  y  $1.7 \times 10^3$  m<sup>3</sup>/km/mes en los años pico, 2018 y 2019, respectivamente, con consecuencias sociales y económicas que han afectado en particular a la industria turística (Chávez *et al.*, 2020). Estos flujos masivos de algas pueden verse como una oportunidad para desarrollar productos de valor agregado o para obtener bioactivos como el fucoidan (Desrochers *et al.*, 2020), estiman que a partir de una tonelada de sargazo fresco pueden llegar a producirse 10 kg de fucoidan. Si este se produce en conjunto con alginato, el aprovechamiento puede ser mayor. El Consejo Nacional de Ciencia y

Tecnología de México (CONACyT) apoyó a una pequeña industria en Jalisco, denominada Creamos Más S.A. de C.V. (Creamos Más 2020) para la obtención de fucoidan.

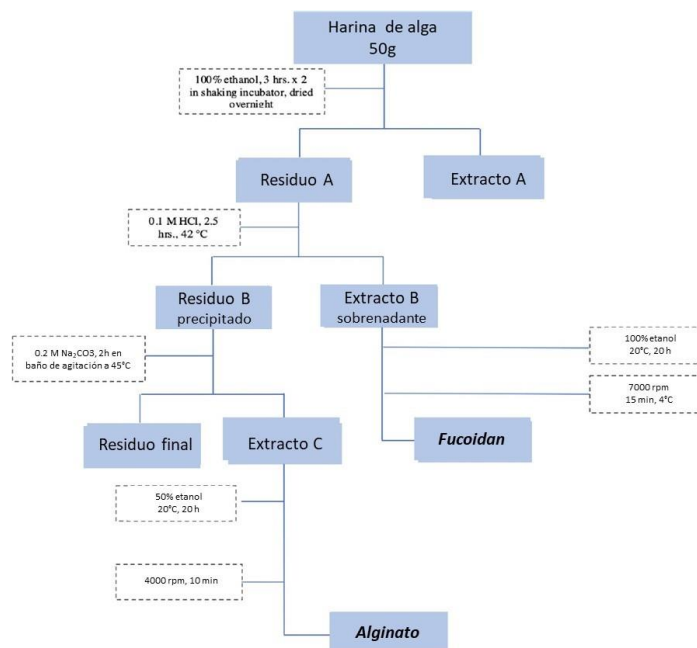
### **Obtención de fucoidan de *Sargassum sinicola* a nivel laboratorio**

Uno de los procesos de laboratorio que se ha estudiado ampliamente para obtener fucoidan a partir de *S. sinicola* se presenta en la Figura 1. Las muestras de alga seca y molida (10 g) se extraen primero dos veces con 100 mL de etanol anhidro y se agitan constantemente en una incubadora de agitación durante 3 h a temperatura ambiente para eliminar proteínas y otros componentes indeseables. Posteriormente filtran al vacío y se secan durante 12-16 a 42 ° C. Todas las muestras se pesan para obtener un peso seco.

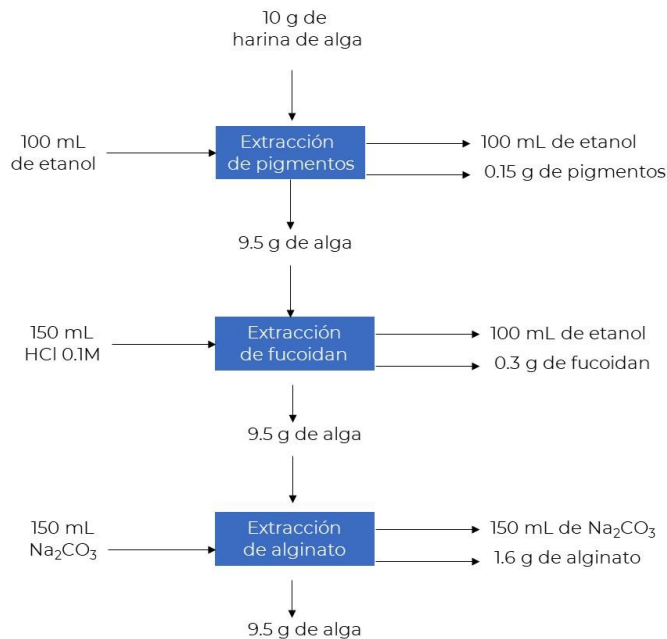
El extracto (Extracto A; pigmentos y lípidos) se almacena para su posterior estudio o se desecha, mientras que a la harina de alga residual (Residuo A) se le añaden 150 mL de una solución de HCl 0.1, incubando en agitación durante 2.5 h a 42 ° C para extraer los compuestos. Al término de este tiempo la mezcla se coloca inmediatamente en un baño de hielo y se neutraliza gota a gota con NaOH 2M. Posteriormente se centrifuga transfiriendo el sobrenadante (Extracto B) a matraces Erlenmeyer de 500 ml, pudiéndose almacenar en un congelador a -40 ° C para su uso posterior o utilizar inmediatamente.

Una vez descongelado, se agregan de 2 a 3 volúmenes de etanol al 96% al extracto (Extracto B) dejando precipitar los polisacáridos durante 24 h a 4 ° C. Se centrifuga a 7.000 rpm, 15 min, 4 ° C, se lava dos veces con una solución de etanol al 70%. El extracto final rico en fucoidan se obtiene posteriormente mediante liofilización. El proceso puede optimizarse obteniendo alginato a partir del Residuo B.

El precipitado (residuo B) se transfiere a Erlenmeyer de 250 mL y se le añaden 150 mL de una solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> de 0.2 m. La mezcla se coloca en una incubadora de agitación de 45 ° C durante 2 h para extraer el alginato. Después de la extracción, la mezcla se transfiere a un Erlenmeyer de 1 L y se diluye con agua desionizada a un volumen total de 600 mL. Los residuos finales de algas marinas (Residuo Final) se eliminan mediante centrifugación a baja velocidad (4.000 rpm, 10 min), se secan para registrar el peso. Al extracto C se le añade un volumen de etanol al 96% en un frasco de vidrio de 1 L y se deja precipitar los alginatos durante la noche a 4 ° C. Los precipitados se recolectan luego a través de métodos de centrifugación, se lavan dos veces con etanol al 50% y se liofilizaron durante 3 días. Los pesos secos finales de alginato se obtuvieron posteriormente después de secar.



**Figura 1.** Diagrama de flujo de la obtención de fucoïdan en el laboratorio



**Figura 2.** Balance de materia general para el proceso de extracción de fucoïdan en el laboratorio

Para escalar el proceso a nivel planta piloto de laboratorio se puede considerar una eficiencia del 90%. De tal manera que a partir del procesamiento de 500 g de harina de *S. sinicola* de alga se pueden obtener 13.5 g de fucoïdan y 72 g de alginato por lote.

## CONCLUSIÓN

El fucoidan presenta diferentes actividades biológicas que pueden aprovecharse para el desarrollo de nutraceuticos y de alimentos funcionales. Sin embargo, muchas de estas actividades dependen de la estructura de esta molécula, la cual puede variar dependiendo de la especie y del método de extracción, por lo que es importante realizar caracterizaciones estructurales más exactas. Una de las especies que puede aprovecharse para la obtención de fucoidan en México es *Sargassum sinicola*; para obtener procesos comercialmente eficientes, es recomendable extraer fucoidan y alginato al mismo tiempo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ale, M. T., Mikkelsen, J. D., & Meyer, A. S. (2011). Important determinants for fucoidan bioactivity: A critical review of structure-function relations and extraction methods for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds. *Marine Drugs*, 9(10), 2106–2130.
- Atashrazm, F., Lowenthal, R. M., Woods, G. M., Holloway, A. F., & Dickinson, J. L. (2015). Fucoidan and cancer: A multifunctional molecule with anti-tumor potential. *Marine Drugs*, 13(4), 2327–2346.
- Benbow, N. L., Webber, J. L., Karpinić, S., Krasowska, M., Ferri, J. K., & Beattie, D. A. (2017). The influence of polyanion molecular weight on polyelectrolyte multilayers at surfaces: Protein adsorption and protein-polysaccharide complexation/stripping on natural polysaccharide films on solid supports. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 19(35), 23790–23801.
- Brown, E. M., Allsopp, P. J., Magee, P. J., Gill, C. I., Nitecki, S., Strain, C. R., & Mccorley, E. M. (2014). Seaweed and human health. *Nutrition Reviews*, 72(3), 205–216.
- Bui, L. M., Ngo, B. Q., Nguyen, N. D., Pham, T. D., & Tran, V. T. T. (2007). Studies on Fucoidan and its Production from Vietnamese Brown Seaweeds. *ASEAN Journal on Science and Technology for Development*, 22(4), 371–380.
- Chandía, N. P., & Matsuhiro, B. (2008). Characterization of a fucoidan from *Lessonia vadosa* (Phaeophyta) and its anticoagulant and elicitor properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 42(3), 235–240.
- Chávez, V., Uribe-Martínez, A., Cuevas, E., Rodríguez-Martínez, R. E., van Tussenbroek, B. I., Francisco, V., Estévez, M., Celis, L. B., Monroy-Velázquez, L. V., Leal-Bautista, R., Álvarez-Filip, L., García-Sánchez, M., Masia, L., & Silva, R. (2020). Massive influx of pelagic sargassum spp. On the coasts of the Mexican Caribbean 2014–2020: Challenges and opportunities. *Water (Switzerland)*, 12(10), 1–24.
- Citkowska, A., Szekalska, M., & Winnicka, K. (2019). Possibilities of fucoidan utilization in the development of pharmaceutical dosage forms. *Marine Drugs*, 17(8).
- Desrochers, A., Cox, S., Oxenford, H., & Van Tussenbroek, B. (2020). *Sargassum Uses Guide: A resource for Caribbean researchers, entrepreneurs and policy makers*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Produced, 97, 100.
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 14(8), 491–502.
- Gotteland, M., Riveros, K., Gasaly, N., Carcamo, C., Magne, F., Liabeuf, G., Beattie, A., & Rosenfeld, S. (2020). The Pros and Cons of Using Algal Polysaccharides as Prebiotics. *Frontiers in Nutrition*, 7(September), 1–15.
- Hsu, H., & Hwang, P. (2019). Clinical applications of fucoidan in translational medicine for adjuvant cancer therapy. *Clinical and Translational Medicine*, 8(1), 1–18.

- Hsu, W. J., Lin, M. H., Kuo, T. C., Chou, C. M., Mi, F. L., Cheng, C. H., & Lin, C. W. (2020). Fucoidan from *Laminaria japonica* exerts antitumor effects on angiogenesis and micrometastasis in triple-negative breast cancer cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 149, 600–608
- Huang, Y. C., & Lam, U. I. (2011). Chitosan/fucoidan pH sensitive nanoparticles for oral delivery system. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 58(6), 779–785.
- Ikeguchi, M., Yamamoto, M., Arai, Y., Maeta, Y., Ashida, K., Katano, K., Miki, Y., & Kimura, T. (2011). Fucoidan reduces the toxicities of chemotherapy for patients with unresectable advanced or recurrent colorectal cancer. *Oncology Letters*, 2(2), 319–322. <https://doi.org/10.3892/ol.2011.254>
- Jun, J. Y., Jung, M. J., Jeong, I. H., Yamazaki, K., Kawai, Y., & Kim, B. M. (2018). Antimicrobial and antibiofilm activities of sulfated polysaccharides from marine algae against dental plaque bacteria. *Marine Drugs*, 16(9).
- Langkawi, P., Kaedah, K., Fukoidan, P., Hasil, T., & Fukosa, K. (2018). EFFECT OF EXTRACTION METHODS ON THE YIELD, FUCOSE CONTENT AND PURITY OF FUCOIDAN FROM *Sargassum* sp. OBTAINED FROM PULAU LANGKAWI, MALAYSIA. *Malaysian Journal of Analytical Science*, 22(1), 87–94.
- Li, B., Lu, F., Wei, X., & Zhao, R. (2008). Fucoidan: Structure and bioactivity. *Molecules*, 13(8), 1671–1695.
- Lin, Y., Qi, X., Liu, H., Xue, K., Xu, S., & Tian, Z. (2020). The anti-cancer effects of fucoidan: A review of both in vivo and in vitro investigations. *Cancer Cell International*, 20(1), 1–14.
- Luthuli, S., Wu, S., Cheng, Y., Zheng, X., Wu, M., & Tong, H. (2019). Therapeutic effects of fucoidan: A review on recent studies. *Marine Drugs*, 17(9).
- Moll, S., & Roberts, H. R. (2002). Overview of anticoagulant drugs for the future. *Seminars in Hematology*, 39(3), 145–157. <https://doi.org/10.1053/shem.2002.34087>
- Motta, L., & Sofía, R. (2013). Evaluación del potencial del uso de las algas de arribazón conocidas como sargazo. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Oka, S., Okabe, M., Tsubura, S., Mikami, M., & Imai, A. (2020). Properties of fucoidans beneficial to oral healthcare. *Odontology*, 108(1), 34–42.
- Pacheco-Ruíz, I., Zertuche-González, J. A., Chee-Barragán, A., & Blanco-Betancourt, R. (1998). Distribution and quantification of *Sargassum* beds along the West Coast of the Gulf of California, Mexico. *Botanica Marina*, 41(2), 203–208.
- Ponce, N. M. A., & Stortz, C. A. (2020). A Comprehensive and Comparative Analysis of the Fucoidan Compositional Data Across the Phaeophyceae. *Frontiers in Plant Science*, 11(November).
- Saeed, M., Arain, M. A., Ali Fazlani, S., Marghazani, I. B., Umar, M., Soomro, J., Bhutto, Z. A., Soomro, F., Noreldin, A. E., Abd El-Hack, M. E., Elnesr, S. S., Farag, M. R., Dhama, K., Chao, S., & Alagawany, M. (2021). A comprehensive review on the health benefits and nutritional significance of fucoidan polysaccharide derived from brown seaweeds in human, animals and aquatic organisms. *Aquaculture Nutrition*, 27(3), 633–654
- Senthilkumar, K., Manivasagan, P., Venkatesan, J., & Kim, S. K. (2013). Brown seaweed fucoidan: Biological activity and apoptosis, growth signaling mechanism in cancer. *International Journal of Biological Macromolecules*, 60, 366–374.
- Skriptsova, A. V. (2016). Seasonal variations in the fucoidan content of brown algae from Peter the Great Bay, Sea of Japan. *Russian Journal of Marine Biology*, 42(4), 351–356.
- Ustyuzhanina, N. E., Ushakova, N. A., Zyuzina, K. A., Bilan, M. I., Elizarova, A. L., Somonova, O. V., Madzhuga, A. V., Krylov, V. B., Preobrazhenskaya, M. E., Usov, A. I., Kiselevskiy, M. V., & Nifantiev, N. E. (2013). Influence of fucoidans on hemostatic system. *Marine Drugs*, 11(7), 2444–2458.
- Wang, S. H., Huang, C. Y., Chen, C. Y., Chang, C. C., Huang, C. Y., Dong, C. Di, & Chang, J. S. (2020). Structure and Biological Activity Analysis of Fucoidan Isolated from *Sargassum siliquosum*. *ACS Omega*, 5(50), 32447–32455.

- Yen, H. W., Yang, S. C., Chen, C. H., Jesisca, & Chang, J. S. (2015). Supercritical fluid extraction of valuable compounds from microalgal biomass. *Bioresource Technology*, 184, 291–296.
- Zayed, A., & Ulber, R. (2020). Fucoïdanes: Downstream processes and recent applications. *Marine Drugs*, 18(3), 1–22.

## Potencial nutricional y bioactivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en la salud humana

María Stephanie Cid-Gallegos<sup>1</sup>, Yolanda de las Mercedes Gómez y Gómez<sup>1</sup>, Luis Jorge Corzo-Ríos<sup>1</sup>, Xariss M. Sanchez-Chino<sup>2</sup>, Deyanira Moguel-Concha<sup>3</sup>, Eduardo Borges-Martínez<sup>3</sup>, Cristian Jiménez-Martínez<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional. Av. Acueducto, La Laguna Ticomán, C.P. 07340. Delegación Gustavo A. Madero, CDMX, México.

<sup>2</sup>Cátedra-CONACyT, Departamento de Salud, El Colegio de la Frontera Sur-Villahermosa, Tabasco 86280, México.

<sup>3</sup>Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Av. Wilfrido Massieu Esq. Cda. Miguel Stampa S/N, C.P.07738. Delegación Gustavo A. Madero, CDMX, México.

[crisjm\\_99@yahoo.com](mailto:crisjm_99@yahoo.com)

### RESUMEN

El frijol es una de las leguminosas de mayor consumo a nivel mundial y pertenece a la familia de Leguminosae. Esta leguminosa es una fuente de proteína de bajo costo, por lo que es accesible para personas en países en vías de desarrollo. Posee gran valor nutricional, así como metabolitos secundarios con actividad biológica sobre la salud humana. Sus principales componentes son carbohidratos (50-60%), proteínas (15-25%) y lípidos (1-3%), además de vitaminas, minerales y compuestos no nutricionales como los compuestos fenólicos, saponinas, taninos, entre otros presentes en la semilla, que junto con los péptidos bioactivos coadyuvan en el control de enfermedades. Por otro lado, las actividades biológicas que se han sido reportados a este conjunto de compuestos se encuentran: antihipertensiva, antiinflamatoria, anticancerígena, antifúngica, entre otras. Las investigaciones realizadas muestran que tanto las proteínas, como los péptidos y los metabolitos secundarios presentan actividad biológica que hace del frijol un alimento con potencial efecto en la salud.

**Palabras clave:** Frijol, péptidos bioactivos, actividad biológica

### ABSTRACT

The bean is one of the most consumed legumes worldwide and belongs to the Leguminosae family. This legume is a low-cost source of protein, making it accessible to people in developing countries. It has great nutritional value, as well as secondary metabolites with biological activity on human health. Its main components are carbohydrates (50-60%), proteins (15-25%) and lipids (1-3%), as well as vitamins, minerals, and non-nutritional compounds such as phenolic compounds, saponins, tannins, among others present in the seed, which together with the bioactive peptides help in the control of diseases. On the other hand, the biological activities that have been reported for this set of compounds are antihypertensive, anti-inflammatory, anticancer, antifungal, among others. The research carried out shows that both proteins, peptides and secondary metabolites have biological activity that makes beans a food with a potential effect on health.

**Key words:** Beans, bioactive peptides, biological activity



## INTRODUCCIÓN

Las leguminosas son un conjunto de especies pertenecientes a la familia de las Papilionáceas, cuya principal utilidad agrícola es el empleo de sus semillas en la alimentación animal y humana, debido principalmente a su alto contenido en proteínas. Se caracterizan por su capacidad de: a) formar vainas, b) asociarse con el género *Rhizobium*; de esta simbiosis la leguminosa da a la bacteria hidratos de carbono, que le sería difícil obtener independientemente, y la leguminosa utiliza el nitrógeno atmosférico fijado por el *Rhizobium* para su desarrollo y c) la posterior síntesis de aminoácidos y acumulación de proteína (Swarnalakshmi et al., 2020).

Los granos de las leguminosas presentan una alta proporción de hidratos de carbono solubles (35-70%), bajo contenido en grasas (1-2%), alto porcentaje de proteínas, en general superior al 20%, fibra que varía (5-10%) y sustancias minerales, próximas al 3%, destacando su alto contenido en calcio y hierro (Kan et al., 2018).

La riqueza en lisina de las proteínas de las leguminosas y el calcio, las convierten en el complemento ideal de los cereales; los granos de las leguminosas presentan ciertos componentes que dificultan la digestibilidad y algunos causan trastornos que limitan su consumo (Paredes-López, 2013)

A escala mundial el área destinada para el cultivo de leguminosas, excluyendo a la soya, se calcula de 68 millones de Has, de donde se obtienen entre 55 y 57 millones de toneladas. El más importante de los cultivos de leguminosas es el frijol (*Phaseolus vulgaris*) con 28 millones de hectáreas cultivadas alrededor del mundo. A nivel mundial México se encuentra entre los cinco principales productores de frijol, junto con Brasil, la India, Myanmar y China, países que en conjunto aportan el 55% de la producción mundial, México contribuye con el 7% en promedio de las cosechas mundiales (CEDRSSA, 2020), de aquí la importancia económica y social de esta leguminosa.

El frijol ocupa un lugar importante en la economía agrícola de México, tanto por la superficie que se le destina, como por la derrama económica que genera. En conjunto con el maíz, constituyen la dieta básica del pueblo mexicano y en consecuencia son los productos de mayor importancia socioeconómica. En una extensión importante de América Latina, el cultivo de frijol, junto con el maíz, representa toda una tradición productiva y de consumo, cumpliendo diversas funciones de carácter alimentario y socioeconómico que le han permitido trascender hasta la actualidad. Se trata de uno de los cultivos de mayor importancia, ya que representa para la economía de los productores una fuente importante de ocupación e ingreso, a la vez que es una garantía de seguridad alimentaria. El cultivo de *Phaseolus* en México abarca alrededor de 70 especies; de las cuales el frijol común (*P. vulgaris* L.) destaca por su importancia económica, social, biológica, alimenticia y cultural (CEDRSSA, 2020).

A nivel mundial, el frijol común es la segunda leguminosa de mayor importancia después de la soya abarcando más del 85% de la superficie sembrada de todas las especies de *Phaseolus* en el mundo. México es el reservorio genético y la fuente de diversidad más importante del mundo (CEDRSSA, 2020).

En México, la producción de frijol se destina en forma directa al consumo humano, representando una de las principales fuentes de proteína para amplios sectores de la población mexicana. Asimismo, su consumo es generalizado entre la población de bajos ingresos, medios y hasta superiores. Por esto, la importancia de este grano en la dieta actual del país sigue siendo fundamental, además, el frijol común ha sido propuesto como un alimento funcional que contribuye con efectos benéficos a la salud al presentar propiedades terapéuticas (Abdulrahman et al., 2020).

### **La proteína del frijol**

Las proteínas en el frijol representan entre el 20-25% del peso total de la semilla, La variación en la concentración de proteína no sólo depende de los genes que controlan su síntesis y acumulación específicas, sino también de genes que controlan otros factores, tales como la adquisición de nutrientes, maduración, producción y tamaño de la semilla, y la síntesis y acumulación de almidón y de otros compuestos en la misma semilla. Además, también los factores ambientales, tales como la

localización geográfica y el tiempo de cosecha, pueden influir en el contenido de proteína en el frijol (Florez et al., 2009).

La proteína de frijol se caracteriza por su deficiencia en aminoácidos azufrados y triptófano. Los estudios se han concentrado en estos aminoácidos, especialmente en la metionina y la cisteína, ya que son los aminoácidos limitantes por excelencia. Una de las características benéficas más importantes de la proteína de frijol común es su extraordinario nivel de lisina. Dichos niveles satisfacen los requerimientos actuales para un adulto y los requerimientos para los niños en relación con el patrón de referencia FAO/OMS. Además, la lisina es un factor importante en ciertas condiciones de enfermedad. Por ejemplo, cuando la función del hígado se ve impedida, también puede verse afectada la síntesis de carnitina. La carnitina es sintetizada en el hígado a partir de la lisina y de la metionina. Todos los ácidos grasos de cadena larga tomados en la dieta deben ser transportados a las mitocondrias por medio de la ruta de carnitina antes de ser oxidados para producir energía (Norworthy et al., 2018).

Dentro de las proteínas de frijol (Table I), se encuentran diferentes fracciones clasificadas por su solubilidad como: globulinas (65%), albúminas (15%), glutelinas (10%) y prolaminas (2%); y varían dependiendo de la variedad y ambiente de producción. Entre las proteínas mayoritarias se encuentran la faseolina (40-50% de la proteína total), las lectinas (10-27% de la proteína total), los inhibidores de  $\alpha$ -amilasa, las arcelinas y las fitohemaglutininas (Tabla I) (Mani-López et al., 2021).

**Tabla I.** Composición de las proteínas de frijol *P. vulgaris* L.

Fracción	Porcentaje % <sup>a</sup>	Observaciones	Referencia
Albúminas	15-30	Ricas en aminoácidos azufrados. Heterogéneas: lectinas, albúminas 2S, inhibidores de proteasas, enzimas.	Boulter, 1977; Marquez y Lajolo, 1981
Globulinas	50-75	Hasta el 80% corresponde a faseolina	Boulter, 1977
Glutelinas	10-30		Boulter, 1977; Chagas y Santoro, 1997.
Prolaminas	< 1.7		Marquez y Lajolo, 1981
Faseolina	40-70	Parcialmente soluble en agua, su contenido puede variar.	Rivera del Rio et al., 2022
Lectinas	10-27	Familia compuesta por fitohemaglutininas, arcelinas y el inhibidor de $\alpha$ -amilasa ( $\alpha$ -AI). Pueden presentar o no actividad hemaglutinante.	Vitale y Bollini, 2017; Putzai et al., 2008; Burbano et al., 1999
54-60 kDa	10	Posiblemente subunidad ácida de la proteína 11S	Lampart-Szczapa, 2001
Inhibidores de proteasas y otras enzimas	10	Lipoxigenasas, amilasas, inhibidores de tripsina, lipasas, proteasas, peptidasas,	Marquez y Lajolo, 1981; Sathe, 2002.
Albuminas 2S	< 5	Proteínas ricas en azufre	Sathe, 2002
Péptidos y polipéptidos	< 2		Sathe, 2002

<sup>a</sup> Porcentaje en base a la proteína total.

La faseolina es una globulina, mientras que las lectinas y los inhibidores son albúminas (Roy et al., 2010). El valor nutritivo de la proteína de frijol es limitado por su bajo contenido de aminoácidos azufrados, baja digestibilidad e inclusive cierta toxicidad, dada principalmente por las fitohemaglutininas. En particular la faseolina es altamente resistente a la hidrólisis enzimática, debido

principalmente por su estructura compacta y rígida, alta hidrofobicidad, deficiencia en aminoácidos azufrados y a la presencia de factores no nutricionales (ácido fítico, taninos, saponinas, inhibidores de proteasas y lectinas) lo que limita la accesibilidad de las proteasas (Rivera del Rio et al., 2022). Con estas características es necesario utilizar diversos métodos de procesamiento para su consumo, con los cuales mejora de manera importante la calidad del alimento. Las semillas de frijol son consumidas después del remojo y tratamiento térmico, reduciendo la concentración de taninos, ácido fítico y los factores anti nutricionales solubles y termolábiles como la fitohemaglutininas, inhibidores de la proteasa y oligosacáridos. Esto mejora la palatabilidad, la digestibilidad de la proteína y disponibilidad de algunos nutrientes (Corzo-Ríos et al., 2020; Campos-Vega et al., 2018).

### **Efectos benéficos por el consumo de frijol**

Diversos estudios han mostrado una correlación entre el consumo de frijol y la disminución de incidencias en enfermedades cardiovasculares, obesidad y diabetes (Mullins et al., 2021, Cid-Gallegos et al., 2020). Estos beneficios han sido atribuidos a la presencia de compuestos con propiedades antioxidantes en el frijol, como los compuestos fenólicos (taninos condensados y flavonoides) (Abdulrahman et al., 2020), además de los péptidos bioactivos que son liberados por hidrólisis enzimática de las proteínas.

También se ha señalado al frijol como un alimento nutracéutico o funcional, no sólo por sus propiedades nutricionales sino también por el papel que algunos de sus componentes desempeñan en la promoción de la salud. Por ejemplo, la ingesta de proteínas de leguminosas ha sido asociada con la mejora de una diversidad de enfermedades (Amarowicz, 2020). Se ha visto que la administración de estas proteínas reduce los niveles de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad en humanos y en conejos (Anderson & Major, 2002)

Existen reportes que indican que el consumo de fríjol es efectivo para reducir los niveles de colesterol de la sangre. Este efecto ha sido relacionado con su contenido de fibra. Puede ser que el mecanismo sea similar al que se ha sugerido por la combinación de la fibra dietaria y la proteína de soya, las cuales reducen el colesterol quizá mediante un efecto sinérgico (Luna-Vital et al., 2016). Varios estudios han sugerido que la ingesta excesiva de proteína animal puede ser calciurética, es decir que el calcio del organismo sea eliminado por la orina, y pueden ser parcialmente responsables de la alta incidencia de fracturas. Desde este punto de vista, las proteínas de fríjol común son opciones excelentes para sustituir o disminuir la ingesta de proteínas animales, y por lo tanto para disminuir el riesgo de fracturas. Estudios recientes han mostrado que otros componentes del fríjol pueden estar relacionados con la prevención y con la cura de algunas enfermedades del ser humano (Campos-Vega et al., 2018). Por ejemplo, la lisina (aminoácido presente en altos niveles en la proteína de fríjol) favorece el funcionamiento del hígado cuando este sufre algún tipo de daño, como cirrosis. Además, componentes químicos del fríjol como son los polifenoles, que se encuentran en cantidades elevadas en la cáscara (cubierta de la semilla) del fríjol, especialmente en los materiales pigmentados, son señalados como posibles agentes para combatir el cáncer y las arteriosclerosis. También se encontró que el frijol común y sus polisacáridos son capaces de modular los perfiles de expresión genética en células HT-29, proporcionando de valiosa información sobre el mecanismo quimioprotectivo contra el cáncer de colon (Campos-Vega et al., 2010).

Por otro lado, el magnesio, el calcio y el hierro también han sido identificados como nutracéuticos; por ejemplo, bajos niveles de magnesio en la sangre están relacionados con problemas de los vasos coronarios y en algunas disfunciones específicas del cerebro. El calcio no solo está vinculado con la osteoporosis, sino también con el cáncer de colon y la hipertensión. Además, la deficiencia de hierro en la dieta de los habitantes de los países en desarrollo y su efecto negativo sobre la salud humana están documentados (Luna-Vital et al., 2014).

Algunos otros componentes importantes del fríjol son los oligosacáridos, taninos, inhibidores de tripsina y el ácido fítico. La calidad nutricional del fríjol puede ser mejorada mediante el remojo, la cocción, la germinación y la irradiación. Los efectos de dichos tratamientos varían con la variedad de frijol y, en general, todos ellos reducen en cierta medida los niveles de oligosacáridos y de los

llamados factores antinutricionales del frijol. Sin embargo, la flatulencia asociada con el consumo de frijoles es a menudo considerada uno de los factores que limitan su consumo, especialmente en los países occidentales desarrollados. A pesar de los aspectos negativos asociados con los oligosacáridos como la rafinosa y la estaquiosa (principales compuestos de la flatulencia) del frijol común, estos compuestos pueden ejercer efectos benéficos, tales como prevenir la constipación, reducir el colesterol y la presión sanguínea, así como también efectos anticancerígenos (Luna-Vital et al., 2016). De hecho, en Norteamérica actualmente se están recomendando dietas con más altos niveles de fibra dietaria, la cual incluye a dichos oligosacáridos. La presencia de un gran número de alimentos ricos en fibra en los supermercados, así como en los medios de comunicación, es una indicación de la conciencia que ha tomado el público en general sobre el tema de la fibra dietaria. En vista de esto, el potencial del frijol de generar flatulencia sería sólo un pequeño precio que hay que pagar por los grandes beneficios a la salud que conlleva su consumo (Bruno-Barcena et al., 2015).

Por otra parte, algunos componentes de los frijoles tales como los polifenoles y los taninos condensados no pueden ser eliminados completamente por el procesamiento. En frijoles de diversos colores (amarillos, cremas, rojos, pintos, negros y otros) se pueden encontrar altos niveles de polifenoles. En el pasado, a los taninos se les consideró negativamente en vista de su capacidad de asociarse fuertemente a las proteínas, causando una disminución de su digestibilidad. Sin embargo, varios reportes recientes les han atribuido ciertas propiedades benéficas a dichos compuestos. Asimismo, los polifenoles han sido identificados como agentes efectivos contra el cáncer y contra la arteriosclerosis. Se ha encontrado que el temphe fermentado a partir de harina de frijol muestra capacidad antioxidante y captadora de radicales libres, la cual está relacionada con el contenido de fenólicos totales, por lo tanto, se puede utilizar para la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Reyes-Bastidas et al., 2010).

### **Péptidos de frijol (*Phaseolus vulgaris*) con actividad biológica**

Los péptidos bioactivos del frijol con efecto antioxidante pueden reducir las especies reactivas de oxígeno (ERO) y los sistemas antioxidantes esas ERO y lograr un balance. Por ejemplo, los péptidos ( $\leq 10$  kDa) obtenidos de frijoles blancos y frijoles rojos claros presentan actividad antioxidante en la línea celular Caco-2 (Chen et al., 2019). Mientras que hidrolizados de proteínas germinadas de frijol (0.1 mg/mL) mostraron actividad antioxidante en la línea celular Caco-2 (López-Barríos et al. 2016). Xie et al. (2020) estudiaron péptidos con pesos moleculares de  $\leq 3$  kDa obtenidos de proteína hidrolizada de frijol (Alcalasa) y mostraron (0.1-5 mg/mL) reducción en la producción de ERO en la línea celular inherente derivada de hígado de ratón normal (NCTC-1469) inducida con  $H_2O_2$ .

Por otra parte, también se han descrito investigaciones con péptidos antimicrobianos los cuales tienen mayor eficacia que las proteínas nativas (Orona-Tamayo et al., 2019). Los péptidos antimicrobianos son una alternativa prometedora como agentes terapéuticos contra una amplia gama de bacterias, hongos, levaduras y parásitos debido a su capacidad para matar células microbianas a través de la permeabilización de las membranas celulares citoplasmáticas (Nawrot et al., 2014; Salas et al., 2015). De hecho, un estudio donde trabajaron con fracciones peptídicas con pesos moleculares  $\leq 1$  kDa a partir de proteína hidrolizada (Alcalasa) de frijol común var. Plus Black, Azufrado-Higuera y Pinto Saltillo, mostraron actividad antibacteriana contra *B. subtilis*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter agglomerans* y *Shigella dysenteriae* (Ariza-Ortega et al., 2014). Asimismo, en otra investigación donde analizaron hidrolizados (Pepsina) de proteína de frijol rojo oscuro (*Phaseolus vulgaris*) observaron actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Roy et al., 2020).

Con respecto a la inflamación crónica, esta juega un papel importante, ya que eleva el riesgo de desarrollar cáncer con la implicación de múltiples vías de señalización, la presencia de polipéptidos como mensajeros de la inflamación, entre los que incluyen, las interleucinas 1 $\beta$ , 2, 6, 8 (IL-1 $\beta$ , IL2, IL-6, IL8) y el factor de necrosis tumoral (TNF), que promueven el crecimiento y supervivencia tumoral (Koerner et al., 2017; Sido et al., 2017; Wong, 2011). También se activa el NF- $\kappa$ B (factor nuclear kappa  $\beta$ ) y STAT3 (transductor de señales y activador de la transcripción-3), estas vías se

encuentran vinculadas a la activación de genes involucrados en inflamación y que controlan factores de crecimiento celular, la angiogénesis y la regulación de citocinas / quimiocinas. Estas 2 vías son activadas por eventos asociados a tumores, como alteraciones en los factores de crecimiento (factor de crecimiento epidérmico [EGF]), la hipoxia, microambiente y citocinas proinflamatorias (Koerner et al., 2017). Por lo que, existe amplia investigación sobre la actividad antiinflamatoria de los péptidos de frijol. En particular, Oseguera-Toledo et al. (2011) analizaron hidrolizados (alcalasa) de proteína de frijol común *var.* Pinto Durango y Negro 8025 y observaron la inhibición de la síntesis de marcadores inflamatorios en macrófagos RAW 264.7 inducida por lipopolisacáridos (LPS). Donde la variedad Negro 8025 mostró valores de IC<sub>50</sub> de 43.6, 61.3, 14.2 y 4.2 μM para ciclooxigenasa 2 (COX-2), prostaglandina E2 (PGE2), óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y óxido nítrico (NO), respectivamente. No obstante, García-Mora et al., (2015) obtuvieron péptidos con pesos moleculares ≤3 kDa a partir de proteína hidrolizada (Alcalasa) de frijol común *var.* Pinto y mostró una inhibición del 28% en la síntesis de IL-6 en células de colon humano CCD-18Co estimuladas con IL-1β. Asimismo, una investigación con hidrolizados (Pepsina-pancreatina) de proteína de frijol común *var.* Carioca BRS Pontal y *var.* BRSMG Madreperola inhibieron la síntesis del Factor de Necrosis Tumoral α (TNF-α) e IL-1β en macrófagos humanos THP-1 estimulados con LPS (Galdino-Alves et al., 2016). De igual manera, López-Barrios et al. (2016) estudiaron un hidrolizado (pepsina-pancreatina) de proteína de frijol común *var.* San Luis y mostraron la inhibición de la síntesis de NO en macrófagos RAW 264.7 inducida por LPS.

Por otro lado, el cáncer es una enfermedad multifactorial causada por factores genéticos, inflamación crónica, estrés oxidativo y/o hábitos de alimentación (Cid-Gallegos et al., 2020). De tal manera que, Luna-Vital et al. (2014) obtuvieron fracciones peptídicas a partir de hidrolizado de frijol común *var.* Azufrado Higuera, Bayo Madero y Negro 8025 y mostraron que las tres variedades poseían un efecto antiproliferativo en las líneas RKO (valores de IC<sub>50</sub> de 0,51 mg/mL de Bayo Madero, 0,59 mg/mL de Azufrado Higuera y 0,79 mg/mL de Negro 8025) y KM12L4 (valores de IC<sub>50</sub> ≥ 1 mg/mL), no así en la línea HCT116 donde solo Azufrado Higuera y Negro 8025 redujeron significativamente la proliferación. Igualmente, Luna-Vital et al. (2016) aislaron péptidos GLTSK y GEGSGA a partir de proteína de frijol hidrolizada y mostraron un efecto citotóxico contra la línea celular de HCT116. Finalmente, Luna-Vital et al., (2017) consiguieron péptidos a partir de frijol común *var.* Azufrado Higuera y observaron disminución en la inflamación del colon y formación de neoplasias en ratones tratados con azoximetano/dextran sulfato de sodio.

**Tabla II. Actividad biológica de péptidos de frijol (*Phaseolus vulgaris*)**

Enzima proteolítica	Compuesto proteico	Actividad biológica	Tipo de estudio	Resultados	Bibliografía
Pepsina-Pancreatina	Péptidos GLTSK GEGSGA	Antiproliferativa	In vitro: línea celular HCT116	Efectos antiproliferativo en línea celular HCT116 (IC <sub>50</sub> 134.6 μM IC <sub>50</sub> 156.7 μM). -Inducción de apoptosis	Luna-Vital et al., 2016
Pepsina-Pancreatina	Fracciones peptídicas	Antiproliferativa	In vitro: líneas celulares de cáncer de colon HCT116, RKO, KM12L4	Efecto antiproliferativo en líneas de cáncer HCT116, RKO, KM12L4 (IC <sub>50</sub> 0.53-0.80 mg/mL, IC <sub>50</sub> 0.51-0.79 mg/mL and IC <sub>50</sub> ≥ 1 mg/mL respectivamente).	Luna-Vital et al., 2014

## Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Pepsina-Pancreatina	Péptido GLTSK y extracto peptídico	Anticáncer	In vivo: ratones Balb/c, dosis 50 mg/kg-bw	Disminuyó ( $p < 0.05$ ) el índice de actividad de la enfermedad (DAI) y reducción de neoplasias.	Luna-Vital et al., 2017
Pepsina-Pancreatina	Hidrolizado	Actividad anti-inflamatoria	In vitro: macrófagos humanos THP-1	Inhibición de TNF- $\alpha$ y IL-1 $\beta$ en macrófagos humanos THP-1 estimulados por LPS	Galdino-Alves et al., 2016
Alcalasa	Péptidos $\leq 3$ kDa	Actividad anti-inflamatoria	In vitro: línea celular similar a miofibroblastos CCD-18Co, derivada de una biopsia de la mucosa colónica humana	Inhibición de IL-6 (28%) en células humanas de colon CCD-18Co estimuladas con IL-1 $\beta$	García-Mora et al., 2015
Alcalasa	Hidrolizados	Actividad anti-inflamatoria	In vitro: macrófago de ratón (RAW 264.7) línea celular	Inhibición de NO en macrófagos RAW 264.7 inducida por LPS	López-Barrios et al., 2016
Alcalasa	Hidrolizados	Actividad anti-inflamatoria	In vitro: macrófago de ratón (RAW 264.7) línea celular	Actividad antiinflamatoria (IC <sub>50</sub> 34,9, 13,9, 5,0 y 3,7 $\mu$ M, IC <sub>50</sub> 43,6, 61,3, 14,2 y 4,2 $\mu$ M). Inhibición de COX-2, PGE2, iNOS y NO en macrófagos RAW 264.7 inducidos por LPS. Inhibición de la transactivación de NF- $\kappa$ B en la subunidad de translocación nuclear NF- $\kappa$ B p65.	Osegura-Toledo et al., 2011
Pepsina	Hidrolizados	Actividad antibacterial	In vitro: cepas de bacterias	Actividad antimicrobiana contra E. coli and P. aeruginosa	Roy et al., 2020
Alcalasa	Fracciones peptídicas $\leq 1$ kDa	Actividad antibacterial	In vitro: cepas de bacterias	Actividad antimicrobiana contra E. coli, B. subtilis, Klebsiella rinoscleromatis, Salmonella typhi, Enterobacter agglomerans, and Shigella dysenteriae	Ariza-Ortega et al., 2014
Pepsina-Pancreatina	Fracciones peptídicas $\leq 10$ kDa	Actividad antioxidante	In vitro: línea celular Caco-2	Actividad antioxidante celular	Chen et al., 2019

	Hidrolizados proteicos	Actividad antioxidante	In vitro: línea celular Caco-2	Actividad antioxidante celular	López-Barrios et al., 2016
Alcalasa	Peptidos ≤3 kDa	Actividad antioxidante	In vitro: línea celular NCTC-1469 inducida con H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Reducción en la producción de ERO	Xie et al., 2020

## BIBLIOGRAFÍA

- Abdulrahman B.O., Bala M., Bello O.M. (2020) Bioactive Compounds of Black Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: Bioactive Compounds in Underutilized Vegetables and Legumes. Murthy H.N., Paek K.Y. (eds) Reference Series in Phytochemistry. Springer, Cham.1-20
- Amarowicz, R. (2020). Legume Seeds as an Important Component of Human Diet. *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(12), 1812
- Anderson, J. W., & Major, A. W. (2002). Pulses and lipaemia, short-and long-term effect: potential in the prevention of cardiovascular disease. *British Journal of Nutrition*, 88(S3), 263-271
- Ariza-Ortega, T. J., Zenón-Briones, E. Y., Castrejón-Flores, J. L., Yáñez-Fernández, J., Gómez-Gómez, Y. M., & Oliver-Salvador, M. C. (2014). Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory, antimicrobial, and antioxidant effect of bioactive peptides obtained from different varieties of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) with in vivo antihypertensive activity in spontaneously hypertensive rats. *European Food Research and Technology*, 239(5), 785-794.
- Boulter, D. (1977). Quality problems in "protein plants" with special attention paid to the proteins of legumes [leguminous grains and vegetables, cereals]. In *Protein quality from leguminous crops, Dijon (France)*, 3 Nov 1976. Office for Official Publications of the European Communities.
- Burbano, C., Muzquiz, M., Ayet, G., Cuadrado, C., & Pedrosa, M. M. (1999). Evaluation of antinutritional factors of selected varieties of *Phaseolus vulgaris*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(11), 1468-1472.
- Bruno-Barcena, J. M., & Azcarate-Peril, M. A. (2015). Galacto-oligosaccharides and colorectal cancer: Feeding our intestinal probiome. *Journal of functional foods*, 12, 92-108.
- Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., & Oomah, B. D. (2010). Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food research international*, 43(2), 461-482.
- Campos-Vega, R., Bassinello, P. Z., Santiago, R. D. A. C., & Oomah, B. D. (2018). Dry beans: Processing and nutritional effects. *Therapeutic, probiotic, and unconventional foods*, 367-386.
- CEDRSSA (2020) Mercado del frijol, situación y prospectiva. <http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/53Mercado%20del%20frijol.pdf>
- Chagas, E. P., & Santoro, L. G. (1997). Globulin and albumin proteins in dehulled seeds of three *Phaseolus vulgaris* cultivars. *Plant Foods for Human Nutrition*, 51(1), 17-26.
- Chen, Y., Zhang, H., Liu, R., Mats, L., Zhu, H., Pauls, K. P., Deng, Z., & Tsao, R. (2019). Antioxidant and anti-inflammatory polyphenols and peptides of common bean (*Phaseolus vulga* L.) milk and yogurt in Caco-2 and HT-29 cell models. *Journal of Functional Foods*, 53, 125-135.
- Cid-Gallegos, M. S., Sánchez-Chino, X. M., Álvarez-González, I., Madrigal-Bujaidar, E., Vásquez-Garzón, V. R., Baltiérrez-Hoyos, R., Villa-Treviño, S., Dávila-Ortíz, G., & Jiménez-Martínez, C. (2020). Modification of in vitro and in vivo antioxidant activity by consumption of cooked chickpea in a colon cancer model. *Nutrients*, 12(9), 2572.
- Corzo-Ríos, L. J., Sánchez-Chino, X. M., Cardador-Martínez, A., Martínez-Herrera, J., & Jiménez-Martínez, C. (2020). Effect of cooking on nutritional and non-nutritional compounds in two species of *Phaseolus* (*P. vulgaris* and *P. coccineus*) cultivated in Mexico. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 20, 100206.

- Florez, A., Pujolà, M., Valero, J., Centelles, E., Almirall, A., & Casañas, F. (2009). Genetic and environmental effects on chemical composition related to sensory traits in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 113(4), 950-956.
- Galdino Alves, N. E., González de Mejía, E., Mileib Vasconcelos, C., Zaczuk Bassinello, P., & Duarte Martino, H. S. (2016). Postharvest storage of carioca bean (*Phaseolus vulgaris* L.) did not impair inhibition of inflammation in lipopolysaccharide-induced human THP-1 macrophage-like cells. *Journal Functional Foods*, 23, 154-166.
- García-Mora, P., Frias, J., Peñas, E., Zieliński, H., Giménez-Bastida, J. A., Wiczowski, W., Zielińska, D., & Martínez-Villaluenga, C. (2015). Simultaneous release of peptides and phenolics with antioxidant, ACE-inhibitory and anti-inflammatory activities from pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L. var. pinto) proteins by subtilisins. *Journal Functional Foods*, 18, 319-332.
- Kan, L., Nie, S., Hu, J., Wang, S., Bai, Z., Wang, J., ... & Song, K. (2018). Comparative study on the chemical composition, anthocyanins, tocopherols and carotenoids of selected legumes. *Food chemistry*, 260, 317-326.
- Koerner, J., Brunner, T., & Groettrup, M. (2017). Inhibition and deficiency of the immunoproteasome subunit LMP7 suppress the development and progression of colorectal carcinoma in mice. *Oncotarget*, 8(31), 50873.
- Lampart-Szczapa (2001). Legume and oilseed proteins. *Chemical and functional properties of food proteins*, Zdzislaw E. Sikorski Eds. CRC Press, E.E.U.U. 2, 407-436.
- López-Barrios, L., Antunes-Ricardo, M., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2016). Changes in antioxidant and antiinflammatory activity of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolates due to germination and enzymatic digestion. *Food Chemistry*, 203, 417-424.
- Luna Vital, D. A., González de Mejía, E., Dia, V. P., & Loarca-Piña, G. (2014). Peptides in common bean fractions inhibit human colorectal cancer cells. *Food Chemistry*, 157, 347-355.
- Luna-Vital, D. A., González de Mejía, E., & Loarca-Piña, G. (2016). Selective mechanism of action of dietary peptides from common bean on HCT116 human colorectal cancer cells through loss of mitochondrial membrane potential and DNA damage. *Journal Functional Foods*, 23, 24-39.
- Luna-Vital, D. A., González-de Mejía, E., & Loarca-Piña, G. (2017). Dietary peptides from *Phaseolus vulgaris* L. reduced AOM/DSS-induced colitis-associated colon carcinogenesis in Balb/c mice. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72(4), 445-447.
- Mani-López, E., Palou, E., & López-Malo, A. (2021). Legume proteins, peptides, water extracts, and crude protein extracts as antifungals for food applications. *Trends in Food Science & Technology*, 112, 16-24
- Marquez, U. L., & Lajolo, F. M. (1981). Composition and digestibility of albumin, globulins, and glutelins from *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29(5), 1068-1074.
- Morry, J., Ngamcherdtrakul, W., & Yantasee, W. (2017). Oxidative stress in cancer and fibrosis: Opportunity for therapeutic intervention with antioxidant compounds, enzymes, and nanoparticles. *Redox Biology*, 11, 240-253.
- Mullins, A. P., & Arjmandi, B. H. (2021). Health benefits of plant-based nutrition: focus on beans in cardiometabolic diseases. *Nutrients*, 13(2), 519.
- Nawrot, R., Barylski, J., Nowicki, G., Broniarczyk, J., Buchwald, W., & Goździcka-Józefiak, A. (2014). Plant antimicrobial peptides. *Folia Microbiologica*, 59(3), 181-196.
- Nosworthy, M. G., Medina, G., Franczyk, A. J., Neufeld, J., Appah, P., Utioh, A., Frohlich P. & House, J. D. (2018). Effect of processing on the in vitro and in vivo protein quality of beans (*Phaseolus vulgaris* and *Vicia faba*). *Nutrients*, 10(6), 671.
- Orona-Tamayo, D., Valverde, M. E., & Paredes-López, O. (2019). Bioactive peptides from selected latin american food crops - A nutraceutical and molecular approach. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(12), 1949-1975.



- Oseguera-Toledo, M. E., de Mejia, E. G., Dia, V. P., & Amaya-Llano, S. L. (2011). Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hydrolysates inhibit inflammation in LPS-induced macrophages through suppression of NF- $\kappa$ B pathways. *Food Chemistry*, 127(3), 1175-1185.
- Paredes López O. Guevara Lara F., et al., (2013). Los alimentos mágicos de las culturas indígenas mesoamericanas Volumen 197 de Ciencia para Todos. Fondo de Cultura Económica Mexico. 59-80
- Pusztai, A., Bardocz, S., & Ewen, S. W. (2008). Uses of plant lectins in bioscience and biomedicine. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 13(3), 1130-1140.
- Rivera del Rio, A., Boom, R. M., & Janssen, A. E. (2022). Effect of fractionation and processing conditions on the digestibility of plant proteins as food ingredients. *Foods*, 11(6), 870.
- Roy, M., Sarker, A., Azad, M. A. K., Shaheb, M. R., & Hoque, M. M. (2020). Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of dark red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) protein hydrolysates. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(1), 303-313.
- Salas, C. E., Badillo-Corona, J. A., Ramírez-Sotelo, G., & Oliver-Salvador, C. (2015). Biologically active and antimicrobial peptides from plants. *Biomed Research International*, 2015, 102129-102129.
- Sathe, S. K. (2002). Dry bean protein functionality. *Critical reviews in biotechnology*, 22(2), 175-223.
- Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. (2017). Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: A review. *Food Research International*, 101, 1-16.
- Swarnalakshmi, K., Yadav, V., Tyagi, D., Dhar, D. W., Kannepalli, A., & Kumar, S. (2020). Significance of plant growth promoting rhizobacteria in grain legumes: Growth promotion and crop production. *Plants*, 9(11), 1596.
- Vitale, A., & Bollini, R. (2017). Legume storage proteins. In *Seed development and germination* (pp. 73-102). Routledge Ed. New York E.E.U.U.
- Wang, Q., Huang, L., & Yue, J. (2017). Oxidative stress activates the TRPM2-Ca<sup>2+</sup>-CaMKII-ROS signaling loop to induce cell death in cancer cells. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1864(6), 957-967.
- Wong, R. S. (2011). Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 30(1), 87.
- Xie, J., Ye, H., Du, M., Yu, Q., Chen, Y., & Shen, M. (2020). Mung bean protein hydrolysates protect mouse liver cell line Nctc-1469 cell from hydrogen peroxide-induced cell injury. *Foods*, 9, 14.

## Obtención y evaluación de propiedades antioxidantes de extractos de orégano (*Lippia graveolens*), eucalipto (*Eucalyptus cinerea*) y chile jalapeño (*Capsicum annuum cv.*).

Villagomez Zaldivar G.<sup>1,\*</sup>, González Victoriano L.<sup>1</sup>, Chanona Pérez J.<sup>1</sup>, Ferrer González B.<sup>1</sup>, Gutiérrez Martínez M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Av. Wilfrido Massieu s/n Esq. Manuel L. Stampa s/n. Col. Zacatenco, C.P. 07738. Delegación Gustavo A. Madero, Ciudad de México.  
[\\*gvillagomezz1500@alumno.ipn.mx](mailto:*gvillagomezz1500@alumno.ipn.mx)

### RESUMEN

En este estudio se determinaron propiedades antioxidantes y contenido de fenoles totales de extractos de orégano (*Lippia graveolens*), eucalipto (*Eucalyptus cinerea*) y chile jalapeño (*Capsicum annuum cv.*). Para ello, el contenido de fenoles totales se determinó mediante la técnica de Folin Ciocalteu y actividad antioxidante por el método de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) a las horas 1, 2 y 3 correspondientes a la duración del proceso de extracción. Los resultados obtenidos indicaron que la mayor cantidad de compuestos fenólicos fue presentada por el orégano a la hora 3 (23.465±0.143 mg AG/ g MS), con respecto a los demás extractos vegetales. Mientras que para la actividad antioxidante el eucalipto presentó el mayor porcentaje de inhibición (80.34 %), frente a la captación de radicales libres de DPPH, reflejando de esta manera su alta actividad antioxidante. De los resultados anteriores, se puede concluir que el extracto de eucalipto fue el que tuvo mayor potencial nutracéutico, sin embargo, tanto extracto de chile como de orégano presentaron buenas propiedades antioxidantes y en consecuencia podrían tener buenas propiedades nutracéuticas, las cuales podrían aprovecharse para futuras aplicaciones en áreas como tecnología de alimentos, farmacéutica, industria cosmética, agrícola, entre otros.

**Palabras clave:** Secado, Extractos vegetales, Polifenoles, Antioxidantes, Capacidad nutracéutica

### ABSTRACT

In this study, antioxidant properties and total phenol content of extracts of oregano (*Lippia graveolens*), eucalyptus (*Eucalyptus cinerea*) and jalapeno pepper (*Capsicum annuum cv.*) were determined. To do this, the total phenol content was determined using the Folin Ciocalteu technique and antioxidant activity by the DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazil) at hours 1, 2, and 3 corresponding to the duration of the extraction process. The results obtained indicated that the highest amount of phenolic compounds was presented by oregano at hour 3 (23,465±0,143 mg AG / g MS), with respect to the other plant extracts. While for antioxidant activity eucalyptus presented the highest percentage of inhibition (80.34%), compared to the uptake of free radicals of DPPH, thus reflecting its high antioxidant activity. From the above results, it can be concluded that eucalyptus extract was the one that had the greatest nutraceutical potential, however, both chili and oregano extract presented good antioxidant properties and consequently could have good nutraceutical properties, which could be used for future applications in areas such as food technology, pharmaceuticals, cosmetic industry, agricultural, among others.

**Key words:** Drying, Vegetable extracts, Polyphenols, Antioxidants, Nutraceutical capacity

## INTRODUCCIÓN

Los extractos naturales de diversas plantas y vegetales contienen una gran variedad de compuestos fitoquímicos, que son de suma importancia, puesto que tienen extensas aplicaciones en diversas áreas, principalmente por su potencial nutraceutico. En la actualidad, los nutraceuticos vegetales han sido ampliamente estudiadas debido a sus efectos potencialmente benéficos, tales efectos se han atribuido a la presencia de compuestos bioactivos que están presentes de forma natural en los alimentos o plantas. Estos compuestos bioactivos se clasifican principalmente en terpenos, compuestos fenolicos y alcaloides (Taroncher *et al.*, 2021).

Los compuestos fenolicos pueden extraerse de alimentos de origen vegetal (frutas y legumbres) o plantas, son compuestos que proporcionan atributos de calidad como sabor, apariencia y otras propiedades organolépticas. Sin embargo, su importancia radica, en que son los responsables de los principales efectos de los nutraceuticos vegetales, ya que confieren capacidad antioxidante, en algunos casos contribuyen a la actividad antimicrobiana, o bien sobre las propiedades medicinales, etc. (Bostanci *et al.*, 2022).

Diversas investigaciones han demostrado que los extractos obtenidos de plantas presentan alto contenido de compuestos bioactivos, antibacterianos, antifungicos, y propiedades anticancerígenas (Mahato *et al.*, 2022). Es importante mencionar que el chile jalapeño (*Capsicum annuum cv.*), el eucalipto (*Eucalyptus cinerea*) y el orégano (*Lippia graveolens*), son materias vegetales que comparten la característica de poseer buena actividad antioxidante, debido a su alto contenido compuestos fenolicos (Torres, 2020; Flores-Hernández *et al.*, 2011). Aunado a lo anterior, el método de extracción de Soxhlet es una técnica que ha adquirido popularidad con el paso de los años puesto que permite la extracción de componentes importantes de la materia vegetal, y esto es dado principalmente por la característica de reflujo que posee esta técnica (Caldas, 2012; Cazar & Toledo, 2021).

El presente trabajo busca la implementación de un secado de 3 alimentos vegetales seguido del uso de la técnica de Soxhlet para obtener una buena extracción de compuestos fenolicos presentes en las muestras. Además, esta investigación también se centra en la determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de los extractos vegetales con la finalidad de conocer sus propiedades nutraceuticas, lo cual ayudara a determinar su uso para futuras aplicaciones.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Procesamiento de la muestra

Las muestras vegetales de orégano (*Lippia graveolens*), eucalipto (*Eucalyptus cinerea*) y chile (*Capsicum annuum cv.*) fueron lavadas, secadas y reducidas de tamaño de partícula para su posterior determinación de color mediante el colorímetro (COLORIMETER CS-10 CHN Spec). Obteniendo así los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , según la norma CIELAB, esta técnica también se realizó para las muestras deshidratadas deshidratadas (Mendoza-Sánchez *et al.*, 2015; Boroski *et al.* 2012; Cardona Serrate, 2020).

Posteriormente, se realizó un secado convectivo, mediante un secador de lecho fluidizado Sherwood Scientific, a 60° C durante 3 h tanto para el orégano, como el eucalipto. Mientras que para el chile jalapeño la deshidratación se llevó a cabo en un secador en charolas (JAYETEC) a una temperatura de 60°C durante 4 h.

### Obtención de extractos

Los extractos se obtuvieron pesando 15 g de materia seca de cada muestra vegetal, los cuales se procesaron individualmente por medio del método de Soxhlet, utilizando 150 mL de etanol al 95%, por un periodo de 3 horas. Se tomaron muestras de cada extracción a la hora 1, 2 y 3 posterior al inicio del reflujo dentro del sistema (González-Guñez *et al.*, 2016; Delgado, 2018; Arias *et al.*, 2020). Posteriormente, se realizó la concentración de los extractos, evaporando el disolvente en rotavapor BUCHI R-300 a presión reducida (126 mbar). Finalmente, los extractos se trasvasaron a contenedores ámbar y se conservaron en refrigeración a 4°C.

### Contenido de fenoles totales

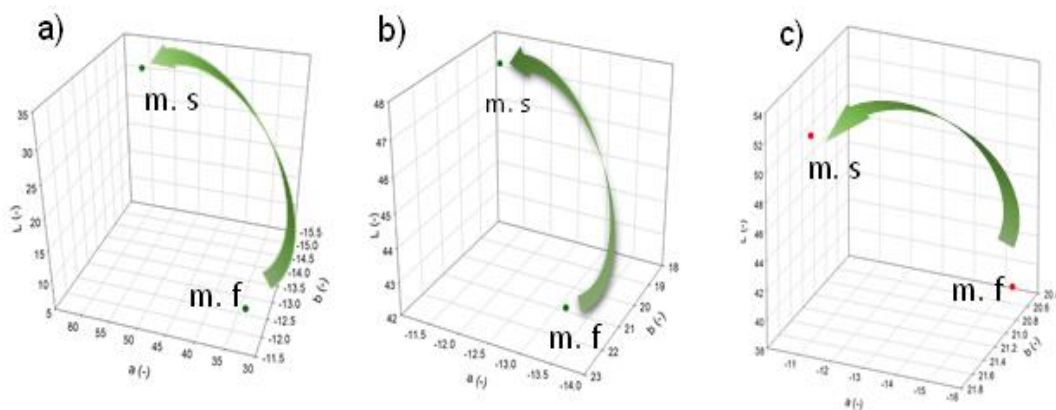
El contenido de fenoles totales se determinó por la técnica colorimétrica de Folin Ciocalteu. Se realizaron las diluciones correspondientes para las muestras de cada extracto, tomadas a intervalos de una hora, enseguida se adicionaron alícuotas de 1.58 mL de dichas diluciones, se oxidaron con el reactivo de Folin-Ciocalteu, después de 8 min la reacción se neutralizó con carbonato de sodio al 20%. La mezcla se incubó durante 15 min a 50°C. Posteriormente la absorbancia se midió a 765 nm frente a un blanco. Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de ácido gálico AG/g de MS (muestra seca) (Mendoza-Sánchez, 2015).

### Potencial nutracéutico

Se cuantificó la actividad antioxidante por medio del método de radicales libres DPPH. Inicialmente se diluyeron las muestras tomadas a diferentes lapsos de tiempo de cada extracto individual. Se mezclaron 0.05 mL de las diluciones correspondientes, con 1.95 mL de solución DPPH metanol (0.1 mM). enseguida, se trazó una cinética de reacción durante una hora, determinando así, el porcentaje de inhibición a 517 nm (Mendoza-Sánchez *et al.*, 2015; Muñoz Jáuregui *et al.*, 2014; Granados *et al.*, 2015; Sarmiento, 2020). Los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

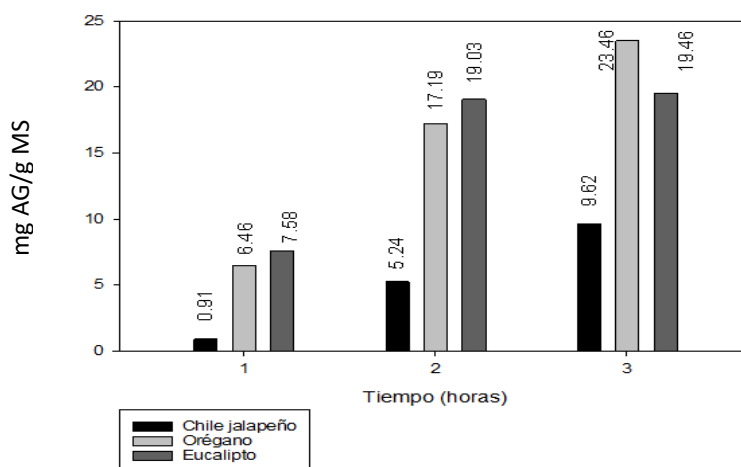
El secado es un proceso recomendable de llevar a cabo previo a operaciones de maceración y extracción sólido-líquido de materiales orgánicos, dado que éste rompe la pared celular de los mismos, facilitando la interacción entre el solvente y el interior de la estructura del sólido. Aunado a lo anterior, se favorece un contacto más efectivo entre el material orgánico y el solvente, ya que el rompimiento de la pared celular maximiza el área de transferencia de masa que a su vez propicia un mejor fluido interfacial (De la Cruz-Leonardo, 2011). El patrón de comportamiento de las muestras secas se mantuvo en las tres materias vegetales, como se observa en la Fig. 1, el parámetro luminosidad  $L^*$  aumentó, al igual que  $b^*$  (tonos que van de amarillo a azul). Mientras que valores de  $a^*$  (denota tonos de rojo a verde) tuvo una variación mínima con respecto a la inicial, lo que indica en general que las muestras secas se desplazaron hacia el blanco y amarillo, siendo así, más luminosas, por otro lado, valores de  $a^*$  indican que los tonos verdes se mantuvieron. En general dichos resultados pueden ser causa del fenómeno de pardeamiento químico o enzimático provocado por el proceso de secado (Cardona, 2020). De la misma forma, se puede atribuir una relación entre el color y la cantidad de fenoles presentes en la materia vegetal, ya que se sabe que dichos compuestos contribuyen a la pigmentación de muchas partes de las plantas, además, cuando los fenoles son oxidados se da lugar a la formación de las quinonas, las cuales propician un color pardo, como el mencionado con anterioridad. (Gimeno-Creus, 2004).



**Figura 1.** Gráficas de desplazamientos de los parámetros de color CIELab de **a)** Chile jalapeño (*Capsicum annum cv.*); **b)** Orégano (*Lippia graveolens*) y **c)** Eucalipto (*Eucalyptus cinérea*). m.s- muestra seca, m.f- muestra fresca.

### Cuantificación de fenoles totales.

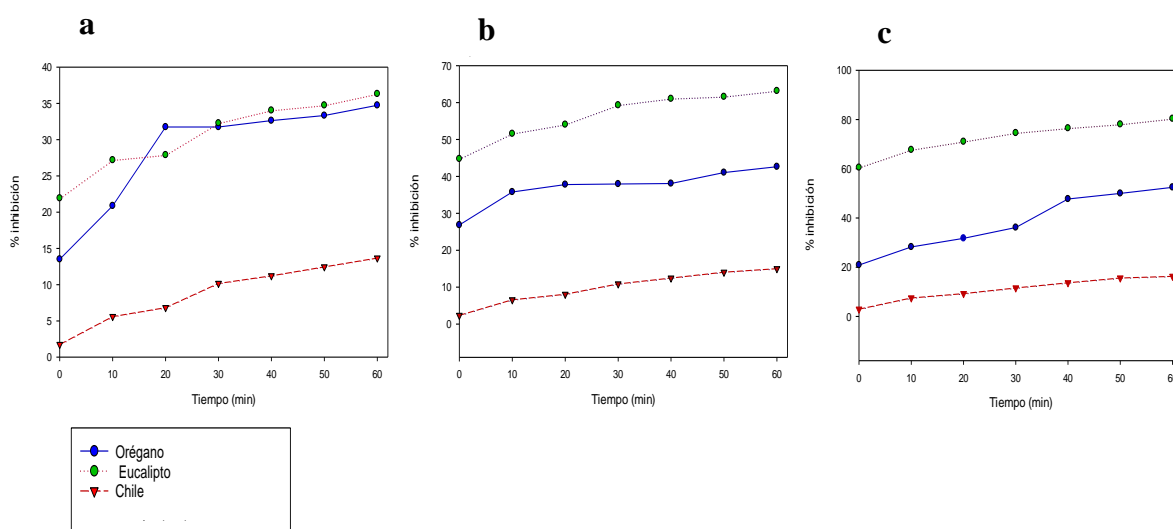
La presencia de compuestos fenólicos es una característica de gran importancia, puesto que principalmente se les atribuye la actividad antibacteriana y/o antifúngica presente en las materias vegetales. Asimismo, muestran una relevante actividad antioxidante que puede proteger al cuerpo humano de los radicales libres (Torres, 2020). En la Fig. 2, se muestran los resultados del contenido de fenoles totales presentes en el orégano (*Lippia graveolens*), chile (*Capsicum annum cv.*) y eucalipto (*Eucalyptus cinérea*), calculados como los equivalentes de AG, datos que presentaron una variación significativa entre ellos. Como se observa, la mayor cantidad de polifenoles totales fue detectada en el orégano a la tercera hora de extracción con un valor de  $23.465 \pm 0.143$  mg AG/g MS, seguido del eucalipto con  $19.459 \pm 0.162$  mg AG/g MS; finalmente quedando el chile con  $9.617 \pm 0.0386$  mg AG/g MS. Los valores reportados en bibliografía de las tres diferentes muestras, obtenidas por diversos métodos de extracción, son de 6.80-8.60, 1.96, 3.49-5.04 mg AG/g MS de orégano, eucalipto y chile, respectivamente. Dado lo anterior, se puede atribuir el aumento en la cantidad de fenoles al pretratamiento aplicado a las muestras, así como al método de extracción efectuado.



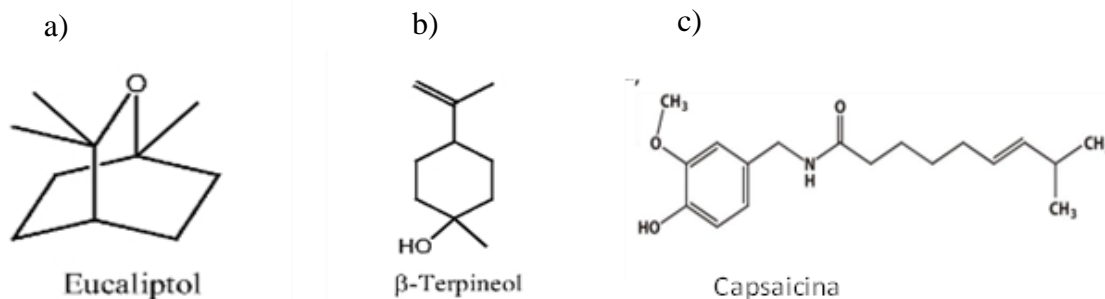
**Figura 2.** Cuantificación de polifenoles totales de los extractos de chile jalapeño (*Capsicum annum cv.*), orégano (*Lippia graveolens*) y eucalipto (*Eucalyptus cinérea*).

### Propiedad nutraceutica

La actividad antioxidante se determinó sobre la base de actividad de barrido de radicales libres DPPH. Los resultados obtenidos se encuentran reflejados en la Fig. 3, a las diferentes h de extracción, donde se observa que a la hora 3 se obtuvo mayor actividad antioxidante para los tres extractos al minuto 60, presentando un porcentaje de inhibición de 52.46% para orégano, 80.34% en el caso de eucalipto, y 16.32% para chile jalapeño. Dado lo anterior, se observa que el eucalipto es la muestra que presenta mayor actividad antioxidante, sin embargo, se esperaba que el orégano presentará mayor porcentaje de inhibición, dado que fue el que obtuvo mayor cantidad de fenoles totales, no obstante, esto puede ser debido al tipo de fenoles presentes en las muestras, además que el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico, por lo que mide preferentemente la capacidad antioxidante de compuestos poco polares o no polares (Torrenegra-Alarcón *et al.*, 2019; Boroski *et al.*, 2012), de acuerdo a lo mencionado, si se considera que las estructuras de los principales compuestos reportados en bibliografía se mantienen durante el proceso de obtención de los mismos, entonces, se puede deducir que las estructuras de dichos compuestos influyen, lo que se puede apreciar en la Fig. 4, donde el eucaliptol tiene una estructura considerada estable, que, como resultado, puede presentar menor polaridad que el terpinen-4-ol, que a su vez dada su estructura, pudiese tener una menor polaridad a la de la capsaicina.



**Figura 3.** Determinación del % de inhibición mediante un barrido de radicales libres DPPH de los extractos, a diferentes tiempos: **a)** Hora 1 de extracción; **b)** Hora 2 de extracción; **c)** Hora 3 de extracción.



**Figura 4.** Componentes principales presentes en extractos de **a)** Eucalipto (*Eucalyptus cinérea*); **b)** Orégano (*Lippia graveolens*); **c)** Chile jalapeño (*Capsicum annum cv.*) (Torres, 2020; Tellez & Nolazco, 2017; Quispe-Flores, 2017).

Resultados similares fueron reportados por Mendoza-Sánchez *et al.* 2015, donde el porcentaje de inhibición de extractos acuosos del chile jalapeño en estado verde fue de 19.42%, mientras que, para el eucalipto (miel de eucalipto) se reportó por Muñoz Jáuregui *et al.* 2014, con un porcentaje de inhibición de 64,73 %, el cual es un valor menor al obtenido, esto puede ser causado gracias a que el origen de las muestras difiere, siendo una miel de eucalipto (procesada) la evaluada en dicho estudio. De la misma manera, Granados *et al.* 2015 reportó un % de inhibición para *Eucalyptus camaldulensis* menor al 10%, dicho dato supone que las composiciones químicas de los eucaliptos son diferentes, por ende, varían en función de los diversos orígenes, lo cual, pudiese explicar que, en especies de eucalipto de otras regiones, sí se presenta una buena capacidad antioxidante frente al radical DPPH, como es el caso de la muestra evaluada en este artículo. Por otro lado, el valor reportado por Sarmiento 2020 para el orégano fue una inhibición promedio de 50.77% para una muestra de orégano en la que se combinaron técnicas de procesos de secado y ultrasonido durante la obtención del extracto.

### CONCLUSIÓN

Los extractos vegetales estudiados mostraron importantes contenidos de fitoconstituyentes, dando como resultado una alta actividad antioxidante, lo cual podría contribuir en gran medida a su capacidad nutracéutica. Por lo que, estas plantas podrían explotarse ampliamente para futuras aplicaciones en el desarrollo de productos o compuestos nutracéuticos.

### BIBLIOGRAFÍA

- Arias, J., Mejía, J., Córdoba, Y., René-Martínez, J., Stashenko, E., del Valle, J. M. (2020) Optimization of flavonoids extraction from *Lippia graveolens* and *Lippia origanoides* chemotypes with ethanol-modified supercritical CO<sub>2</sub> after steam distillation. *Industrial Crops and Products*. 146: 112170. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112170>
- Beltrán Cifuentes, M.C., Peláez Gutiérrez, E.C., Estrada Álvarez, J. M., Escobar Ríos, J.A., Serna Ángel, L., & Ríos Morales, D. (2010). Estudio farmacognóstico para el cuidado de la salud a partir de aceites esenciales obtenidos por destilación de arrastre de vapor. *Investigaciones Andina*, 12(20), 8-18.
- Boroski, M., Giroux, H.J., Sabik, H., Petit, H.V., Visentainer, J.V., Matumoto-Pintro, P.T., Britten, M. (2012). Use of oregano extract and oregano essential oil as antioxidants in functional dairy beverage formulations. *LWT - Food Science and Technology*. 47(1): 167-174. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.018>
- Boroski, M., Giroux, H.J., Sabik, H., Petit, H.V., Visentainer, J.V., Matumoto-Pintro, P.T., Britten, M. (2012). Use of oregano extract and oregano essential oil as antioxidants in functional dairy beverage formulations. *LWT - Food Science and Technology*. 47(1): 167-174. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.018>
- Bostanci, M. T., Bulbul, A. S., Celik, I. S., Kocabas, Y. Z., Burhan, H., Bayat, R., Sen, F., Zakariae, N., Esmaili, R., Jafari, H., Karimi, F., & Karimi-Maleh, H. (2022). Investigation of antibacterial, antifungal, antibiofilm, antioxidant and anticancer properties of methanol extracts of *Salvia marashica* İlçim, Celep & Doğan and *Salvia caespitosa* Montbret & Aucher ex Benth plants with medicinal importance. *Chemosphere*, 288(Pt 2): 132602. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132602>
- Caldas Ávila, A.P., (2012). Optimización, escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido. *Ingeniería Química, Escuela de ingeniería Química, Facultad de ciencias químicas*. Cuenca. 10-47
- Cardona Serrate, F. (2020). Alteraciones no microbianas en alimentos: el pardeamiento y el enranciamiento. E.T.S. de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural. Universitat Politècnica de València. 1-8.
- Cazar Hidalgo, F.C., Toledo Aguilar, A. R. (2021). Actividad antioxidante de extractos etanólicos y acuosos de hojas senescentes de *Terminalia catappa* y la actividad inhibitoria sobre *Edwardsiella*

- tarda. Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales. Universidad Politécnica Salesiana. Quito. 1-57
- Delgado Zegarra, K.R. (2018). Optimización de los métodos de obtención de la capsaicina del ají limo (*Capsicum sinense jacq*) para la determinación de la dosis letal (DL50) del pulgón verde (aphididae). Repositorio Institucional de la UNSA. Recuperado: <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/5923>
- Gimeno-Creus, E. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Ámbito Farmacéutico, Nutrición*. 23(6):80-84.
- González-Guiñez, R., Silva-Aguayo, G., Urbina-Parra, A., Gerding-González, M. (2016). Aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill y *Eucalyptus nitens* H. Deane & Maiden (Myrtaceae) para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*. 32(3):204-216.
- Granados, C., Santafé, G., Acevedo Correa, D. (2015). Composición química y evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Eucalyptus camaldulensis* de Norte de Santander (Colombia). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*. 18(1): 235–240. <https://doi.org/10.31910/rudca.v18.n1.2015.477>
- Mahato, K.D., Kargwal, R., Kamle, M., Sharma, B., Pandi, S., Mishra, S., Gupta, A., Mahmud, M.C., Gupta, M.K., Singha, B.L., & Kumar, P. (2022). Ethnopharmacological properties and Nutraceutical potential of *Moringa oleífera*. *Phytomedicine plus*, 2: 100168.
- Mehnaza M., Jagmohan S., Adil G. (2021). Characterization of apple (*Malus domestica*) seed flour for its structural and nutraceutical potential. *LWT*, 151: 112138. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112138>
- Mendoza-Sánchez, L.G., Mendoza-López, M.R., García-Barradas, O., Azuara-Nieto, E., Pascual-Pineda. L.A., Jiménez-Fernández, M. (2015) Propiedades fisicoquímicas y antioxidantes del chile jalapeño (*Capsicum annum* var. *annuum*) durante almacenamiento. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 21(3): 229-241. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2015.06.010>
- Muñoz Jáuregui, A.M., Alvarado-Ortíz Ureta, C., Blanco Blasco, T., Castañeda Castañeda, B., Ruiz Quiroz, J., Alvarado Yarasca, A. (2014). Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 80(4), 287-297.
- Sarmiento Gonzaga, C.D. (2020). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial se orégano (*Origanum vulgare*), obtenido a partir de dos pretratamientos. Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales. Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. 1-70.
- Taroncher, M., Vila-Donat, P., Tolosa, J., Ruiz, M.J., Rodríguez-Carrasco, Y. (2021). Biological activity and toxicity of plant nutraceuticals: an overview. *Current Opinion in Food Science*. 42:113-118. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.05.008>
- Téllez Monzón, L.A., Nolzco Cama, D.M. (2017). Estudio de la composición química del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* spp.) de Tacna. *Ingeniería Industrial*. (35): 195-205. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=337453922010>
- Thornton Morrison, R., Neilson Boyd, R. (1998). Capítulo 1. Estructura y propiedades. En: *Química Orgánica*. Zagazagoitia Herranz, R., Fiedler, P., Rock, C. Editorial Pearson. México. 1-36.
- Torrenegra-Alarcón, M.E., León-Méndez. G., Granados-Conde, C. (2019). Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill. *Revista Cubana de Farmacia*. 52(1):e266.
- Torres Ventura, H.H. (2020). “Potencial antibacteriano de extractos de *Capsicum annum* L. var. *Aviculare*” Doctorado en ciencias en alimentos. Escuela Nacional



## Efecto de tratamientos domésticos de cocción sobre la capacidad antioxidante de quintonil (*Amaranthus hybridus*), un cultivo poco valorado

Campos-González N<sup>a\*</sup>, Sosa-Morales M.A<sup>a</sup>, Lopez-Martínez L.X<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Posgrado en Biociencias, Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex-Hacienda El Copal, Carretera Irapuato-Silao km 9, C.P 36500, Irapuato, Guanajuato, México.

<sup>b</sup> CONACYT- Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C., Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales. Carretera Gustavo Enrique Astiazarán No. 46 Rosas, CP. 83304. Col. La Victoria, Hermosillo, Sonora, México.

\*n.camposgonzalez@ugto.mx

### RESUMEN

El presente estudio evaluó los efectos de la cocción (hervido y al vapor) sobre el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT), la capacidad antioxidante determinada por DPPH y ORAC y la inhibición de la formación de óxido nítrico (NO) y peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>) de quintonil. Los CFT aumentaron durante la cocción al vapor en 10.2 veces. Los valores de DPPH oscilaron entre 284.7 y 3014.0  $\mu\text{mol ET/g}$ , para ORAC se mostraron valores de 123.1, 318.6 y 3228.5  $\mu\text{mol TE/100 g}$  para quintonil crudo, hervido y al vapor, respectivamente. La capacidad para neutralizar al NO varió entre un 10.55 al 83% y los valores de ONOO<sup>-</sup> no fueron afectados por los tratamientos de cocción. Se observó que la cocción al vapor produce una mayor liberación de compuestos fenólicos y una mayor actividad antioxidante del quintonil. Los tratamientos de cocción demostraron liberar más compuestos fenólicos debido a la destrucción de las estructuras celulares; aunque también puede ocurrir la liberación de enzimas oxidativas que pueden inactivar los compuestos fenólicos. La cocción al vapor parece desactivar mayoritariamente a estas enzimas evitando que ocurra la pérdida de los compuestos fenólicos.

**Palabras clave:** *Amaranthus hybridus*; capacidad antioxidante; compuestos fenólicos; quintonil, tratamientos de cocción

### ABSTRACT

This study evaluated the effects of cooking (boiling and steaming) on the content of total phenolic compounds (TPC), the antioxidant capacity determined by DPPH and ORAC and the inhibition of the formation of nitric oxide (NO) and peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>) on quintonil. TPC increased during steaming by 10.2 times. DPPH values ranged between 284.7 and 3014.0  $\mu\text{mol ET/g}$ , for ORAC values of 123.1, 318.6 and 3228.5  $\mu\text{mol TE/100 g}$  were obtained for raw, boiled, and steamed quintonil, respectively. The capacity to neutralize NO ranged between 10.55 to 83%, and the ONOO<sup>-</sup> values were not affected by the cooking method. The steam cooking produces a greater release of phenolic compounds and greater antioxidant activity of quintonil. The cooking treatments proved to be able to release more phenolic compounds due to the destruction of the cellular structures; although the release of oxidative enzymes, which may inactivate phenolic compounds. Steam cooking seems to largely deactivate these enzymes to prevent loss of phenolic compounds.

**Keywords:** *Amaranthus hybridus*; antioxidant capacity; phenolic content; quintonil, cooking treatment

## INTRODUCCIÓN

El quintonil (*Amaranthus hybridus*) pertenece a la familia de los quelites, un grupo de plantas silvestres y cultivables con follaje comestible que se encuentra ampliamente distribuido en toda la república mexicana, sin embargo, se considera un cultivo subvalorado y poco utilizado a pesar de que posee un notable valor nutritivo debido a su contenido de vitaminas, minerales y un contenido de proteínas de 3.65% (Santiago-Saenz *et al.*, 2018). Además, es capaz de contribuir con aproximadamente un 30% a los requerimientos diarios de fibra, con casi un 25% a la ingesta diaria recomendada de proteínas, al consumir 100 g de hojas frescas (FND, 2002). El consumo de una dieta rica en vegetales juega un papel importante en la disminución de distintas patologías como enfermedades cardíacas, cerebrovasculares, diabetes y diferentes tipos de cáncer (Tomás *et al.* 2017). Los beneficios se han relacionado con el contenido de carotenoides, vitaminas y compuestos fenólicos. Típicamente, el quintonil se consume crudo (como ensalada) o después de cocinar (hervido, frito o al vapor), afectando el contenido de fitoquímicos, así como su capacidad antioxidante. El presente estudio determinó el efecto diferentes formas de cocción (hervido, freído y al vapor) sobre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos acuosos obtenidos a partir de hojas de quintonil con el fin de resaltar sus beneficios para la salud y promover su consumo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El quintonil fue cosechado en la comunidad de San Lorenzo Tlacotepec, Atlacomulco, Estado de México. La cocción por hervido se realizó con agua a 93°C y presión atmosférica durante 10 min. Para la cocción al vapor, las hojas de quintonil se cocieron en una vaporera de acero inoxidable por incidencia directa de vapor saturado por 10 min. Después de los tratamientos, las muestras se colocaron en un baño de agua a 4°C por 30 s para detener la cocción. Se tomaron 5 g de las hojas (crudas, cocidad y al vapor) previamente trituradas, se depositaron en tubos y se le añadieron 20 mL de agua destilada. Las muestras fueron sonicadas por 30 min en sonicador (Bransonic, modelo 2510R-DTH, Connecticut, EUA) y posteriormente se centrifugó a 18407 x g por 15 min a 4 °C. Los sobrenadantes fueron recuperados y los residuos lavados dos veces con 10 mL de agua destilada y posteriormente centrifugados como se describió anteriormente. Los sobrenadantes se filtraron a través de papel Whatman No. 1 y el volumen obtenido se aforó a 50 mL. Los extractos se conservaron a una temperatura de -35 °C para las próximas determinaciones (Campos-Gonzalez, 2019).

El contenido de compuestos fenólicos se analizó con el reactivo de Folin-Ciocalteu acorde a lo descrito por Singleton y Rosi (1999), 30 µL de la extracción se hicieron reaccionar con 150 µL del reactivo Folin-Ciocalteu, previamente diluido 1:10 v/v con agua destilada. Se incubó por 5 min y se adicionaron 120 µL de carbonato de sodio (7.5%). La mezcla se incubó por 2 h en la oscuridad y la absorbancia se midió a 765 nm utilizando un lector de microplacas (FLUOstar OMEGA, modelo SN/415-0695, EUA). El contenido de CFT se calculó empleando una curva de calibración de ácido gálico (0.04-0.80 mg/mL) y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/ 100 g peso fresco (PF). La capacidad antioxidante se determinó por los métodos de DPPH y ORAC siguiendo la metodología de Huang *et al.* (2005) y Huang *et al.* (2002), respectivamente. Para la medición por DPPH, se transfirió una alícuota de 20 µL de cada muestra a una microplaca de fondo plano Costar® de 96 pocillos y se permitió que reaccionara con una solución de DPPH 200 µM (280 µL). La mezcla se incubó en la oscuridad durante 30 min a temperatura ambiente y se determinó la disminución de la absorbancia a 540 nm con un lector de microplacas. Se empleó la curva de Trolox de 0,05–1 mmol TE/g para calcular los resultados, que se expresan como µmol de equivalentes de Trolox por 100g (µmol ET/ 100g PF).

El ensayo ORAC se realizó utilizando fluoresceína como reactivo de fluorescencia, AAPH (diclorhidrato de 2,2-azobis (2-amidino-propano)) se utilizó como generador de radicales peroxilo y

Trolox se utilizó como estándar. La mezcla de reacción contenía 25  $\mu\text{L}$  de extracto, 25  $\mu\text{L}$  de tampón fosfato 75 mM (pH 7,4), 75  $\mu\text{L}$  de AAPH 0,8 M y 200  $\mu\text{L}$  de fluoresceína 0,106  $\mu\text{M}$ . Los extractos, el tampón fosfato y la fluoresceína se incubaron a 37 °C durante 15 min. Se añadió AAPH para iniciar la reacción y se midió la fluorescencia cada 70 s durante 70 min con un filtro de excitación de 485 nm y un filtro de emisión de 580 nm utilizando un espectrofotómetro Synergy HT. Los valores se calcularon utilizando una ecuación de regresión que describe la relación entre la concentración de Trolox y el área neta bajo la curva de descomposición de la fluoresceína. Se utilizó la curva de Trolox de 6,25 a 125 ( $\mu\text{mol TE/g}$ ) para estimar los resultados, que se expresaron como  $\mu\text{mol}$  de equivalente de Trolox por 100 g PF ( $\mu\text{mol ET/100 g PF}$ ).

La inhibición de la formación de NO se determinó utilizando nitroprusiato de sodio y agente de Griess (Giraldo y col. 2003) La absorbancia se midió a 546 nm. Una muestra de control que no contenía extracto y una muestra en blanco contenían todos los reactivos excepto el reactivo de Griess se emplearon para corregir la absorbancia de fondo conferida por el extracto de hojas de quintonil o la referencia. El ácido ferúlico se utilizó como patrón de referencia. El porcentaje de inhibición de la formación de NO fue calculado. La inhibición de la formación ONOO<sup>-</sup> se evaluó acorde a Fábila-Garca *et al.* (2019). El ONOO<sup>-</sup> se sintetizó mezclando 20 mL de una solución ácida (HCl 0,6 M) de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,7 M) con 20 mL de KNO<sub>2</sub> (0,6 M) en hielo durante 10 s, y la reacción se inactivó con 20 mL de NaOH enfriado con hielo (1,2 M). El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> residual se eliminó agregando 10-15 mg de MnO<sub>2</sub>. Luego, la solución se filtró y se congeló durante la noche a -20 °C. La capa superior amarilla formada por el fraccionamiento por congelación se separó por raspado y la concentración de ONOO<sup>-</sup> se determinó a 302 nm, utilizando un coeficiente de extinción molar de 1670 cm<sup>-1</sup> M<sup>-1</sup>.

Los ensayos se realizaron por triplicado, utilizando un diseño completamente al azar para evaluar los efectos de los métodos de cocción sobre CFT y la capacidad antioxidante medida por DPPH y ORAC y el efecto inhibitorio de NO y ONOO<sup>-</sup>. Los tratamientos fueron hojas de quintonil crudas, hervidas y cocidas al vapor. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza simple y los tratamientos se compararon entre sí con una prueba de rangos múltiple de Tukey para establecer diferencias entre los mismos ( $p < 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

México posee una biodiversidad muy vasta, pero cultivos antiguos, incluido el quintonil, se encuentran sin explotar, subvalorados y subutilizados. En un esfuerzo por promover su consumo, se evaluó su capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos. La Tabla 1 muestra que los diferentes tratamientos por cocción afectaron de una manera significativa a los CFT en comparación con las muestras crudas. La cocción con vapor demostró tener un efecto positivo en la liberación de CFT en comparación con el método de hervido. Cuando se sometió el quintonil al hervido, las muestras presentaron una disminución ( $p < 0.05$ ) en comparación con el quintonil crudo (13.55 y 29.21 mg GAE/100 g). Salamatullah *et al.* (2021) determinaron que el tratamiento por cocción disminuye significativamente los valores de compuestos fenólicos en apio (22.22 a 3.01 mg EAG/100 g PF). Por otro lado, en calabazas cocidas se apreció que el proceso de cocción incrementó los contenidos de carotenoides totales, pero en el caso de los compuestos fenólicos se observaron pérdidas a partir de los 6 min (Xu y Chang, 2008). El comportamiento descrito por ambos autores coincide con los datos reportados en nuestra investigación. La pérdida o la ganancia de compuestos fenólicos son una consecuencia principalmente de los métodos de cocción y/o procesamiento, por otro lado, otro factor determinante es la sensibilidad que presenten los compuestos a la degradación o modificación de su estructura (Bernaert *et al.*, 2013; López-García *et al.*, 2018). En el presente estudio el hervido afectó mayoritariamente el contenido de compuestos fenólicos, en comparación con el método de cocción a vapor. La degradación de los compuestos fenólicos depende, además del tratamiento de cocción, de la estructura química del compuesto presente en las hojas de quintonil, además de la lixiviación de compuestos fenólicos hacia el agua de cocción (Bernaert *et al.*, 2013).

En este estudio los valores de capacidad antioxidante fueron influenciados significativamente por los tratamientos de cocción (Tabla 1). Esto puede ser atribuido a que los tratamientos térmicos pueden romper los enlaces glucosídicos de los compuestos fenólicos para formar agliconas, que poseen mayores propiedades antioxidantes (Rohn *et al.*, 2007). Tanto para DPPH como para ORAC los mayores valores fueron encontrados cuando el quintonil fue cocido al vapor. Por ello, para preservar la capacidad antioxidante del quintonil se podría recomendar un tratamiento de cocción indirecto del alimento.

La inhibición de NO varió de 66,71 a 83,32% y para inhibición de ONOO<sup>-</sup> de 27.26 a 31.29 sin mostrar diferencia significativa (Tabla 1). Las actividades de cada extracto contra la formación de NO se encuentran relacionadas con el contenido de compuestos fenólicos, que son reconocidos como eficientes neutralizadores de radicales libres como NO y peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>) (López-Martínez *et al.*, 2012). El NO es una molécula con características de radical libre, que es reducida directamente por los compuestos fenólicos, principalmente por los grupos hidroxilos presentes en la molécula antioxidante. Por otro lado, los compuestos fenólicos pueden reaccionar con el peroxinitrito ya sea dirigiendo la nitración a sus propias estructuras o por medio de la donación de electrones (Coz-Bolaños *et al.*, 2018). Las actividades inhibitorias parecen guardar relación con los contenidos de compuestos fenólicos en las muestras. Las diferencias de inhibición de la formación de ONOO<sup>-</sup> se encuentran relacionadas con la concentración y composición específica de los compuestos fenólicos presentes en las muestras (López-Martínez *et al.*, 2012).

**Tabla 1.** Efecto de los métodos de cocción en el contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en extractos acuosos de hojas de quintonil (*Amaranthus hybridus*).

Tratamiento	CFT	DPPH	ORAC	NO	ONOO <sup>-</sup>
Crudo	29.2 ±0.2 <sup>b</sup>	284.7 ±5.5 <sup>b</sup>	123.1 ±8.1 <sup>c</sup>	66.7 ±4.4 <sup>b</sup>	27.9 ±2.2 <sup>a</sup>
Al vapor	148.4 ±6.3 <sup>a</sup>	3014.0 ±28.9 <sup>a</sup>	3228.1 ±66.5 <sup>a</sup>	82.5 ±3.3 <sup>a</sup>	31.0 ±3.6 <sup>a</sup>
Hervido	13.5 ±2.5 <sup>c</sup>	298.5 ±6.3 <sup>b</sup>	318.8 ±9.1 <sup>b</sup>	83.3 ±6.3 <sup>a</sup>	30.3 ±2.7 <sup>a</sup>

Diferentes letras en la misma columna denotan diferencias ( $p \leq 0.05$ ). CFT: mg EAG/ 100g PF; DPPH y ORAC:  $\mu\text{mol ET/ 100g PF}$ ; NO y ONOO<sup>-</sup>: porcentaje de inhibición.

## CONCLUSIÓN

La cocción al vapor no presentó efectos negativos sobre los compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante de quintonil. La inhibición de NO y ONOO<sup>-</sup> no fue afectada por los tratamientos de cocción en quintonil, sin embargo, la inhibición de ONOO<sup>-</sup> fue mayor para el quintonil crudo (crudo > tratamiento al vapor > hervido). Los resultados obtenidos muestran que el método más efectivo para la conservación de compuestos fenólicos y mantenimiento de la capacidad antioxidante es el tratamiento al vapor. Por ello, es recomendable que al realizar las preparaciones culinarias de este, y posiblemente otros alimentos vegetales similares, se considere la cocción con vapor sobre otros métodos para mantener la funcionalidad natural de los alimentos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bernaert, N., De Loose, M., Van Bockstaele, E., & van Droogenbroeck, B. (2014). Antioxidant changes during domestic food processing of the white shaft and green leaves of leek (*Allium ampeloprasum* var. porrum). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 1168–1174.
- Campos-Gonzalez, N. 2019. Aplicación de Ultrasonido para aumentar la concentración de compuestos bioactivos en una bebida funcional de mango, zanahoria y cúrcuma. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), México.

- Coz-Bolaños, X., Campos-Vega, R., Reynoso-Camacho, R., Ramos-Gómez, M., Loarca-Piña, G. F., & Guzmán-Maldonado, S. H. (2018). Moringa infusion (*Moringa oleifera*) rich in phenolic compounds and high antioxidant capacity attenuate nitric oxide pro-inflammatory mediator in vitro. *Industrial Crops and Products*, 118, 95-101.
- Fabila-Garca, P., Dublán-García, O., Gómez-Oliván, L. M., Baeza-Jiménez, R., & López-Martínez, L. X. (2017). In vitro antioxidant and bioactive properties of corn (*Zea mays* L.). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 67, 300-308.
- FND. (2002). Dietary reference intake for energy, carbohydrate, fibre, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acid (Micronutrients). FND. USA: National Academy of Sciences.
- Giraldo, B. L., Hernández, P. M., Angulo, H. P., & Fuertes, R. C. (2003). Actividad antinitrosativa y antiinflamatoria de los flavonoides de las hojas de *Uncaria tomentosa* Willd. D.C. (uña de gato). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 69, 229-242.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Prior, R. L. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a Microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4437-4444.
- López-García, G., López-Martínez, L. X., Dublán-García, O., & Baeza-Jiménez, R. (2017). Extraction and characterization of the fatty acid profile of quintonil (*Amaranthus hybridus*). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(3), 835-844.
- Lopez-Martinez, L. X., Parkin, K. L., & Garcia, H. S. (2012). Effect of processing of corn for production of masa and tortilla chips on the scavenging capacity of reactive nitrogen species. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 1321-1327.
- Rohn, S., Buchner, N., Driemel, G., Rauser, M., & Kroh, L.W. (2007). Thermal degradation of onion quercetin glucosides under roasting conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 1568-1573.
- Salamatullah, A. M., M. M. Özcan, M. S. Alkaltham, N. Uslu, K. J. J. o. F. P. Hayat. 2021. Influence of boiling on total phenol, antioxidant activity, and phenolic compounds of celery (*Apium graveolens* L) root. *Preservation*. 45(2): e15171.
- Santiago-Saenz, Y. O., A. D. Hernández-Fuentes, R. Monroy-Torres, R. Cariño-Cortés & R. Jiménez-Alvarado. 2018. Physicochemical, nutritional and antioxidant characterization of three vegetables (*Amaranthus hybridus* L., *Chenopodium berlandieri* L., *Portulaca oleracea* L.) as potential sources of phytochemicals and bioactive compounds. *Journal of Food Measurement and Characterization* 12(4):2855-2864.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants, Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Tomas, M., Beekwilder, J., Hall, R. D., Sagdic, O., Boyacioglu, D., & Capanoglu, E. (2017). Industrial processing versus home processing of tomato sauce: Effects on phenolics, flavonoids and in vitro bioaccessibility of antioxidants. *Food Chemistry*, 220, 51-58.
- Xu, B., & Chang, S. K. (2008). Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. *Food Chemistry*, 110(1), 1-13.

## **Análisis de compresión uniaxial para diferentes formulaciones lácteas sólidas**

A.R. Rodríguez-Damián<sup>1</sup>, J.E. Botello-Álvarez<sup>2</sup>, R. Miranda-López<sup>2</sup>, A. Guzmán-López<sup>3</sup> y M.G. Bravo-Sánchez<sup>2</sup>

**1** Estudiante de Doctorado en Ciencias de la Ingeniería. **2** Departamento de Bioquímica y Ambiental. **3** Departamento de Química, Tecnológico Nacional de México en Celaya. Antonio García Cubas 600, colonia Fovissste, C.P. 38010. Celaya, Gto. México. [d1803015@itcelaya.edu.mx](mailto:d1803015@itcelaya.edu.mx)

### **RESUMEN**

El queso es un producto lácteo constituido de proteína, grasa, vitaminas y minerales que son indispensables y de importancia nutricional. El queso panela es un queso suave, cremoso, con delicada textura y agradable sabor a leche fresca y sal, es una de las variedades de queso fresco, con bajo contenido de grasa. La humedad en este tipo de queso confiere desmoronamiento e inestabilidad en la estructura de queso, fenómeno que afecta la firmeza. La incorporación de estabilizantes a la matriz láctea sólida puede mejorar la textura y reología del queso. Actualmente la forma de medir la dureza del queso y otros alimentos similares es por medio del texturómetro, considerado un método instrumental que puede imitar fácilmente la masticación y genera la reproducibilidad de la medida de dureza y fracturabilidad. El análisis de textura uniaxial es una técnica que define lo más exactamente posible la respuesta de viscosidad o elasticidad de un alimento. Se analizaron tres formulaciones lácteas comerciales, sólidas, tipo panela para predecir cómo es el comportamiento de textura. En base a la composición química, se encontró que dos marcas de queso contienen grasa vegetal, esto puede influir en la dureza y firmeza del queso panela.

**Palabras clave:** Textura, compresión uniaxial, viscoelástico, fracturabilidad, dureza, firmeza.

### **ABSTRACT**

Cheese is a dairy product composed of protein, fat, vitamins and minerals that are essential and of nutritional importance. Panela cheese is a soft, creamy cheese, with a delicate texture and a pleasant flavor of fresh milk and salt, it is one of the varieties of fresh cheese, with low fat content. The humidity in this type of cheese confers crumbling and instability in the cheese structure, a phenomenon that affects firmness. The incorporation of stabilizers into the solid milk matrix can improve the texture and rheology of the cheese. Currently the way to measure the hardness of cheese and other similar foods is through the texturometer, considered an instrumental method that can easily mimic chewing and generates reproducibility of the hardness and fracturability measurement. Uniaxial texture analysis is a technique that defines as accurately as possible the viscosity or elasticity response of a food. Three commercial, solid, panela-type dairy formulations were analyzed to predict texture behavior. Based on the chemical composition, it was found that two brands of cheese contain vegetable fat, this can influence the hardness and firmness of the panela cheese.

**Key words:** Texture, uniaxial compression, viscoelastic, fracturability, hardness, firmness.

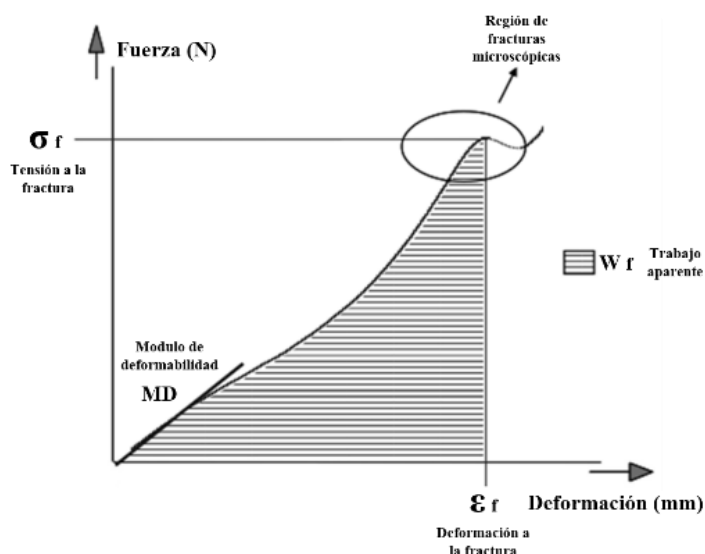
## INTRODUCCIÓN

El queso comparte casi las mismas propiedades nutricionales con la leche, excepto que contiene más grasas y proteínas concentradas. La composición de los quesos varía de un tipo a otro y esta variación depende, principalmente, del contenido de agua, proteínas y grasa (Cunha *et al.*, 2010; Alais, 1985). El queso panela es una de las variedades de queso fresco, son los más bajos en contenido de grasa (Narcía-Reynosa, 2011). Esta variedad de queso es considerada una de las mejores opciones de consumo a nivel mundial por su contenido nutricional y es uno de los quesos que más se consumen en México. Es un queso blanco, suave, cremoso, con una delicada textura y un agradable sabor a leche fresca y sal. Este tipo de queso presenta un contenido de humedad entre 50 y 60% y un pH inicial arriba de 6, por lo que se considera un producto con una vida de anaquel limitada aún a temperaturas de refrigeración (Ochoa-Flores *et al.*, 2013). El queso fresco debe su alto nivel de humedad al suero que retiene durante la coagulación de las caseínas durante su producción (Lobato-Calleros *et al.*, 2000), es un sistema metaestable que sufre con el tiempo cambios marcados de sus propiedades (Lobato-Calleros *et al.*, 2006). Esta humedad desempeña un papel fundamental en sus atributos sensoriales y de textura, así como vida de anaquel y rendimiento (Escobar *et al.*, 2012). Se han realizado diversos estudios para evitar o disminuir la sinéresis o pérdida de suero del queso, una alternativa es el uso de agentes estabilizantes debido a sus propiedades de ligar agua para permitir una mejor retención de humedad (De Hombre-Morgado, 2017; Udayarajan, 2005; Arango *et al.*, 2013). El queso panela debe contener de un 15-30% de grasa butírica, 17% de proteínas y un 59% de humedad, estos parámetros son referentes de la calidad de producto (Moore *et al.*, 1986; Lluch *et al.*, 1999) en base a la normatividad NMX-F-742-COFOCALEC-2012, que describe al queso panela. La textura es un factor muy importante en la elección y preferencia de los alimentos, además es reconocida como el mayor atributo de su calidad, por encima de la apariencia, el sabor, el olor y la composición nutricional (Osorio-Tobón *et al.*, 2004). Actualmente existe un desconocimiento generalizado del comportamiento reológico y de textura de la mayoría de los productos de índole agropecuario a pesar de que existen técnicas instrumentales (Zúñiga-Hernández *et al.*, 2009). Particularmente en el queso, la textura es uno de los atributos más importantes que ayudan a determinar la identidad de cada tipo de queso, así como la composición química del producto y del arreglo estructural de sus componentes, este último alterado por cambios en el contenido y en el tipo del componente graso (Lobato-Calleros *et al.*, 2009; Gunasekaran & Ak, 2003; Bourne, 2002; Foegeding & Drake, 2007; Carvajal-Cuéllar, 2004).

El queso posee propiedades viscoelásticas, en donde el agua, grasa, burbujas de gas y la caseína (proteína) principal componente estructural, forma una red que puede ser dividida por las fronteras de los gránulos de la cuajada, generando una jaula, donde algunas moléculas de agua se quedan atrapadas lo que le confiere plasticidad al producto (Zúñiga-Hernández *et al.*, 2009). Estas características viscoelásticas y de textura están determinadas por la disposición espacial de sus componentes y las modificaciones durante el proceso de producción (Ramírez-López & Vélez-Ruiz, 2012). Existe una relación directa de la textura con el comportamiento reológico, debido a que la reología estudia la deformación y flujo de las materias primas, productos intermedios y productos terminados (Bourne, 2002).

La evaluación textural está basada en la interpretación de las relaciones de fuerza-deformación, cuya relación puede ser definida experimentalmente a través de una prueba de compresión uniaxial (Zúñiga-Hernández *et al.*, 2009). La compresión uniaxial a velocidad constante es un método que consiste en comprimir una muestra de queso de geometría y dimensiones conocidas mediante un plato descendente a velocidad constante, hasta un nivel de deformación superior al punto de fractura, generalmente a una distancia >60% de su altura original (Ramírez-López & Vélez-Ruiz, 2012), a fin de permitir definir lo más exactamente posible la respuesta reológica del alimento (Bourne, 2002). Los parámetros reológicos obtenidos a través de este método se esquematizan en la Figura 1 y son: el módulo de deformabilidad (MD), estimado como la regresión lineal de la parte inicial de la curva, la tensión o esfuerzo ( $\sigma_f$ ), la deformación ( $\epsilon_f$ ) y la energía ( $W_f$ ) a la fractura (Castañeda, 2002).

Ya que la grasa y la proteína son las principales estructuras moleculares responsables de los parámetros de textura y del aporte energético del queso, se analizaron tres formulaciones lácteas solidas tipo panela. El mercado nacional ofrece una amplia variedad de marcas y presentaciones, aunque algunas no cumplen con la normatividad NMX-F-742- COFOCALEC-2012 la cual establece que el queso panela no puede contener grasa, proteínas de origen diferente a las de la leche, ni almidones (Revista del consumidor, 2017). Existe un mercado de consumo para este tipo de productos, algunos quesos contienen grasa vegetal y gomas.



**Figura 1.** Curva de compresión uniaxial a velocidad constante (Castañeda 2002).

### Metodología

Se analizó queso panela elaborado en 3 industrias lácteas (QPA, QPF, QPV) mexicanas, el análisis de las muestras se llevó a cabo por triplicado a temperatura de refrigeración de  $5 \pm 1$  °C. Las muestras de queso se sacaron del empaque y se cortaron con un sacabocado cilíndrico.



**Análisis de textura uniaxial**

El ensayo de compresión uniaxial se llevó a cabo en un analizador de textura TMS-PILOT (Food Technology Corporation). La geometría de las muestras se obtuvo con ayuda de un sacabocados de 30 mm de diámetro y 25mm de altura, se colocaron las muestras en un recipiente cerrado durante el periodo de análisis a una temperatura de  $5 \pm 1$  °C, durante 20 min. Las muestras se colocan en el útil de compresión con una carga de 50 N, utilizando la sonda TMS-50 (50 mm de diámetro) y se comprimieron un 60% de su altura original una sola vez (Ramírez-López & Vélez-Ruiz, 2012). Se generó la curva de compresión en modo fuerza vs desplazamiento (Bourne, 2002). Los parámetros medidos son: el módulo de deformabilidad (MD) (la pendiente máxima en el inicio de la curva), el esfuerzo máximo para producir la fractura ( $\sigma_f$ ), la deformación de fractura ( $\epsilon_f$ ), y el trabajo necesario para fracturar la muestra, determinado por el área bajo la curva (Wf) (Conde *et al.*, 2007; Alvarez-Carpio, 2015).

**RESULTADOS**

**Información nutrimental de las muestras**

Las muestras analizadas se eligieron en base a la información nutrimental que presentaban, en la información que se reporta en la etiqueta se muestra un contenido de carbohidratos que oscilaba entre los 2-4 g por cada 100 g. Se contempló que estos carbohidratos pudieran ser almidones. Al revisar el análisis que hace la revista del consumidor se observó que estas marcas de queso no presentaban presencia de almidón, los carbohidratos que se reportan son azúcares producto del rompimiento del azúcar propio de la leche la lactosa. La tabla 1 muestra la composición química de las tres marcas comerciales de queso panela con las que se trabajó.

**Tabla 1.** Composición química de marcas comerciales de queso panela.

Marca	QPA	QPF	QPV
Humedad (%)	55.1	59.3	51.4
Grasa (%)	22.5	18.8	24.5
Proteína (%)	15.5	16.7	18.7
Almidón	Negativo	Negativo	Negativo
Tipo de grasa	Mezcla vegetal y butírica	Butírica	Mezcla vegetal y butírica
Carbohidratos (%)	3.7	2.2	1.8

Con respecto a la composición de los quesos el contenido de grasa mayor fue para el queso QPV, cabe resaltar que esta marca contiene grasa de tipo vegetal además de que presenta un porcentaje de proteína más alto lo que puede inferir en el análisis de textura. La marca QPF tiene un contenido de humedad más alto y un bajo contenido de proteína. La NMX-F-742- COFOCALEC-2012 reporta que el queso panela debe contener un porcentaje de grasa de hasta el 20%, 17% de proteína y 59% de humedad (Moore *et al.*, 1986) que puede llegar hasta un máximo del 62%. La marca de quesos QPA

y QPV tienen un alto contenido de grasa vegetal y butírica, al adicionar grasa vegetal hace que el queso sea una imitación de queso panela (Ochoa-Flores *et al.*, 2013).

### Análisis de textura uniaxial

Las muestras de queso panela analizadas presentaron un rompimiento menor a la carga de 50 N. Las muestras de presentan poca firmeza debido al bajo módulo de deformidad. Esto está directamente relacionado con esfuerzo máximo para producir la fractura ( $\sigma_f$ ) como se muestra en la Tabla 2.

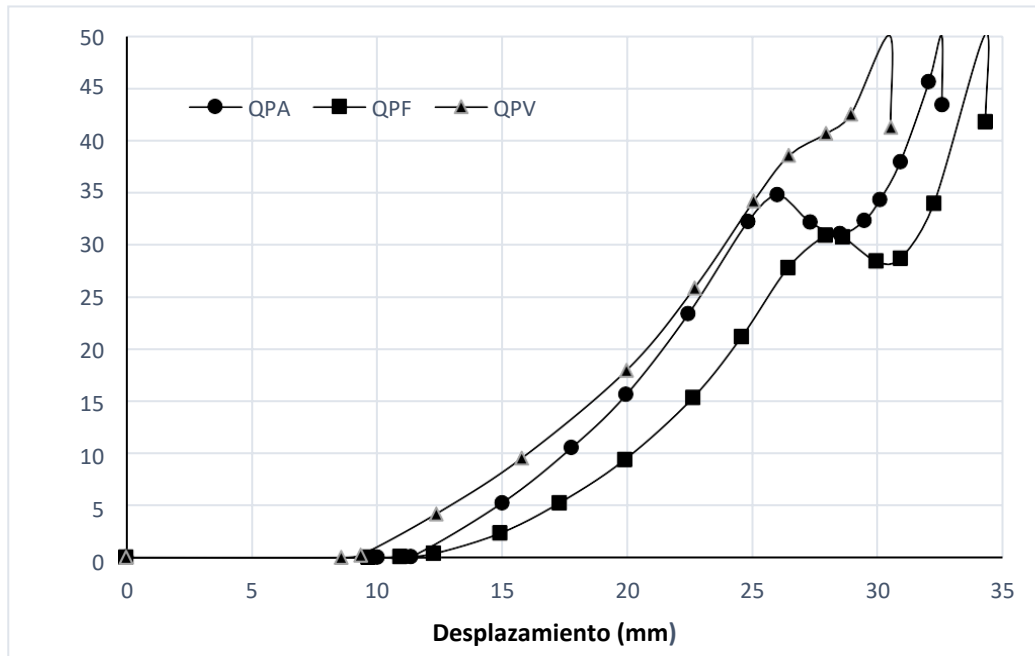
**Tabla 2.** Datos reportados del análisis de textura uniaxial.

Muestra	Módulo de deformabilidad (MD)	Esfuerzo máximo para producir la fractura ( $\sigma_f$ )	Deformación de fractura ( $\epsilon_f$ )	Trabajo necesario para fracturar la muestra ( $W_f$ )
QPA	$0.973117 \pm 0.002$	$26.01 \pm 1.2$	$34.75 \pm 3.6$	$473.99 \pm 24$
QPF	$0.976497 \pm 0.001$	$27.93 \pm 1.7$	$30.85 \pm 7.2$	$395.70 \pm 34$
QPV	$0.974942 \pm 0.01$	$26.46 \pm 1.2$	$38.51 \pm 2.1$	$450.48 \pm 33$

Al medir la dureza de un alimento, o sea, la fuerza requerida para deformarlo se está evaluando si es blando, firme o duro y en los quesos lo que se mide es la firmeza, la firmeza está íntimamente relacionada con el contenido de grasa, proteína y humedad. Zúñiga-Hernández *et al.* (2009) reportan que la red proteica de los quesos está formada por las caseínas, cuyas cadenas helicoidales forman celdas que encierran los glóbulos de grasa, haciendo que la relación de grasa proteína en la leche sea crítica, así como el contenido de minerales, un incremento en materia grasa y contenido de agua debilitan la estructura proteica, mientras que una disminución de los mismos provoca un endurecimiento. Las muestras de queso panela presentan poca firmeza debido a su alto contenido de grasa y humedad. La Tabla 2 demuestra que la muestra QPF tiene una mayor firmeza debido a que es la que cuenta con un mayor porcentaje de humedad y se encuentra en el intervalo de contenido de grasa. La Figura 2 muestra el comportamiento de trabajo necesario para fracturar la muestra ( $W_f$ ) (área bajo la curva) la muestra QPF presenta una mejor firmeza con respecto a las muestras QPA y QPV. Estas muestras presentan una mayor dureza esto puede deberse a que al agregar estabilizantes como puede ser la grasa vegetal y que al combinarse con las proteínas genere glóbulos de grasa más grandes que sean más difíciles de romper (Ramírez-López & Vélez-Ruiz, 2012; Carvajal-Cuellar, 2004).

Con respecto a la deformación de la fractura las muestras que son imitación panela presentan un mayor desplazamiento con respecto a la muestra que tiene grasa butírica, esto puede deberse a que la cantidad de agua que enlaza a la caseína, la presencia de grasa y agua libre. El agua actúa como un aditivo plástico donde el incremento de humedad aumentará la plasticidad del producto. Además, el queso estructuralmente consiste en una matriz proteica continua en la cual los glóbulos de grasa se encuentran dispersos ocupando espacios vacíos en la matriz abierta actuando como aglomerados lo que propicia un desplazamiento en el análisis de textura uniaxial (Zúñiga-Hernández *et al.*, 2009). Con respecto al módulo de deformidad (MD) todas las muestras presentaron el mismo

comportamiento debido a que a fuerzas muy pequeñas no es significativamente perceptible el cambio de la pendiente al inicio de la curva en las tres muestras.



**Figura 2.** Curva de esfuerzo y deformación promedio de las muestras comerciales de queso panela.

## CONCLUSIÓN

La prueba de compresión uniaxial a velocidad constante mostro que los quesos que son imitación, de queso panela, presentan una mayor dureza debido a la sustitución de grasa vegetal esto influye directamente con la firmeza del producto. Los quesos frescos presentan una firmeza de tal manera que puedan fracturarse con facilidad, un queso que presente un comportamiento plástico puede generar rechazo por parte del consumidor. Con base a estos resultados se evidencia la factibilidad del uso combinado de un análisis uniaxial por compresión con una velocidad constante ya que presento una tendencia del comportamiento de la textura y de cómo debe ser la composición de un queso panela.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alais, C. (1985). *Ciencia de la leche: Principios de técnica lechera*. Cuarta edición. Editorial Reverté S.A. Barcelona, 873 pp. España.
- Alvarez-Carpio, J. D. (2015). Características de las principales propiedades reológicas de los quesos prensados frescos y amasados expendidos en la ciudad de Cuenca. Tesis de Posgrado. Universidad del Azuay. Departamento de posgrados, Maestría en gestión de la calidad y seguridad alimentaria. Cuenca, Ecuador.
- Arango, O., Trujillo, A.J., Castillo, M. (2013). Influence of fat replacement by inulin on rheological properties, kinetics of rennet milk coagulation, and syneresis of milk gels. *Journal of Dairy Science* 96 (4): 1984-1996.
- Bourne, M. C. (2002). *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. Academic Press. 2da Edición. San Diego California, EE.UU, p. 427.
- Carvajal-Cuéllar, D. M. (2004). Estudio del comportamiento fisicoquímico y reológico de un queso untable. Tesis de Maestría. Universidad de las Américas Puebla. México.
- Castañeda, R. (2002). La reología en la tipificación y la caracterización de quesos. *Tecnología Láctea Latinoamericana*, 20 (26): 48-53.
- Conde, T., Cárcel, J.A., García-Pérez, J.V. and Benedito, J. (2007). Non-destructive analysis of manchego cheese texture using impact force-deformation and acoustic impulse-response techniques. *Journal of Food Engineering*, 82:238-24.
- Cunha, C. R., Dias, A. I. and Viotto, W. H. (2010). Microstructure, texture, colour and sensory evaluation of a spreadable processed cheese analogue made with vegetable fat. *Food Research International*, 43:723–729.
- De Hombre-Morgado, R., Alvis-Bermudez, A. and García, Mogollon. (2017). Mechanical properties and viscoelasticity of fresh cheese made from buffalo and cow milk. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15 (1): 138-143.
- Escobar, M. C., Van-Tassel, M. L., Martínez-Bustos, F., Singh, M., Castaño-Tostado, E., Amaya-Llano, S. L. and Miller, M. J. (2012). Characterization of a panela cheese with added probiotics and fava bean Storch. *Journal of Dairy Science*, 95 (6): 2779-2787.
- Foegeding, E. A. & Drake, M. A. (2007). Invited Review: Sensory and mechanical properties of cheese texture. *Journal of Dairy Science*. 90:1611-1624.
- Gunasekaran, S. & Ak, M. M. (2003). *Cheese rheology and texture*. Edinburgh Campus Library, CRC. Chapter 3, 123-194.
- Lluch, M. A., Hernando, I., & Perez-Munera, I. (1999). Desarrollo de productos lácteos frescos obtenidos por coagulación enzimática de la leche (I): influencia de la adición de pectina a la cuajada y de su trituración. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 18 (6): 59-64.
- Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., Vernon-Carter, E. J. and Sánchez-García, J. (2000). Viscoelastic properties of white fresh cheese filled with sodium caseinate. *Journal of Texture Studies*, 31 (4): 379-390.
- Lobato-Calleros, C., Lozano-Castañeda, I. and Vernon-Carter, E. J. (2009). Texture and microstructure of low-fat and low-cholesterol panela type cheeses: different methodologies. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 1 (1): 39-48.

- Lobato-Calleros, C., Ramos-Solís, L., Santos-Moreno, A., and Rodríguez-Huezo, M. E. (2006). Microstructure and texture of Panela tipe cheese-like products: use of low methoxyl pectin and canola oil as milk-fat substitutes. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 5 (1): 71-79.
- Moore, P. L., Richter, R. L. & Dill, C. W. (1986). Composition, yield, texture, and sensory characteristics of Mexican White Cheese. *Journal of Dairy Science* 69 (3): 855-862.
- Narcía-Reynosa, Y. (2011). Comparación de la composición química en diez marcas de queso panela, Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”. Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- NMX-F-742 COFOCALEC-2012. Sistema producto leche. Alimentos–Lácteos–Queso panela. Denominación, especificaciones y métodos de prueba.
- Ochoa-Flores, A. A., Hernández-Becerra, J. A., López-Hernández, E. y García-Galindo, H. S. (2013). Rendimiento, firmeza y aceptación sensorial de queso panela adicionado con estabilizantes. *Universidad y Ciencia*, 29 (3): 277-286.
- Osorio-Tobón, J. F., Ciro-Velásquez, H. J. y Mejía-Restrepo, L. G. (2004). Caracterización textural y fisicoquímica del queso Edam. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 57 (1): 2275-2286,
- Ramírez-López, C. & Vélez-Ruiz, J. F. (2012). Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 6 (2): 131-148.
- Revista del consumidor. (2017). Entérate que encontramos en quesos Panela. Procuraduría Federal del Consumidor, No. 484. p. 32-49.
- Udayarajan, C.T., Lucey, J.A. and Horne, D.S. (2005). Use of Fourier transform mechanical spectroscopy to study the melting behavior of cheese”. *Journal of Texture Studies*, 36 (5-6): 489-515.
- Zúñiga-Hernández, L. A., Ciro-Velásquez, H. J. y Osorio Saraz, J. A. (2009). Estudio de la dureza del queso Edam por medio de análisis de perfil de textura y penetrometría por esfera. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 60 (1): 3797-3811.

## Aprovechamiento de suero de leche para producción de celulosa microbiana

M. Salazar-Manzanares, J. Márquez-Reyes, B. Rodríguez-Romero, G. Méndez-Zamora, A. Luna-Maldonado y M. Treviño-Garza

1 Facultad de Agronomía, UANL. Av. Francisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá. 2 Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Cd. Universitaria S/N, San Nicolás de los Garza. Tel. (81) 1340 4399. Email:

\*[martha.salazarma@uanl.edu.mx](mailto:martha.salazarma@uanl.edu.mx)

### RESUMEN

Uno de los principales sectores de la industria que genera gran cantidad de aguas residuales con alta concentración de carga orgánica es el sector lácteo. El suero de leche es el residuo más representativo, ya que ha sido categorizado como un desperdicio por sus elevados volúmenes generados, ocasionando problemas severos de contaminación. El objetivo de la presente investigación fue utilizar un consorcio de microorganismos aislados de Kombucha capaz de reducir la carga orgánica del efluente utilizándolo como fuente de carbono para la producción de celulosa microbiana. Las características fisicoquímicas del suero se monitorearon durante 12 días de fermentación. Las variables respuestas fueron: % acidez titulable (At); pH; azúcares totales (AT); sólidos totales (ST); sólidos totales volátiles (STV); demanda química de oxígeno (DQO); proteínas (P) y peso de la celulosa bacteriana (PCB). Se observaron diferencias significativas para % At, pH, DQO, P. El tratamiento que presentó mayor remoción de carga contaminante del efluente fue el T1 (100;0) v/v, incrementando en él % de At; el pH disminuyó de 5.5 a 3.5; las concentraciones (At) disminuyeron de 32.7 a 7.2 g/L<sup>-1</sup> finalmente la DQO descendió de 172.25 a 63.75 g/L<sup>-1</sup>, además de presentar aumento de la PCB.

**Palabras clave:** Suero de leche, celulosa microbiana, kombucha, carga orgánica

### ABSTRACT

One of the main sectors of the industry which generates a large amount of wastewater, with high content of organic matter is the dairy sector. Whey is the most representative residue, since it has been categorized as a waste due to its high volumes generated, causing severe pollution problems. The objective of this research is to use a consortium of isolated Kombucha microorganisms capable of reducing the pollutant load of the effluent, at the same time that it produces microbial cellulose which can be used for other production processes. The physicochemical characteristics of the whey were monitored during 12 days of fermentation. The response variables were: % titratable acidity (At); pH; total sugars (AT); total solids (TS); total volatile solids (TVS); chemical oxygen demand (COD); protein (P) and bacterial cellulose weight (PCB). Significant differences were observed for % At, pH, COD, P. The treatment that showed the greatest removal of pollutant load from the effluent was T1 (100;0) v/v, increasing in it % At; pH decreased from 5.5 to 3.5; concentrations (At) decreased from 32.7 to 7.2 g/L<sup>-1</sup> and finally COD decreased from 172.25 to 63.75 g/L<sup>-1</sup>, in addition to presenting an increase in PCB.

**Keywords:** Whey, microbial cellulose, kombucha.

## INTRODUCCIÓN

Dentro de los sectores más importantes de la economía de países industrializados es el sector lácteo por su variedad de productos y procesos, generando principalmente residuos líquidos, los cuales podemos encontrar mayormente a la leche diluida, crema, suero, grasas, aceites, sólidos suspendidos totales y nitrógeno, cuya eliminación demanda gran parte de inversión de capital (Panesar *et al.*, 2007). Alrededor del 90% de la leche total utilizada en la industria del queso es descartada como suero, que es un subproducto obtenido durante el proceso de fabricación de queso, que retiene aproximadamente el 55% de las sustancias totales de la leche, incluyendo proteínas solubles, lactosa, lípidos y sales minerales. Debido a las grandes cantidades de queso que son producidas a nivel mundial, la generación de aguas residuales se convierte en el aspecto ambiental más significativo en la industria láctea, tanto por los elevados volúmenes generados, como por las altas cargas contaminantes, esto en medida que incrementa el mejoramiento de productividad, calidad y sanidad del proceso (Aider *et al.*, 2009). El suero de leche es un líquido claro de color verdoso translúcido que se separa del coágulo de la leche para la obtención de queso. Contiene principalmente lactosa, proteínas como sustancias de importante valor nutritivo, minerales, grasa y vitaminas responsables de los elevados valores de demanda bioquímica de oxígeno (DQO) presentes en el mismo (Valencia y Ramírez, 2009). Está compuesto por proteínas como la Beta-lactoglobulina, la Alfa-lactoalbúmina que es la segunda proteína más abundante encontrada en el suero de leche, constituyendo aproximadamente 20 a 25% de la proteína de suero y las inmunoglobulinas que constituyen aproximadamente el 10 a 15% de la proteína de suero. Así mismo se conforma de minerales y vitaminas donde podemos encontrar el fósforo, magnesio, zinc, hierro y cobre con alto grado de disponibilidad, los cuales pueden favorecer a ser utilizado como un medio de cultivo enriquecido para el crecimiento de microorganismos. También contiene cantidades pequeñas, pero bastante apreciables de las vitaminas A, C, D, E y complejo B (Paulino & Zare, 2013).

Las aguas residuales de la industria láctea son el problema ambiental de mayor importancia en su operación ya que se caracterizan por tener una gran cantidad de material orgánico, alta biodegradabilidad, presencia de aceites y grasas, fósforo, nitratos, sólidos en suspensión (especialmente las productoras de queso), y gran variabilidad de pH (Lucas & García, 2018). La finalidad de los sistemas de tratamiento de las aguas residuales es remover los contaminantes que sean perjudiciales al medio ambiente y en general, a los seres vivos mediante una combinación de procesos físicos, químicos y biológicos (Valencia y Ramírez, 2009). Con el propósito de poder aminorar los problemas ambientales asociados a la producción de suero de leche, numerosas alternativas han sido propuestas para transformar este problema ecológico en una fuente de generación de recursos económicos con un valor agregado al mismo. Ramírez-Navas (2012), señala que el suero de leche se cataloga como un desperdicio por ser altamente contaminante en Latinoamérica, una pequeña cantidad se emplea para alimento animal y el resto es vertido como efluente. Así mismo menciona que actualmente existen estudios que emplean tecnologías con la finalidad de transformar el suero en un producto de valor y ha ganado importancia en este sector como proceso fermentativo, ya que es un excelente medio de cultivo debido a sus propiedades y composiciones que le permite obtener una amplia gama de productos que van desde biomasa hasta la creación de nuevos productos.

La kombucha es una bebida de origen de Manchuria obtenido a partir de té dulce que son fermentados por una colonia simbiótica de bacterias y levaduras (SCOBY por sus siglas en inglés) compuesta por bacterias de ácido acético y levaduras osmofílicas. (Amarasekara *et al.*, 2020). Se utilizan diferentes fuentes de azúcares (sacarosa, lactosa, glucosa y fructosa) para realizar la fermentación, influyendo directamente en el metabolismo del hongo del té y en el contenido de ácidos producidos (láctico,

acético, glucónico y glucurónico) (Reiss-J, 1994). De acuerdo con Santos *et al.* (2015), durante la fermentación del té de kombucha, se forma una película polimérica sólida de celulosa microbiana en la interfaz del medio de cultivo. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue utilizar el efluente generado en la producción de queso como medio de fermentación para producir celulosa microbiana y disminuir la carga orgánica en el medio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Consorcio de trabajo

Se trabajó con un consorcio de microorganismos aislada de una Kombucha artesanal. De la bebida se tomaron 200 mL los cuales se mezclaron con 500 mL de una infusión de té verde (25°C) en recipientes de vidrio de 2 L, se taparon con gasa y se mantuvieron a 25 °C por 20 días bajo condiciones de oscuridad. La infusión de té se preparó a base de 1 L de agua destilada previamente calentada a 85°C a la cual se le adicionó 3.6 g de té verde (marca Hill Country) por 15 min y 50 g de dextrosa anhidra. Se realizó recambio de la infusión de té al recipiente original eliminado el 50% de la solución y reponiéndolo por nueva infusión. Esto con la finalidad de generar un hotel de CM o SCOBY.

### 2. Residuo lácteo

El residuo lácteo se obtuvo de una fábrica de procesados de lácteos exclusivamente del proceso de elaboración de queso panela. Se colectó en recipientes plásticos de 3 L y se guardó en refrigeración a 4 °C para su posterior uso, manteniéndolo un tiempo máximo en dichas condiciones de 24 h. En recipientes plásticos de 500 mL, se les adicionaron 200 mL de una mezcla de suero: agua (V/V) en distintas proporciones. Los tratamientos fueron los siguientes (V/V): 100:0; 75:25; 50:50; 25:75 y 0:100. Todos los tratamientos se realizaron por quintuplicado y fueron inoculados con 15% (V/V) del inóculo microbiano. Como control positivo para la fermentación se usó té verde con dextrosa (50 g/L). Los recipientes fueron tapados con gasa en la parte superior y almacenados en completa oscuridad a 25 ±2°C por 12 días. Se realizaron análisis químicos del suero y del fermentado. Al término de la fermentación se recuperaron los discos de CM formados, se lavaron y pesaron para obtener el peso fresco, posteriormente se colocaron dentro de una estufa a 44°C hasta peso constante y obtener el peso seco final.

### Caracterización química

#### DQO a flujo cerrado.

Se siguió el procedimiento establecido en el método 5220 (APHA, 2005), utilizando como estándar biftalato de potasio. En tubos se colocaron 2.5 mL de muestra, 1.5 mL de la solución de digestión y 3.5 mL de solución ácida. Se colocaron en un reactor hach por 2 h a 150 °C, posteriormente se enfriaron y se cuantificó por espectrofotometría UV-vis a 620 nm.

#### Sólidos totales

Se determinó por el método 3540 D (APHA, 2005), donde se tomaron 5 mL de la muestra homogenizada y se colocó en un crisol previamente pesado. Los crisoles fueron introducidos a una estufa a 105°C durante 24 horas, finalmente se dejaron enfriar y se pesó la muestra. La concentración se calculó utilizando la ecuación 1.

$$ST \text{ mg/L} = \frac{[(A-B)]}{\text{volumen de muestra en mL}} * 1000 \text{Ec. (1)}$$

Donde: A= Peso inicial y B= Peso del filtro ambos expresados en mg



### Sólidos totales volátiles

Se establecerá el método 2540 E (APHA, 2005), la muestra final obtenida de los sólidos totales se colocó en una mufla a 550 °C durante 20 minutos. Transcurrido el tiempo, se dejaron enfriar y posteriormente se pesaron. La concentración se calculó utilizando la ecuación 2.

$$STV \text{ mg/L} = \frac{[(A-B)]}{\text{volumen de muestra en mL}} * 1000 \text{ Ec. (2)}$$

Donde: A= peso de la muestra seco a 105°C y B= peso de la muestra seca a 550°C ambas expresada en mg.

### Determinación de acidez

Se determinó por valoración volumétrica con NaOH (1N), se tomaron 10 ml de la muestra más dos gotas de fenolftaleína. La acidez se calculó a partir del volumen gastado de NaOH tal como se muestra en la ecuación 3:

$$\% \text{ Acidez} = \frac{[(\text{mL NaOH})(N \text{ NaOH})(0.06)]}{\text{mL Muestra}} \times 100 \text{ Ec. (3)}$$

### Determinación de pH

El pH se obtuvo usando un electrodo selectivo.

### Determinación de azúcares totales

Se utilizó el método de ácido sulfúrico para determinar la concentración de azúcares totales. Se agregó 1 mL de muestra con 1 mL de fenol al 5% y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado en tubos de ensaye. Se agitaron levemente y se dejaron reposar por 10 minutos a temperatura ambiente, finalmente se volvieron a agitar por 10 segundos en un vórtex y se analizaron por espectrofotometría UV-vis a 490 nm (Dubois *et al.*, 1956).

### Determinación de proteínas

Empleando el método de Bradford se determinó la concentración de proteínas a 595 nm por espectrofotometría Kruger (2009).

### Diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con cinco tratamientos establecidos y un control, evaluando el rendimiento de la CM en el consorcio microbiano COR. Para el análisis estadístico se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 95%, para los parámetros fisicoquímicos se analizará una t-Student para muestras independientes. Se efectuó una comparación de medias mediante la prueba de Tukey. Los resultados obtenidos fueron analizados con el Software Estadístico Minitab.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización del suero de leche

En la Tabla 1, se muestran los resultados obtenidos en la caracterización del suero de leche colectado en el proceso de elaboración de queso panela. Se cuantificó un pH de 6.4, que lo clasifica como suero dulce según (González-Siso, 1996) quien expresó que, los intervalos de pH para suero dulce se

encuentran en un rango de 6 a 7. La acidez titulable obtuvo un valor de 0.3%, valor similar al reportado por Guerrero *et al.* (2016) de 0.4%.

**Tabla I.** Caracterización química del suero de leche

Muestra	DQO (g/L)	P (g/L)	ST (mg/L)	STV (mg/L)	AT (%)	At (g/L)
Suero	40.5 ± 4.73	9.90 ± 0.69	64,436 ± 1083.7	59,060 ± 1066.9	0.3 ± 0.2	49.34 ± 23

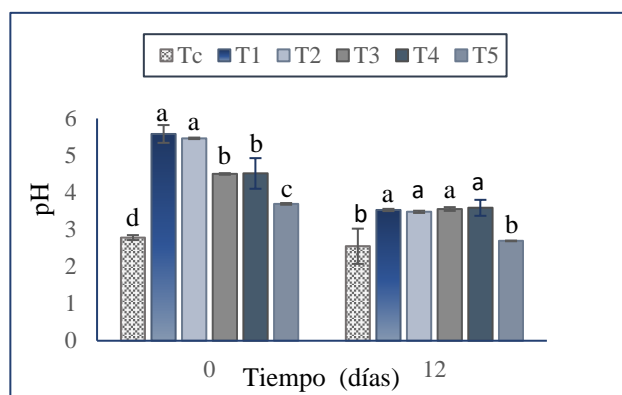
DQO= demanda química de oxígeno; P= proteínas; ST= sólidos totales; STV= sólidos totales volátiles; AT= % acidez; At= azúcares totales. Media ± desviaciones estándar.

### Caracterización del proceso de fermentación

#### Análisis químicos

El comportamiento de pH del proceso de fermentación de muestra en la Figura 1. Se obtuvo disminución de pH al final de la fermentación, ( $p < 0.05$ ) siendo significativo en todos los tratamientos. La razón principal de la disminución del pH de los tratamientos fermentados es a causa de la producción de los ácidos a partir del azúcar añadido, debido al metabolismo bacteriano y de levaduras, siendo el ácido acético el predominante en la fermentación por bacterias del ácido acético a través de la oxidación del etanol (Loncar *et al.*, 2000).

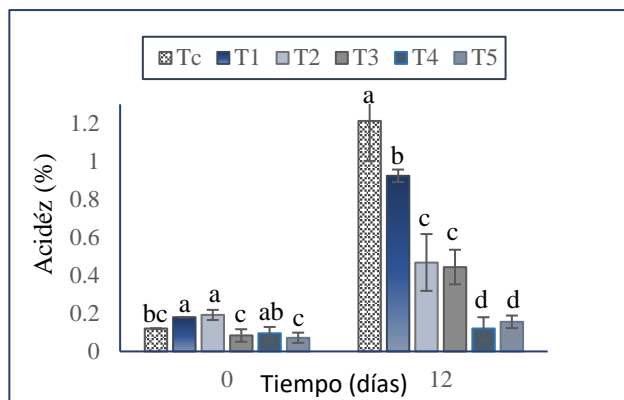
Al momento de agregar el inóculo al suero el pH disminuyó y conforme avanzó el proceso de fermentación el comportamiento fue el mismo. Durante la fermentación es conveniente y esperado la disminución del pH. Sin embargo, para el análisis de un agua residual tratada el valor adecuado de un tratamiento oscilaría entre 6.5 y 7.4 (Parkin & Owen 1986; Rajeshwari *et al.*, 1998).



**Figura 1.** Valores promedios de pH obtenidos de los diferentes tratamientos al inicio y al final de la fermentación ± desviación estándar. Tc: control; T1: 100 % S; T2: 75:25 (v/v); T3: 50:50 (v/v); T4: 25:75 (v/v); T5: 0:100(v/v). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos a los diferentes tiempos de fermentación.

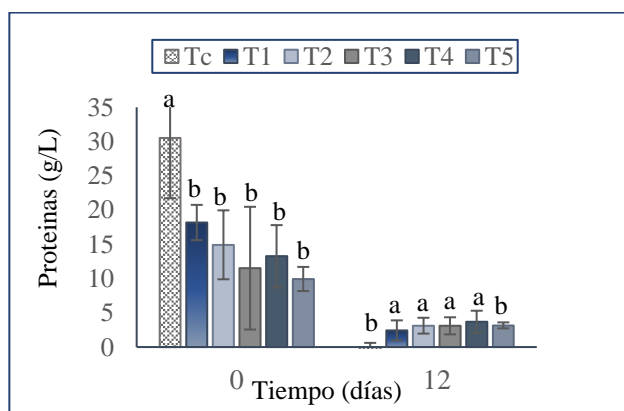
En la Figura 2 se observa el comportamiento de la acidez durante el proceso de fermentación. Al inicio los valores en todos los tratamientos oscilaban entre 0.2 y 0.3%. Pero al término del proceso, indistintamente del tratamiento el valor de acidez aumentó. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos al tiempo de 12 días, donde queda claro que existe una relación directamente proporcional entre la concentración del suero y la producción de acidez en el medio. Este

comportamiento es debido a la fermentación de la lactosa a ácido láctico, en la que intervienen bacterias acidificadoras que se desarrollan durante la fermentación (Pulgar, 1988; Revilla, 1996).



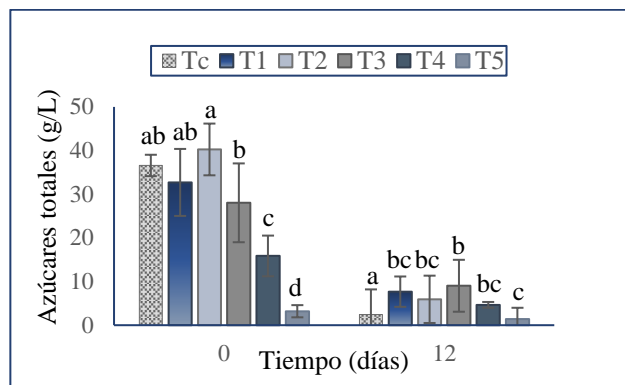
**Figura 2.** Valores de acidez determinados al inicio y final del fermentado  $\pm$  desviación estándar. Tc: control; T1: 100 % S; T2: 75:25 (v/v); T3: 50:50 (v/v); T4: 25:75 (v/v); T5: 0:100(v/v). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos a los diferentes tiempos de fermentación.

El comportamiento de la proteína se observa en la Figura 3. Al inicio de la fermentación la concentración es superior, cuantificando la más alta concentración en el tratamiento control. Pero al término del experimento la concentración disminuyó drásticamente por el consumo de fuentes de carbono en el medio debido al crecimiento microbiano y a una posible degradación de las proteínas por el cambio abrupto de pH (Hernández *et al.*, 2012).



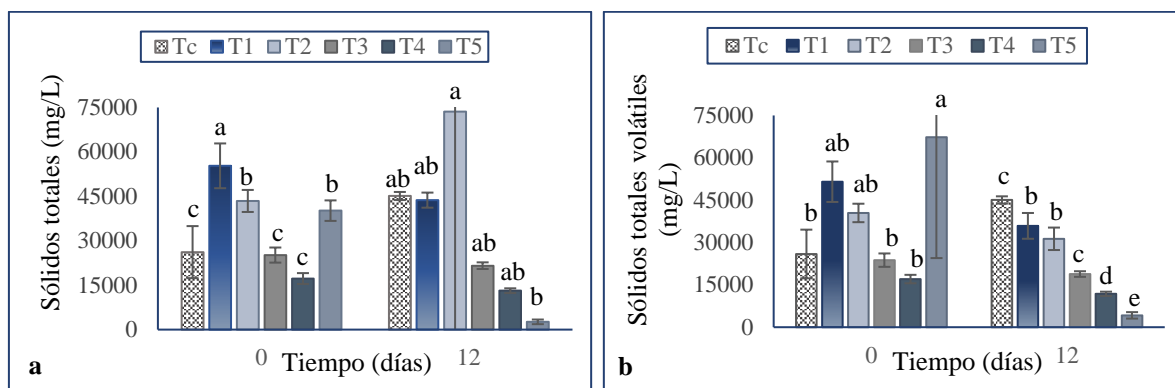
**Figura 3.** Valores de proteínas al inicio y final del fermentado  $\pm$  desviación estándar. Tc: control; T1: 100 % S; T2: 75:25 (v/v); T3: 50:50 (v/v); T4: 25:75 (v/v); T5: 0:100(v/v). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos a los diferentes tiempos de fermentación.

La concentración de azúcares totales (Figura 4) al inicio del experimento se encontraba en 35 g/L<sup>-1</sup>, y al término del experimento sin importar el tratamiento se encontraba por debajo de los 10 g/L<sup>-1</sup>. Este comportamiento indica que los microorganismos presentes en la fermentación estuvieron consumiendo los azúcares provenientes de la lactosa. Comportamientos similares se han encontrado al utilizar microorganismos de kombucha con otras fuentes de carbono como dextrosa, glucosa (Joshi, 2017).



**Figura 4.** Valores de azúcares totales al inicio y final del fermentado  $\pm$  desviación estándar. Tc: control; T1: 100 % S; T2: 75:25 (v/v); T3: 50:50 (v/v); T4: 25:75 (v/v); T5: 0:100(v/v). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos a los diferentes tiempos de fermentación.

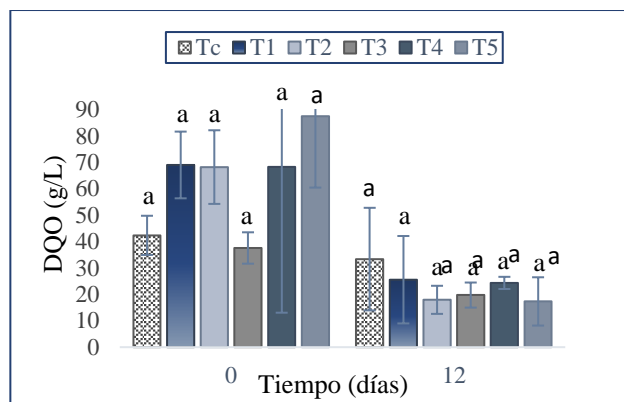
En relación con los sólidos totales y volátiles, se presentaron mayor remoción para todas las relaciones de suero a excepción de la relación 75:25 (V/V) y el tratamiento control, mostrando valores altos de 73636 y 45108  $\text{mg/L}^{-1}$ , los valores obtenidos rebasan las especificaciones de la legislación mexicana de la NOM-067-ECOL-1994, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores provenientes de los sistemas de alcantarillado o drenaje municipal con valores de 150  $\text{mg/L}^{-1}$ . En ambos tiempos de fermentación se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) (Figura 5 a, b). Es importante resaltar que en la cuantificación de los sólidos totales se presenta un aumento de la concentración en los tratamientos control y T2 posiblemente por el incremento del crecimiento celular que se está cuantificando como materia orgánica y fragmentos de biopolímero producidos durante la fermentación. Además, esta evidenciado que, el contenido de sólidos totales puede variar dependiendo del contenido de proteína, sales minerales, lactosa que tenga el suero analizado y puede estar sujeto a los diversos procesos utilizados en la elaboración de queso; en donde la materia seca del suero consigue quedarse en la masa de cuajada obtenida (Miranda *et al.*, 2009).



**Figura 5.** a) Sólidos totales y b) sólidos volátiles; ambos promedios de concentración  $\pm$  desviación estándar. Tc: control; T1: 100 % S; T2: 75:25 (v/v); T3: 50:50 (v/v); T4: 25:75 (v/v); T5: 0:100(v/v). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos a los diferentes tiempos de fermentación.

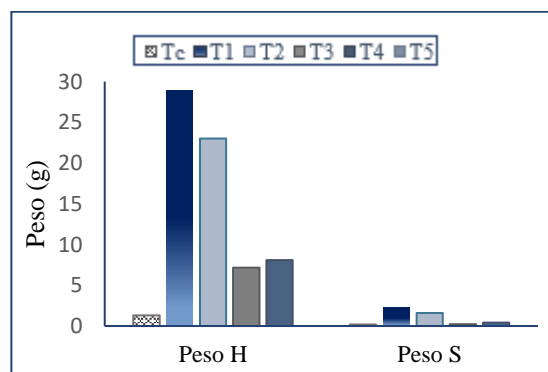
La concentración de DQO al inicio fue entre 40 g/L a 80 g/L, durante el proceso de fermentación de observa un consumo de azúcares, una disminución de proteínas y por ende una disminución de DQO (Figura 6). Los tiempos de fermentación no presentaron diferencias entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ).

Los comportamientos están relacionados con el crecimiento celular que utiliza todas las fuentes de carbono disponibles en el medio, lo cual es respaldado por una disminución del pH y un aumento de acidez. Las aguas residuales de la industria láctea presentan una fracción significativa de proteínas, lo que las hace los principales componentes responsables de un elevado valor de DQO (Sangay, 2022). Najafpour *et al.* (2008) reporto que, a medida que aumenta la DQO, la degradación de azúcares disminuía gradualmente, sin embargo, en el presente trabajo ambos parámetros disminuyen.



**Figura 6.** Valores de DQO al inicio y final del fermentado  $\pm$  desviación estándar. Tc: control; T1: 100 % S; T2: 75:25 (v/v); T3: 50:50 (v/v); T4: 25:75 (v/v); T5: 0:100(v/v). Las letras (a) representan que no existen diferencias significativas entre los tratamientos a los diferentes tiempos de fermentación.

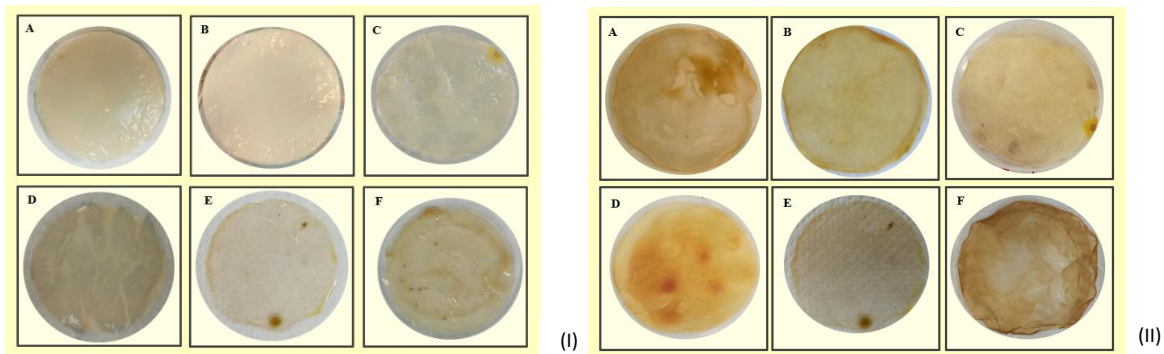
La producción de CM se hizo presente en todos los tratamientos evaluados con suero (Figura 6). La mayor producción másica de la CM fue en el tratamiento que contenía el 100% de suero de leche y nula en solo agua (T5). El rendimiento de biomasa durante la fermentación está íntimamente relacionado con la naturaleza del sustrato y su concentración (Goh *et al.*, 2012). A mayor concentración de suero mayor producción de CM en peso húmedo y peso seco.



**Figura 7.** Valores promedio de los pesos secos (S) y húmedos (H) de los discos de celulosa microbiana formados durante la fermentación del suero.  $\pm$  desviación estándar. Tc: control; T1: 100 % S; T2: 75:25 (v/v); T3: 50:50 (v/v); T4: 25:75 (v/v); T5: 0:100(v/v). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos a los diferentes tiempos de fermentación.

Las muestras de PCB obtenidas del fermentado con 50 g/L presentaron tonalidades amarillas y blancas (Figura 8). La coloración está asociada al medio utilizado para la producción de la película; la infusión de té verde presenta coloraciones más claras respecto a PCB generadas en el suero

(tonalidad blanca), tonalidad asociada al desarrollo microbiano en el medio ambiente ácido durante la producción de celulosa (Jayabalan *et al.*, 2014).



**Figura 8.** Discos de celulosa microbiana húmeda (I) y seca (II) obtenida en diferente concentración de suero; 100% S (A), 75:25 (B), 50:50 (C), 25:75(D), 0:100 (E) y té verde (F) v/v.

## CONCLUSIÓN

El consorcio microbiano en las condiciones evaluadas en el presente trabajo tiene la capacidad de utilizar el suero de leche dulce para su crecimiento y modificar las condiciones de acidez, para promover la producción de celulosa microbiana. La concentración del suero en el medio de fermentación define la cantidad de celulosa microbiana que se forma.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aider, M., de Halleux, D., & Melnikova, I. (2009). Skim acidic milk whey cryoconcentration and assessment of its functional properties: Impact of processing conditions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(3), 334–341. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.01.005>
- Amarasekara, A. S., Wang, D., & Grady, T. L. (2020). A comparison of kombucha SCOBY bacterial cellulose purification methods. *SN Applied Sciences*, 2(2). <https://doi.org/10.1007/s42452-020-1982-2>.
- APHA, AWWA, & WEF. (2005). Method 5220 C, Chemical Oxygen Demand. Standard Methods for the Examination Water and Wastewater.
- Dubois, M.; Gilles, K.A.; Hamilton, J.K.; Robers, P.A.; Smith, F. (1956). Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Anal. Biochem.* 28: 350-356.
- Goh, W. N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A. A., & Bhat, R. (2012). Fermentation of black tea broth (kombucha): I. effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. *International Food Research Journal*, 19(1), 109–117.
- Hernández, J. C., García, F. P., Cruz, V. E. R., Santillán, Y. M., & Marzo, M. A. M. (2012). Caracterización fisicoquímica de un lactosuero: potencialidad de recuperación de fósforo. *Acta universitaria*, 22(1), 11-18.

- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 538–550.
- Joshi, V.K., Kumar, V. (2017). Influence of different sugar sources, nitrogen sources and inocula on the quality characteristics of apple tea wine. *J. Inst. Brew.* 123, 268–276.
- Kruger, Nueva Jersey. (2009). El método de Bradford para la cuantificación de proteínas. El manual de protocolos de proteínas, 17-24.
- Lucas, S. M., & García, R. S. (2018). El agua en la industria alimentaria. *Boletín de la Sociedad Española de Hidrología Médica*, 33(2), 157-171.
- Miranda, O. M., Palma, I. P., Palma, P. L. F., Espinosa, M. C., Lara, R. M. D., & Agramonte, C. C. (2009). Características físico-químicas de sueros de queso dulce y ácido producidos en el combinado de quesos de Bayamo. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 19(1), 5.
- Najafpour, G. D., Hashemiyeh, B. A., Asadi, M., & Ghasemi, M. B. (2008). Biological treatment of dairy wastewater in an upflow anaerobic sludge-fixed film bioreactor. *Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci*, 4(2), 251-257.
- NOM-067-ECOL. 1994. Norma Oficial Mexicana. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores provenientes de los sistemas de alcantarillado o drenaje municipal. México. [www.hgm.salud.gob.mx/descargas/pdf/noticias/norma\\_001pdf](http://www.hgm.salud.gob.mx/descargas/pdf/noticias/norma_001pdf).
- Panesar, P. S., Kennedy, J. F., Gandhi, D. N., & Bunko, K. (2007). Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry*, 105 (1), 1–14.
- Paulino, V., & Zare, N. (2013). *Ciencia Agroindustrial*. 2(1), 147–154.
- Revilla, A. (1982). *Tecnología de la leche: procesamiento, manufactura y análisis* (No. 53). Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.
- Ramírez-Navas, J. S. (2012). Aprovechamiento Industrial de Lactosuero Mediante Procesos Fermentativos. *Publicaciones e Investigación*, 6,69-83.
- Reiss, J. (1994). Influencia de diferentes azúcares en el metabolismo del hongo del té Z. *Lebensm. Unters. Forsch.* 198: 258-261.
- Sangay, O. A. (2022). Reactor biológico secuencial como tecnología para la reducción de dbó y dco de las aguas residuales de una industria láctea en cajamarca-2021.
- Santos, S., Carbajo, J. M., & Villar, J. C. (2015). Celulosa Bacteriana.
- Valencia-Denicia, E., & Ramírez-Castillo, M. L. (2009). La industria de la leche contaminación del agua. *Elementos: Ciencia y Cultura*, 16, 27–31.

## Evaluación de la absorción de humedad de leche en polvo envasada en diferentes materiales y almacenada a diferentes condiciones de humedad relativa

S.C. Soto-Flores\*<sup>1</sup>, L.F. Amador-López<sup>1</sup>, J.J. Martínez-García<sup>1</sup>, M.G. Candelas-Cadillo<sup>1</sup> y J.R. Minjares-Fuentes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango., Av. Artículo 123 S/N, Fracc. Filadelfia, 35010, Gómez Palacio, Dgo., México. \*[rafael.minjares@ujed.mx](mailto:rafael.minjares@ujed.mx)

### RESUMEN

La leche en polvo al ser un producto deshidratado es altamente perecedero cuando se expone a condiciones extremas de almacenamiento. Por esto, el objetivo de este estudio fue evaluar la absorción de humedad de leche en polvo envasada en diferentes materiales de envase y almacenada en diferentes condiciones de humedad relativa. Aproximadamente 5 g de leche en polvo fueron envasados en diferente material de envase (papel, plástico y aluminio) y almacenados a tres diferentes condiciones de humedad relativa (11%, 32% y 78%) a 25 °C. El incremento de peso fue monitoreado cada 8 h durante 5 días. Una muestra expuesta directamente a la condición de almacenamiento fue tomada como testigo. La leche envasada en papel presentó un mayor incremento de peso en las distintas humedades de almacenamiento, alcanzando un incremento de aproximadamente 30%, superando en algunos casos a la muestra testigo, lo cual podría ser atribuido a la absorción de agua por parte del material. Por el contrario, la leche envasada en aluminio fue la que presentó la menor tasa de absorción de humedad ( $1.16 \times 10^{-4}$  g/g·h). Estos resultados demuestran que el aluminio extiende la vida útil de un producto deshidratado debido a la baja tasa de absorción de agua.

**Palabras clave:** leche en polvo, tiempo de almacenamiento, material de empaque, almacenamiento de alimentos, vida de anaquel.

### ABSTRACT

Powdered milk, being a dehydrated product, is highly perishable when exposed to extreme storage conditions. Therefore, the objective of this study was to evaluate the moisture absorption of powdered milk packaged in different packaging materials and stored in different relative humidity conditions. Approximately 5 g of powdered milk were packed in different packaging materials (paper, plastic and aluminum) and stored at three different relative humidity conditions (11%, 32% and 78%) at 25 °C. Weight gain was monitored every 8 h for 5 days. A sample directly exposed to the storage condition was taken as a control. The milk packaged in paper presented a greater increase in weight in the different storage moisture, reaching an increase of approximately 30%, surpassing in some cases the control sample, which could be attributed to the absorption of water by the material. On the contrary, the milk packaged in aluminum was the one that presented the lowest moisture absorption rate ( $1.16 \times 10^{-4}$  g/g·h). These results demonstrate that aluminum extends the shelf life of a dehydrated product due to the low rate of water absorption.

**Keywords:** milk powder, storage time, packing material, food storage, shelf-life.



## INTRODUCCIÓN

El principal propósito del envasado de alimentos es mantener la inocuidad y la calidad de los alimentos antes de que lleguen al consumidor, actuando como una barrera entre los alimentos y el ambiente exterior. El tipo de material de embalaje utilizado dependerá del costo, propiedades de barrera y conveniencia, además de su funcionalidad (Gopirajah & Anandharamakrishnan, 2017).

Debido a que los productos en polvo envasados se almacenan, distribuyen y comercializan en humedades superiores al 20%, los productos tienden a sufrir absorción de humedad aumentando su contenido de humedad durante la vida útil, lo que afecta en los atributos de calidad física, química y biológica de los productos de leche en polvo. El modo de deterioro mayor se rige por interacciones entre las características del producto, el envasado y el entorno de almacenamiento (Wang & Lee, 2019). La absorción de agua por los productos secos, lleva a la aglomeración de productos en polvo volviéndose pegajosos o formando cristalización al rebasar determinado nivel, incluso crea condiciones que permiten el crecimiento de microorganismos (Langowski, 2017).

Para conservar adecuadamente los productos pulverizados, como la leche en polvo, se debe tener un amplio conocimiento de las características del producto las cuales suelen estar influenciadas en gran medida por el método de secado y las variadas condiciones de procesamiento (Brousse *et al.*, 2012; Pugliese *et al.*, 2017). Por lo tanto es importante analizar la tasa de absorción de humedad del medio ambiente hacia el producto en polvo para realizar con mayor precisión la vida de anaquel de dichos productos a fin de ofrecer un producto de calidad e inocuo. Basado en todo esto, el objetivo del presente estudio fue evaluar la absorción de humedad de leche en polvo envasada en diferentes materiales de envase y almacenada en diferentes condiciones de humedad relativa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materia prima

La materia prima usada en este estudio fue leche en polvo adquirida en un centro comercial de la región, con un contenido inicial de humedad de  $1.68 \pm 0.04\%$ .

### Envasado y almacenamiento de la muestra

Aproximadamente 5 g de leche en polvo fueron envasados en bolsas de diferente material (papel Kraft, aluminio y polietileno). Posteriormente, las muestras fueron almacenadas en diferentes condiciones de humedad relativa (87%, 32% y 11%). Para esto, se usó un desecador de vidrio que contenía una solución de sal para lograr la humedad relativa dentro del desecador: NaCl (87%), MgCl<sub>2</sub> (32%) y LiCl (11%), a 25 °C. La muestra de leche en polvo sin envasar fue almacenada a las condiciones previamente descritas, fue tomada como testigo. La absorción de humedad fue determinada mediante el análisis gravimétrico cada 8 h durante 5 días de almacenamiento. Todas las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

### Cinética de la absorción de agua

Entre los modelos más utilizados en la cinética de absorción de agua, se puede mencionar el propuesto por Pilosof *et al.* (1985), este modelo con la finalidad de describir la cinética de absorción de agua de alimentos en polvos, propone la ecuación de dos parámetros:

$$q = \frac{Q \cdot t}{B + t} \quad (1)$$

Donde  $q$  es cantidad de agua absorbida en el tiempo  $t$  (g agua/g muestra),  $Q$  la máxima capacidad de absorción de agua (g agua/g muestra),  $B$  el tiempo (h) en que se absorbió la mitad de la máxima capacidad de absorción ( $Q/2$ ).

La tasa de absorción de agua puede derivarse diferenciando la Ec. 1 con respecto al tiempo, lo que da como resultado:

$$\frac{dq}{dt} = \frac{1}{B \cdot Q} (Q - q)^2 \quad (2)$$

Donde  $(Q - q)$  es el factor de no saturación porque representa la cantidad de agua que aún debe ser absorbida para alcanzar el equilibrio y  $(B \cdot Q)^{-1}$  la constante de velocidad de específica  $K$ , por lo tanto,  $K$  puede calcularse como:

$$K = (B \cdot Q)^{-1} \quad (3)$$

La velocidad de absorción de agua inicial (g agua/g muestra · h) viene dada por la Ec.2, siendo  $t = 0$

$$R_0 = \frac{Q}{B} \quad (4)$$

Los valores  $Q$  y  $B$  se obtuvieron a partir de la Ec. 2 y los datos experimentales se analizaron mediante regresión no lineal.

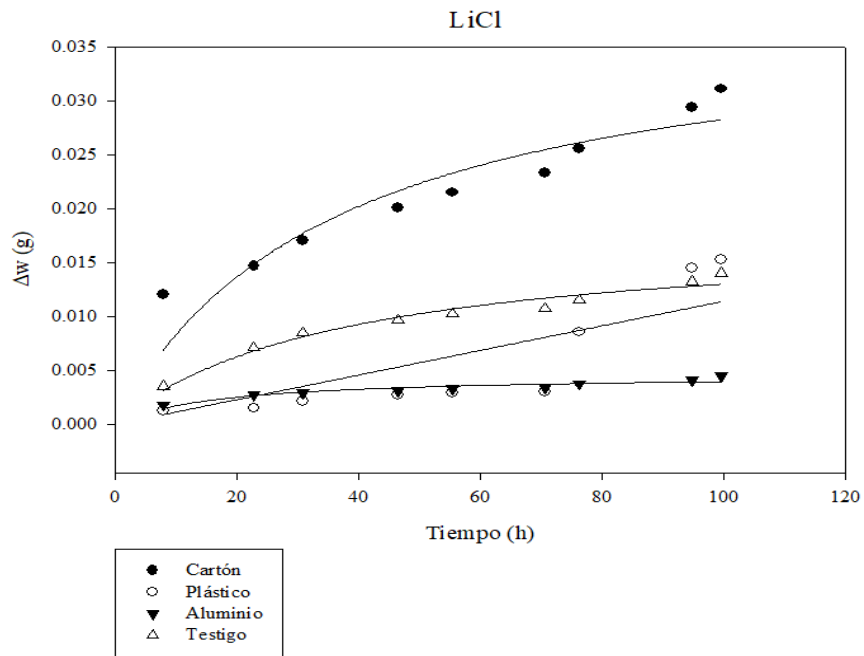
### Análisis estadístico

Se hicieron gráficas de las cinéticas y se analizaron usando el modelo de Pilosof en el software estadístico SigmaPlot, versión 7.0. Se utilizó un Análisis de varianza (ANOVA) de modelo lineal general con un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  para evaluar el efecto del material de envase y el tiempo sobre la absorción de humedad. Además, se aplicó un ANOVA de un solo factor para la comparación de medias de la ganancia del peso de cada tratamiento (material de envase) se realizaron mediante la prueba Tukey en Minitab 19.

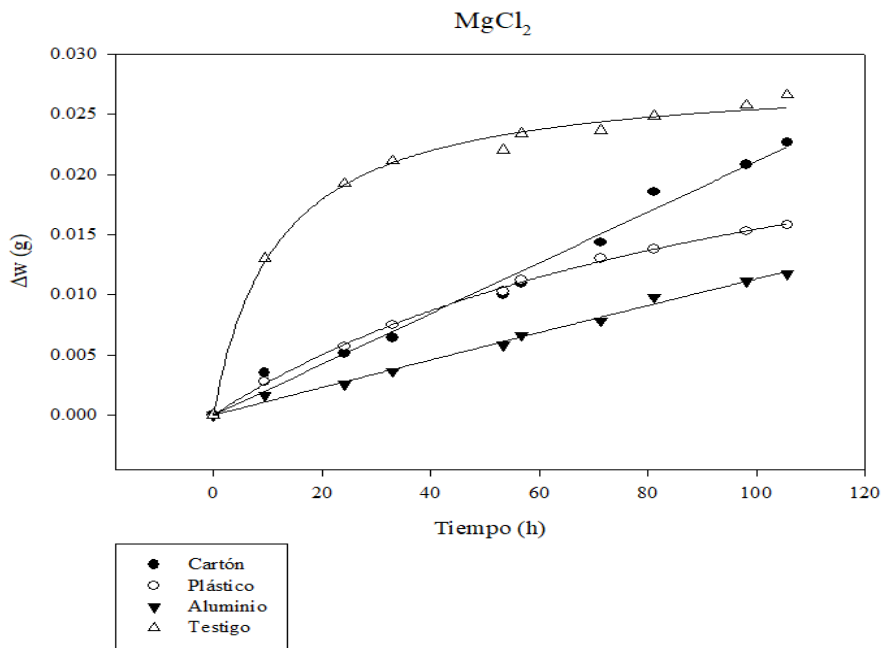
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Cinética de absorción de agua de leche en polvo

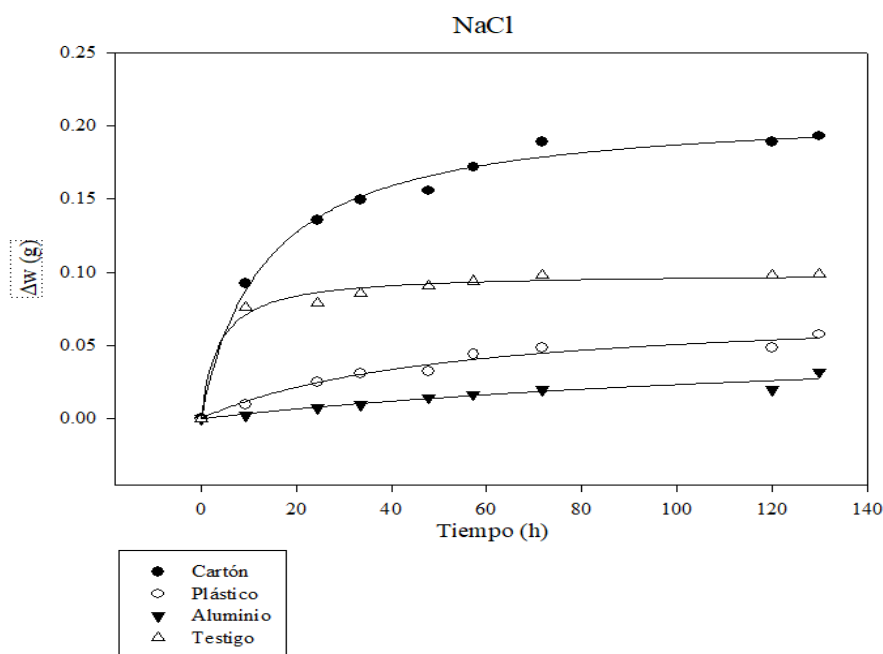
Los resultados del análisis gravimétrico de la absorción de agua de las muestras de leche en polvo almacenada en diferentes condiciones humedad, se muestran en la Figura 1-3. Como se puede observar, la absorción de agua se incrementa al aumentar el tiempo de almacenamiento. De manera general, la absorción de agua de leche en polvo presenta un comportamiento exponencial. Como se muestra en las Figuras 1-3, la muestra envasada en papel kraft (cartón) es la que absorbe la mayor cantidad de agua del ambiente indistintamente de la humedad relativa a la que se almacene, mientras que la muestra envasada en aluminio absorbe la menor cantidad de agua del ambiente. Es importante destacar que en condiciones de humedad relativa intermedia ( $MgCl_2$ : 32%), la muestra envasada en papel y plástico presentan un comportamiento similar en las primeras 60 h de almacenamiento.



**Figura 1.** Cinética de absorción de agua de leche en polvo almacenada en una humedad relativa de 20%.



**Figura 2.** Cinética de absorción de agua de leche en polvo almacenada en una humedad relativa de 32%.



**Figura 3.** Cinética de absorción de agua de leche en polvo almacenada en una humedad relativa de 87%.

Según Sopade *et al.* (2007) el modelo de Peleg, Pilosof – Boquet – Batholomai y Singh-Kulshrestha son matemáticamente el mismo modelo, y cualquiera de ellos puede usarse para modelar comportamientos de sorción de materiales alimentarios y no alimentarios por lo que, en la Tabla 1 se presentan los valores de los parámetros obtenidos por regresión no lineal del modelo cinético propuesto por Pilosof *et al.* (1985).

**Tabla 1.** Parámetros cinéticos del modelo de Pilosof en los diferentes tratamientos aplicados.

HR	Tratamiento	$Q$ (g agua/g muestra)	$B$ (h)	$K$	$R_0$ (g agua/g muestra·h)	$R^2$
20% (LiCl)	Testigo	1.78E-02	3.70E+01	1.5192	4.81E-04	0.9812
	Plástico	2.39	2.10E+06	1.9943E-09	1.14E-04	0.8364
	Aluminio	4.60E-03	1.68E+01	12.9727	2.75E-04	0.9318
	Cartón	3.85E-02	3.63E+01	0.7152	1.06E-03	0.9247
32% (MgCl <sub>2</sub> )	Testigo	2.83E-02	1.16E+01	3.0438	2.44E-03	0.9969
	Plástico	3.22E-02	1.09E+02	0.2855	2.96E-04	0.9995
	Aluminio	5.09E-01	4.40E+03	0.0004	1.16E-04	0.997
	Cartón	8.41	3.99E+06	2.9795E-10	2.11E-04	0.9928
87% (NaCl)	Testigo	9.95E-02	3.77E+00	2.6632	2.64E-02	0.9926
	Plástico	7.70E-02	5.17E+01	0.2513	1.49E-03	0.9843
	Aluminio	6.25E-02	1.68E+02	0.0953	3.72E-04	0.9582
	Cartón	2.12E-01	1.33E+01	0.3536	1.59E-02	0.996

La cinética de absorción se evaluó a través del incremento de peso de la leche en polvo en el tiempo. Los datos experimentales se ajustaron al modelo de Pilosof con un  $R^2 > 92\%$  para cada tratamiento confirmando que es un modelo que describe muy bien el incremento del peso de la muestra en el tiempo. El modelo establece que la mayor capacidad de absorción de agua es para los tratamientos de una HR de 87%, esto afirma lo descrito por Langowski, (2017) que establece que si un producto inicialmente seco se expone a aire de mayor humedad relativa, se establecerá un mayor valor de su contenido de agua, acompañado de una mayor actividad de agua.

Como se puede observar en la Tabla 1, la leche envasada en material de papel muestra una mayor tasa de absorción de humedad del medio ambiente, siendo incluso mayor a la muestra testigo. Esto podría ser atribuido a la composición del material, ya que el papel es un material que es capaz de absorber la humedad del medio, siempre y cuando la exposición sea por tiempos prolongados y en condiciones de alta humedad. Por el contrario, las muestras envasadas en aluminio y plástico mostraron comportamientos similares en las primeras horas del estudio y en condiciones de humedad superiores al 30%.

El modelo lineal general aplicado para cada HR de la ganancia del peso vs el tiempo de almacenamiento y el material de empaque tienen diferentes resultados (Tabla 2):

**Tabla 2.** Valores de *p* para el material de envase y tiempo en cada uno de los ambientes de almacenamiento.

Humedad Relativa	Material de envase	Tiempo
20% (LiCl)	0.000*	0.895
32% (MgCl <sub>2</sub> )	0.000*	0.012*
87% (NaCl)	0.000*	0.000*

\* Diferencia significativa a  $p < 0.05$

De acuerdo al análisis de Tukey, la comparación de medias muestra que hay diferencia significativa entre el cartón y los demás materiales de envase, el plástico y el testigo tienen un comportamiento similar entre sí, y el plástico y el aluminio también tienen un comportamiento similar en este caso.

De acuerdo a Kerry (2012) dentro de los usos finales del papel de aluminio como material de embalaje se encuentra el sistema cerrado para polvos secos como es el caso de la leche en polvo con un bajo nivel de contenido de humedad, esto por su capacidad de impermeabilidad que permite que el producto mantenga sus características fisicoquímicas y por lo tanto su vida útil sea más extensa.

## CONCLUSIÓN

El presente estudio estuvo centrado en la evaluación de la absorción de humedad de leche en polvo envasada en diferentes materiales de envase y almacenada en diferentes condiciones de humedad relativa. En este contexto, el material de envase fue decisivo para la permeación de humedad ambiental hacia el producto, observándose mayores tasas de absorción en leche envasada en papel. Así mismo, el plástico mostró ser un material de envase eficiente a humedades relativas superiores a 30%, mientras que el envase a base de aluminio conservó por mayor tiempo la humedad inicial de la leche en polvo, independientemente de la humedad relativa a la que se almacenara el producto. No obstante, sería conveniente más estudios para valorar la posible interacción del material de envase y el producto cuando se almacena en condiciones de alta humedad relativa (>70%).

## BIBLIOGRAFÍA

- Brousse, M. M., Nieto, A., Linares, A., & Vergara, M. (2012). Cinética de adsorción de agua en purés deshidratados de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3(1), 080-096.
- Gopirajah, R., & Anandharamakrishnan, C. (2017). Packaging of Dried Dairy Products. *Handbook of Drying for Dairy Products*.
- Kerry, J. (2012). Aluminium foil packaging. *Packaging Technology*, 163–177. <https://doi.org/10.1533/9780857095701.2.163>
- Langowski, H.-C. (2017). Shelf Life of Packed Food and Packaging Functionality. In H.-C. L. Preeti Singh, Ali Abas Wani (Ed.), *Food packaging materials : testing & quality assurance*, 12–60.
- Pilosof, A. M. R., Boquet, R., & Bartholomai, G. B. (1985). Kinetics of Water Uptake by Food Powders. *Journal of Food Science*, 50(1), 278–279. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb13334.x>
- Pugliese, A., Cabassi, G., Chiavaro, E., Paciulli, M., Carini, E., & Mucchetti, G. (2017). Physical characterization of whole and skim dried milk powders. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3433. <https://doi.org/10.1007/S13197-017-2795-1>
- Sopade, P. A., Xun, P. Y., Halley, P. J., & Hardin, M. (2007). Equivalence of the Peleg, Pilosof and Singh-Kulshrestha models for water absorption in food. *Journal of Food Engineering*, 78(2), 730–734. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.10.007>
- Wang, H. J., & Lee, D. S. (2019). Packaging and the Shelf Life of Milk Powder Products. In *Reference Module in Food Science*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.22647-4>
- Wexler, A., & Hasegawa, S. (1954). Relative humidity-temperature relationships of some saturated salt solutions in the temperature range 0 degree to 50 degrees C. *Journal of Research of the National Bureau of Standards*, 53(1), 19. <https://doi.org/10.6028/jres.053.003>

## Caracterización proximal, microbiológica y sensorial de diversos tipos de quesos tipo Chihuahua, elaborados en la Zona Norte de Zacatecas

J. Morales-Cruz\*, M.A. González-Arellano, F.J. Cruz-Guillen y V.M. Esparza-García

Instituto Tecnológico Superior Zacatecas Norte. Km 3 Carretera a González Ortega, C.P. 98400 Río Grande, Zacatecas, México. División de Ingeniería en Industrias Alimentarias. \*[juanmor2004@yahoo.com.mx](mailto:juanmor2004@yahoo.com.mx)

### RESUMEN

Se realizó la caracterización proximal, microbiológica y sensorial de diversos quesos tipo Chihuahua elaborados en la zona norte del estado de Zacatecas a los cuales se les efectuaron las determinaciones proximales, nutricionales, sensoriales y microbiológicas, se compararon el San Lorenzo y el queso Ramírez. Los resultados fueron: Queso San Lorenzo: proteína cruda 15.6 %, grasa 31.5 %, humedad 42.4 %, cenizas 3.3 % y carbohidratos 7.2 %. Queso Ramírez: proteína cruda 16.8 %, grasa 33.0 %, humedad 39.4 %, cenizas 3.1 % y carbohidratos 7.7 %. Los dos presentan resultados similares y se consideran como productos nutricionalmente aceptables. Los resultados sensoriales fueron muy buenos ya que los atributos con mayor aceptabilidad son: el sabor (QS 4.5 Y QR 3.8), olor (QS 4 Y QR 3.7), color (QS 4.6 y QR 3.5) y en textura (QS 4.2 y QR 4.2). Sensorialmente el queso San Lorenzo presenta una buena calidad organoléptica, según los resultados de los evaluadores. Los resultados microbiológicos de los dos quesos, están dentro de lo que nos exige la NOM-213-SSA1-2017. De manera general se concluye que el queso San Lorenzo posee mejor calidad que el Queso Ramírez.

**Palabras Clave:** Queso, caracterización, calidad.

### ABSTRACT

The proximal, microbiological and sensory characterization of various Chihuahua-type cheeses made in the northern part of the state of Zacatecas was carried out, to which proximal, nutritional, sensory and microbiological determinations were made, San Lorenzo and Ramírez cheese were compared. The results were: San Lorenzo cheese: crude protein 15.6%, fat 31.5%, moisture 42.4%, ashes 3.3% and carbohydrates 7.2%. Ramírez cheese: crude protein 16.8%, fat 33.0%, moisture 39.4%, ash 3.1% and carbohydrates 7.7%. Both present similar results and are considered nutritionally acceptable products. The sensory results were very good since the attributes with the highest acceptability are: taste (QS 4.5 and QR 3.8), smell (QS 4 and QR 3.7), color (QS 4.6 and QR 3.5) and texture (QS 4.2 and QR 4.2). Sensorially, San Lorenzo cheese has a good organoleptic quality, according to the results of the evaluators. The microbiological results of the two cheeses are within what is required by NOM-213-SSA1-2017. In general, it is concluded that San Lorenzo cheese has better quality than Ramírez cheese.

**Keywords:** Cheese, characterization, quality.

### INTRODUCCIÓN

El queso es un alimento de amplio consumo a nivel mundial, cuyas características nutritivas, texturales y sensoriales difieren entre cada tipo. Se estiman más de 2 000 variedades de queso entre madurados, semimadurados y frescos (Alais, 2003).

No obstante, en nuestro país y la región Río grande predomina el consumo de quesos, los mismos que forman parte de una enorme variedad de platillos que constituyen nuestro legado gastronómico (MINAGRI, 2009).

La práctica en torno a la elaboración del queso fresco ha sufrido importantes cambios, transformándola de un arte empírico a una tecnología industrial donde se han identificado diversos factores causantes de modificaciones en las propiedades del queso (microestructura, propiedades fisicoquímicas, texturales, y sensoriales), entre ellos, las condiciones del proceso, almacenamiento y las alteraciones provocadas por microorganismos, tales como: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., coliformes totales y fecales, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, entre otros; son considerados los principales causantes de intoxicación alimentaria (Otero, 1990).

La presente investigación es de gran importancia ya que tiene como objetivo dar a conocer a la población la calidad nutricional, microbiológica y sensorial de los quesos frescos que expenden las queserías más representativas de la ciudad de Río Grande y determinar si no representan un riesgo para su salud.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar este trabajo se compraron dos quesos de marcas diferentes, elaborados en la región y muy consumidas por la población de Río Grande.

Se les realizaron los análisis siguientes: proximal, sensorial y microbiológico, con el objetivo de determinar las características más importantes de cada uno y así poder determinar la calidad total de los mismos. Posteriormente se podrá efectuar una comparación general, tomando como base los resultados obtenidos de todas las evaluaciones realizadas a cada uno.

Dentro del análisis proximal, se determinará el contenido de humedad, proteína, grasa, carbohidratos, fibra cruda y cenizas, por los métodos descritos por la AOAC (1990), para obtener la tabla nutricional de cada uno.

La evaluación sensorial que se va a realizar a los quesos, va a ser mediante un análisis descriptivo cuantitativo, con el apoyo de 15 jueces no entrenados, mediante una escala de 5 puntos, donde los atributos que se utilizaran son: sabor, color, olor y textura.

Para la comparación de los quesos se les realizará una prueba organoléptica tipo Afectiva de preferencia, utilizando un panel de 50 consumidores, para definir cuál es el que más prefieren.

Las determinaciones microbiológicas a realizar según NOM-213-SSA1-2017, son las siguientes: Coliformes totales, *Escherichia coli*, Mesófilos aerobios y los microorganismos patógenos, *Salmonella* spp, *Shigella* y *Staphylococcus aureus*.



## RESULTADOS

### Análisis Proximal

#### Queso San Lorenzo

Los resultados del análisis proximal del Queso San Lorenzo, se presentan en la Tabla I, donde se muestra que el porcentaje de proteína cruda fue de 15.6 %, grasa 31.5 %, humedad 42.4 %, cenizas 3.3 % y carbohidratos 7.2 %.

#### Queso Ramírez

Los resultados del análisis proximal del queso Ramírez, se presentan en la Tabla I, donde se muestra que el porcentaje de proteína cruda fue de 16.8 %, grasa 33.0 %, humedad 39.4 %, cenizas 3.1 % y carbohidratos 7.7 %.

**Tabla I.** Resultados análisis proximales de los dos quesos.

Parámetros	Resultado% (Queso San Lorenzo )	Resultado% (Queso Ramírez)
Humedad	42.4	39.4
Grasa	31.5	33.0
Proteína Cruda	15.6	16.8
Fibra Cruda	0.0	0.0
Cenizas	3.3	3.1
Extracto Libre de Nitrógeno	7.2	7.7

### Comparación Proximal

La calidad fisicoquímica de los quesos está influenciada por la calidad de la leche, y la disminución de pH por la acidificación previa al cuajado, que depende del tiempo que tarda en iniciar la cuajada, al adicionar el cuajo. Por lo cual las características proximales de los quesos producidos y comercializados en Río Grande, Zacatecas tuvieron valores similares, los valores fueron: proteína (15.6 a 16.8 %), grasa (31.5 a 33.0 %), humedad (42.4 a 39.4 %), minerales (3.3 a 7.7) y fibra (0.0 a 0.0 %). La diferencia apreciada en la composición proximal entre los quesos es mínima, la cual puede ser atribuida entre otros factores a la composición de la leche y al propio proceso de elaboración del queso.

**Tabla II.** Resultados de análisis nutricional del Queso San Lorenzo, tamaño de la porción 100 g.

Nutrimento	Contenido (g)	Contenido energético (Kcal.)
Grasa	31.5	283.5
Proteínas	15.6	62.5
Carbohidratos digeribles	7.2	29
Fibra	0.0	0.0
Sodio	225 mg	
Contenido energético total		375 (Kcal)

**Tabla III.** Resultados de análisis nutricional del Queso Ramírez, tamaño de la porción 100 g.

Nutrimento	Contenido (g)	Contenido energético (Kcal.)
Grasa	33.0	297
Proteínas	16.8	67.2
Carbohidratos digeribles	7.7	30.7
Fibra	0.0	0.0
Sodio	284 mg	
Contenido energético total		395 (Kcal)

### Comparación Nutricional

Los productos lácteos son alimentos valiosos desde el punto de vista nutricional, ya que aportan una gran variedad de nutrientes de elevada calidad y sus efectos sobre la salud, en cuanto a los análisis obtenidos (ver Tablas II y III) su contenido en proteína (15 a 16%) presenta una diferencia mínima debido a que las proteínas que aportan los quesos (por ser de origen animal) son las razones de esta diferencia. En cuanto a los hidratos de carbono (7.2 a 7.7%), estos quesos contienen lactosa como fuente de carbohidratos. Para el caso de la concentración de sodio es añadido durante el proceso de salado y es utilizado como un conservador, influyendo de igual manera a su calidad y a su composición y por último, en contenido de grasa (31.5 a 33.0) es una característica de las condiciones de la leche, por lo que las grasas obtenidas en su mayoría son saturadas, cabe destacar que estos valores se consideran nutricionalmente aceptables.

Un aspecto importante es la energía que cada macronutriente aporta, las proteínas aportan 4 Kcal/g, los hidratos de carbono 4 Kcal/g y las grasas 9 Kcal/g, estos compuestos contribuyen al contenido energético que proporcionan los diferentes quesos analizados. El Queso San Lorenzo aporta 375 Kcal/100 g, mientras que el Queso Ramírez aporta 395 Kcal/100g; lo anterior nos indica que el QR aporta más energía que el QS, por tanto el QR es mejor nutricionalmente que el QS, además del aporte en energía, estas sustancias desarrollan diversas funciones metabólicas.

### Resultados de la Evaluación Sensorial de los Quesos

En los resultados de la evaluación sensorial, se observa la variación de cada producto (Queso San Lorenzo (QS) y Queso Ramírez (QR)) (Ver tabla IV y V), en las cuales se muestran los resultados promedio de cada uno de los atributos estudiados (QS 4.5 y QR 3.8) para el olor (QS 4 y QR 3.7), color (QS 4.6 y QR 3.5) y en textura (QS 4.2 y QR 4.2). En los resultados de la impresión sensorial general se destaca que el QS obtuvo 4.3 y el Queso Ramírez 3.8, esto nos indica que el queso San Lorenzo presenta una mejor calidad organoléptica, que el Queso Ramírez.

**Tabla IV.** Resultados de la evaluación sensorial Queso San Lorenzo (impresión general).

Atributos	Evaluadores															Impresión general
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Color	4	5	4	5	5	5	4	5	4	5	4	5	5	4	5	<b>4.6</b>
Sabor	5	5	4	4	4	5	5	4	4	5	5	5	4	5	4	<b>4.5</b>
Olor	4	4	4	4	3	3	5	5	3	3	5	5	3	5	4	<b>4.0</b>

Textura	4	4	4	5	3	4	4	5	4	4	4	5	4	5	5	<b>4.2</b>
<b>Total</b>																<b>4.3</b>

**Tabla V.** Resultados de la evaluación sensorial Queso Ramírez (impresión general).

Atributos	Evaluadores															Impresión general
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Color	4	4	4	4	3	3	4	3	4	3	4	3	3	4	3	<b>3.5</b>
Sabor	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	<b>3.8</b>
Olor	4	4	4	4	3	3	5	5	3	3	3	3	3	5	4	<b>3.7</b>
Textura	4	4	4	4	5	4	4	5	4	4	4	5	4	4	5	<b>4.2</b>
<b>Total</b>																<b>3.8</b>

**Resultados de la comparación sensorial “tipo afectiva” del Queso San Lorenzo, contra el Queso Ramírez.**

Los resultados nos indican que de 50 evaluadores (consumidores) que realizaron la prueba, 40 de ellos prefirieron el Queso San Lorenzo y 10 solamente al Queso Ramírez. Esto nos demuestra, que el Queso San Lorenzo tuvo mayor preferencia y por tanto es mejor según los consumidores.

**Resultado análisis microbiológico**

Los resultados de las determinaciones microbiológicas del queso San Lorenzo (Tabla VI), fueron los siguientes: el recuento de coliformes totales 3 NMP/g, mesófilos aerobios 3900 UFC/g, para *Escherichia coli* fue de 2 NMP/g. Los resultados de los patógenos: *Salmonella* spp. fue negativo y 1000 UFC/g de *Staphylococcus aureus*. Comparando los resultados con lo que nos exige la NOM-213-SSA1-2017, todos los resultados de las determinaciones, cumplen con lo que piden las normas para este tipo de productos.

Teniendo en cuenta el valor de referencia de algunos productos comerciales y la norma oficial para este tipo de queso, se considera que este un producto de buena calidad microbiológica.

**Tabla VI.** Resultados de las determinaciones microbiológicas del Queso San Lorenzo.

Determinaciones	Resultados obtenidos	Parámetros según PROY-NOM-213-SSA1-2017	
		Mínimo	Máximo
Coliformes totales	3 NMP/g	NA	NA
Mesófilos aerobios	3900 UFC/g	NA	NA
<i>Escherichia coli</i>	2 NMP/g		100 U FC/g
<i>Salmonella</i> spp, <i>Shigella</i>	Negativo	Ausente en 25g	negativo
<i>Staphylococcus aureus</i>	1000 UFC/g		10000 UFC/g

**Tabla VII.** Resultados de las determinaciones microbiológicas del Queso Ramírez.

Determinaciones	Resultados obtenidos	Parámetros según PROY-NOM-213-SSA1-2017	
		Mínimo	Máximo
Coliformes totales	4 NMP/g	NA	NA
Mesófilos aerobios	4 500 UFC/g	NA	NA
<i>Escherichia coli</i>	3 NMP/g		100 U FC/g
<i>Salmonella</i> spp, <i>Shigella</i>	Positivo	Ausente en 25g	negativo
<i>Staphylococcus aureus</i>	2000/UFC/G		10000 UFC/g

Los resultados de las determinaciones microbiológicas del Queso Ramírez, fueron los siguientes: coliformes totales 4 NMP/g, mesófilos aerobios 4500 UFC/g, para *Escherichia coli* fue de 3 NMP/g. Los resultados de los patógenos: *Salmonella* spp. fue positiva y 2000 UFC/g de *Staphylococcus aureus*. La mayoría de las determinaciones cumplen con lo que nos marcan las normas establecidas para este tipo de productos, solamente el Queso Ramírez resulto contaminado por *Salmonella*. Por tanto este queso no está apto para el consumo humano de manera natural, solamente fundido se puede consumir, recomendando que pasteuricen la leche para que puedan elaborar el queso.

## CONCLUSIÓN

En esta Investigación se determinaron las características proximales, nutrimentales y microbiológicas de dos tipos de Quesos, en donde el Queso San Lorenzo obtuvo mejores resultados, nutricionales y microbiológicas, mientras que el Queso Ramírez obtuvo mejores resultados en los análisis proximales, estos nos indican que los dos tipos de quesos tienen buena calidad, pero el que tiene mayor preferencia por los consumidores es el San Lorenzo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2006). Base de datos estadísticos de la FAO. <http://www.faostat.fao.org>. Último acceso 24 Febrero 2006.
- Alais, Ch. (2003). *Ciencia de la Leche*. Principio de Técnica Lechera. Cuarta edición. Editorial Reverte. S.A. Barcelona, España.
- Chávez, E. (2006). Diagnóstico de las condiciones microbiológicas y fisicoquímicas del queso costeño producido en el Municipio de Sincé – Sucre- Colombia. Tesis Para optar el grado de Ingeniero Agroindustrial.
- Cristóbal-Delgado, R, L. y Murtua-Torres, D, J. (2003). Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp. *Rev. Panam. Salud Publica/Pan Am J Public Health*. 14 (3), 158-164.
- MINSA. (2008). R.M. N° 591-2008-MINSA: Norma Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano (Criterio I. 1.8).

- Mungai, E.A., Behraves, C.B., and Gould, L.H. (2015). Increased outbreaks associated with non-pasteurized milk, United States, 2007-2012. *Emerg Infect Dis.* 21: 119–122.
- NOM-092-SSA1-1994, Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- NOM-093-SSA1-1994, Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.
- NOM-109-SSA1-1994, Procedimiento para la toma, manejo y transporte de muestra de alimentos para su análisis microbiológico.
- NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestra de alimentos para su análisis microbiológico.
- NOM-112-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.
- NOM-114-SSA1-1994, Método para la de determinación de *Salmonella* en alimentos.
- NOM-115-SSA1-1994, Método para determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.

## Caracterización fisicoquímica y sensorial del pulque producido en la zona sur del estado de Guanajuato

E. Flores-Rodríguez\* y R. Miranda-López

Instituto Tecnológico de Celaya, Departamento de Ingeniería Bioquímica, Av. Tecnológico esq. Antonio García Cubas s/n, Col. Alfredo Vázquez Bonfil, C.P. 38010, Celaya, Guanajuato, México.  
m2103013@itcelaya.edu.mx

### RESUMEN:

El pulque es una bebida alcohólica tradicional mexicana que se produce a partir de la fermentación de la savia dulce que se extrae del tallo de diversas especies del género *Agave*, es un líquido color blanquecino, consistencia viscosa, ligeramente ácido y con bajo contenido de alcohol. En este estudio se evaluaron las propiedades fisicoquímicas y se desarrolló un perfil sensorial a través de un análisis descriptivo cuantitativo (ADC) para aroma, sabor y resabio del pulque producido en los municipios de Comonfort (COM), Tarimoro (TAR) y Valle de Santiago (VDS), ubicados al sur del estado de Guanajuato. Los resultados mostraron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) para TAR en los parámetros de pH ( $3.68 \pm 0.01$ ), SST ( $8.46 \pm 0.05$  °Bx), alcohol (4.7%) y densidad (1 g/mL) respecto COM y VDS. El perfil sensorial identificó 19 descriptores distribuidos para aroma, sabor y resabio, predominando los aromas a manzana ( $5.1 \pm 0.6$ ), nota alcohólica ( $4 \pm 0.6$ ) y vinagre de manzana ( $3.4 \pm 1$ ); ácido ( $5.4 \pm 0.5^a$ ), dulce ( $4.1 \pm 1^a$ ) y ácido ( $3.9 \pm 0.8^a$ ) para sabor; y para resabio sidra ( $3.7 \pm 0.5^a$ ) y levadura ( $3.1 \pm 1^a$  y  $2.6 \pm 0.5^a$ ). Esto sugiere que las propiedades sensoriales y fisicoquímicas podrían estar relacionadas con la región en la que se produce el pulque.

**Palabras clave:** Análisis Sensorial, pulque, descriptores, Análisis Descriptivo Cuantitativo, propiedades fisicoquímicas.

### ABSTRACT:

Pulque is a traditional Mexican alcoholic beverage produced from the fermentation of the sweet sap extracted from the stems of several species of the *Agave* family. It is a liquid of whitish color, viscous consistency, slightly acidic, and of low alcohol content. In this study, physicochemical properties were evaluated and a sensory profile was developed through quantitative descriptive analysis (QDA) for scent, flavor, and aftertaste of pulque produced in the municipalities of Comonfort (COM), Tarimoro (TAR), and Valle de Santiago (VDS), located in the southern region of the state of Guanajuato. The results showed a significant difference ( $p < 0.05$ ) for TAR in pH parameters ( $3.68 \pm 0.01$ ), TSS ( $8.46 \pm 0.05$  °Bx), alcohol (4.7%), and density (1 g/mL) concerning COM and VDS. The sensory profile identified 19 distributed descriptors for scent, flavor, and aftertaste, prevailing apple ( $5.1 \pm 0.6$ ), alcoholic note ( $4 \pm 0.6$ ), and apple vinegar ( $3.4 \pm 1$ ) for scent; acid ( $5.4 \pm 0.5^a$ ), sweet ( $4.1 \pm 1^a$ ) and ethanol ( $3.5 \pm 0.5^a$ ) for flavor; and cider ( $3.7 \pm 0.5^a$ ) and yeast ( $3.1 \pm 1^a$  and  $2.6 \pm 0.5^a$ ) for the aftertaste. This suggests that the sensory and physicochemical properties could be related to the region in which the pulque is produced.

**Keywords:** Sensorial Analysis, *pulque*, descriptors, Quantitative Descriptive Analysis, physicochemical properties

## INTRODUCCIÓN

El pulque es una bebida fermentada que se elabora a partir de la savia del maguey (denominada aguamiel) que se extrae de diversas especies del género *Agave* (siendo las principales *Agave salmiana*, *A. mapisaga* y *A. americana*). Se caracteriza por ser un líquido color blanco, consistencia viscosa, ligeramente ácido (pH = 3.0-4.2) y con un contenido de alcohol de 4-7° Gay Lussac (Escalante *et al.*, 2016).

La producción de pulque inicia con la *capado* del maguey y la elaboración del cajete (donde se almacena la savia), extracción, preparación del inóculo y fermentación en tinacales bajo temperatura y humedad controladas (Escalante *et al.*, 2016). Los principales microorganismos implicados en el proceso son bacterias ácido lácticas (LAB), bacterias del ácido acético (AAB) y microorganismos productores de etanol que le confieren sus propiedades fisicoquímicas, sensoriales y nutricionales (Escalante *et al.*, 2008; Rojas-Rivas E. *et al.*, 2020).

En la época prehispánica el pulque se consumía como medicina tradicional para diversos malestares gastrointestinales. En la actualidad hay diversos reportes que demuestran que su consumo previene la constipación y la diarrea; efectividad en el tratamiento de enfermedades gastrointestinales e inflamatorias; y es fuente importante de probióticos (Anderson *et al.*, 1946; Hernández, 2007). Su importancia radica en su alto contenido en vitamina B y C, minerales y aminoácidos esenciales, es fuente de hierro no hemo, antioxidantes, fenoles y saponinas, los últimos son compuestos bioactivos (Steinkraus, 1997; Backstrand *et al.*, 2002; Matías-Luis *et al.*, 2019).

Escalante *et al.*, (2016) sugirieron que las propiedades sensoriales del pulque están definidas por el desarrollo simultáneo de tres tipos de fermentación, las cuales son (1) la fermentación ácida por bacterias ácido lácticas (LAB), (2) alcohólica por las levaduras *S. cerevisiae* y *Z. mobilis* y (3) ácida a cargo de bacterias ácido acéticas (AAB), así como por la síntesis de polisacáridos extracelulares EPS (Extracellular Polysaccharides) a cargo de algunas especies del género *Leuconostoc*, las cuales sintetizan gran variedad de compuestos aromáticos que le proveen el aroma y el sabor característicos (Herrera-Solorzano, 2008).

El Análisis Descriptivo se encarga de definir las propiedades de apariencia, aroma, sabor, textura o sonido de un producto, lo cual se logra a través de la detección y descripción de esos aspectos mediante un panel de jueces entrenados y capaces de calificar dichos parámetros cuantitativos de una muestra para definir las notas cualitativas (descriptores) presentes (Meilgaard, M. *et al.*, 2016).

En el estado de Guanajuato existe escasa información sobre la producción de pulque, por lo que es indispensable una caracterización para contrarrestar la negatividad que lo ha desprestigiado, contribuyendo de esta manera a revalorizar su consumo mediante la divulgación de sus propiedades sensoriales y fisicoquímicas, ya que, de no tomar acciones para rescatar esta bebida tradicional, su consumo podría desaparecer.

En el presente estudio se realizó un análisis de las propiedades fisicoquímicas y se desarrolló un perfil sensorial a muestras de pulque producidas en los municipios de Comonfort, Tarimoro y Valle de Santiago, ubicados en la zona sur del estado de Guanajuato, para evaluar la calidad del producto y

contribuir a la generación de conocimiento científico, así mismo, favoreciendo la revaloración del consumo de esta bebida tradicional.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Obtención de la Muestra**

Se utilizó pulque fresco natural, con un tiempo de fermentación de 6 h proveniente de las comunidades de Jalpilla (20°43'41.0"N 100°43'26.7"W) en el municipio de Comonfort (COM), Rancho El Venado (20°19'18.3"N 100°44'18.3"W) en Tarimoro (TAR), y Magdalena de Araceo (20°18'46.1"N 101°11'02.2"W) Valle de Santiago (VDS), Guanajuato. Las muestras se recolectaron en recipientes de PET previamente esterilizados y se almacenaron en refrigeración a 2°C.

#### **Análisis Físicoquímico**

Para evaluar el pH se utilizó el método de la A.O.A.C., 945.10 (A.O.A.C., 2000), el cual se llevó a cabo con un potenciómetro marca OHAUS previamente calibrado, y se realizó la medición directamente sobre la muestra a una temperatura de 20°C. La acidez titulable se determinó de acuerdo con el método de la A.O.A.C, 950.15, para cuantificar el contenido de ácido láctico y ácido acético presentes en la muestra por titulometría con fenolftaleína al 1% como indicador y hasta un pH de 8.3 (Álvarez-Ríos y col., 2020). El porcentaje de sólidos solubles totales (SST) se determinó mediante la medición del índice de refracción (grados Brix, ° Bx) a 20°C con un refractómetro digital ATAGO de bolsillo. El porcentaje de alcohol se determinó mediante un refractómetro Milwaukee Mod. MA884 a una temperatura de 20°C. La densidad se determinó utilizando un matraz aforado de 10 mL a peso constante, utilizando la fórmula  $\rho = m/v$ , en la que  $\rho$  es densidad, m es la masa de la muestra en gramos y v el volumen de la muestra en mL.

#### **Desarrollo del Perfil Sensorial**

Se llevó a cabo el entrenamiento de un panel sensorial conformado por 8 jueces de edades entre 22 y 25 años mediante la metodología del Análisis Descriptivo Cuantitativo, para evaluar los parámetros de aroma, sabor y resabio, y determinar los descriptores presentes en cada muestra y su intensidad, empleando una escala de 10 puntos (1= apenas detectable y 10 = intensidad extrema).

#### **Análisis Estadístico**

Todas las mediciones se realizaron de manera independiente y por triplicado, el análisis estadístico se llevó a cabo con el software Statiscal Analysis System (SAS) versión 9.3. Se utilizó la prueba de Tukey para realizar la comparación de medias, estableciendo como criterio de significación un valor de  $P < 0.05$ .

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **Análisis Físicoquímico**

Los resultados obtenidos de la determinación físicoquímica se muestran en la tabla 1, donde se realiza una comparación de medias con un valor de significancia de  $P < 0.05$  para cada parámetro de cada municipio. Como puede observarse, el pulque de Tarimoro posee diferencia estadísticamente



significativa en todos los parámetros con respecto a los municipios de Comonfort y Valle de Santiago, con valores para Tarimoro de pH = 3.68 ( $\pm 0.01$ ), ácido láctico de 0.76 % ( $\pm 0.02$ ), ácido acético de 0.50 % ( $\pm 0.01$ ), sólidos solubles totales de 8.46 °Brix ( $\pm 0.05$ ), alcohol 4.7 % y densidad 1.0 g/mL.

Para el parámetro de pH existe diferencia significativa entre las tres muestras, siendo el pulque de Valle de Santiago el más ácido con un pH = 3.14 $\pm 0.04$ , lo cual podría relacionarse con el tiempo de fermentación al que es sometido. Respecto a la acidez, no existe diferencia significativa entre las muestras de Comonfort y Valle de Santiago, pero sí con Tarimoro. En los parámetros de sólidos solubles totales, contenido de alcohol y densidad sí existe diferencia significativa, dado que el pulque de Valle de Santiago es el municipio con menor concentración de alcohol (1.96 %), de SST (3.56 °Bx), seguido de Comonfort (2.4 % de alcohol y 4.33 °Bx). Álvarez-Ríos y col. (2020) reportó resultados similares para muestras de pulque originarias del estado de Michoacán, pH = 4.04, acidez titulable de 0.74% y densidad de 0.9854 g/mL.

**Tabla I.** Propiedades fisicoquímicas del pulque.

Municipio	pH	Ácido Láctico (g/100mL)	Ácido Acético (g/100mL)	SST (° Brix)	Alcohol (%)	Densidad (g/mL)
Comonfort	4.12 $\pm 0.02$ <sup>a</sup>	0.70 $\pm 0.00$ <sup>b</sup>	0.47 $\pm 0.00$ <sup>b</sup>	4.33 $\pm 0.15$ <sup>b</sup>	2.4 $\pm 0.10$ <sup>b</sup>	0.98 $\pm 0.00$ <sup>c</sup>
Tarimoro	3.68 $\pm 0.01$ <sup>b</sup>	0.76 $\pm 0.02$ <sup>a</sup>	0.50 $\pm 0.01$ <sup>a</sup>	8.46 $\pm 0.05$ <sup>a</sup>	4.7 $\pm 0.00$ <sup>a</sup>	1.00 $\pm 0.00$ <sup>a</sup>
Valle de Santiago	3.14 $\pm 0.04$ <sup>c</sup>	0.69 $\pm 0.01$ <sup>b</sup>	0.46 $\pm 0.00$ <sup>b</sup>	3.56 $\pm 0.15$ <sup>c</sup>	1.96 $\pm 0.05$ <sup>c</sup>	0.99 $\pm 0.00$ <sup>b</sup>

### Desarrollo del Perfil Sensorial

Se encontraron 19 descriptores (algunos repetidos) que de acuerdo con la evaluación de los jueces se distribuyeron en 16 para aroma, 14 para sabor y 12 para resabio, los que demostraron diferencia significativa fueron los siguientes con sus respectivas siglas: ácido acético (AAC), ácido cítrico (ACC), acidez (ACI), ácido láctico (ALA), amargo (AMA), dulce (DUL), hongo (HON), levadura (LEV), manzana (MAN), miel (MIE), moho (MOH), alcohol (OH), piña fermentada (PIF), piña (PIÑ), sidra (SID), vinagre de manzana (VMA).

Las intensidades para los descriptores de aroma que mostraron diferencia significativa entre cada región se muestran en la tabla II (ver tabla II), para los descriptores de AAC las muestras de VDS y COM (2.6 $\pm 0.5$ <sup>a</sup> y 2.9 $\pm 0.6$ <sup>a</sup>, respectivamente) fueron estadísticamente diferentes a TAR (1.6 $\pm 0.4$ <sup>b</sup>). La muestra COM obtuvo las intensidades más altas para los descriptores de OH, AMA, LEV y PIF, predominando el aroma a nota alcohólica (4 $\pm 0.6$ <sup>a</sup>), lo cual, si se compara con los resultados del análisis fisicoquímico, COM tiene menos grados Brix y mayor acidez que TAR, por lo que obtuvo mayor intensidad en nota alcohólica; la muestra TAR tiene la mayor intensidad de aroma para los descriptores MAN, MIE y SID, predominando el aroma a manzana (5.1 $\pm 0.6$ <sup>a</sup>), lo cual se adjudica a que obtuvo un mayor resultado para grados Brix.; y, para la muestra VDS predominan los aromas a AAC, MOH, SID y VMA, siendo mayor la intensidad a vinagre de manzana (3.4 $\pm 1$ <sup>a</sup>), lo cual podría relacionarse con su bajo pH y acidez.

**Tabla II.** Descriptores y sus intensidades para el parámetro aroma.

LOC	AAC	OH	AMA	MOH	HON	LEV	MAN	MIE	PIF	SID	VMA
COM	2.9 $\pm 0.6$ <sup>a</sup>	4.0 $\pm 0.6$ <sup>a</sup>	3.0 $\pm 0.8$ <sup>a</sup>	2.3 $\pm 0.5$ <sup>a</sup>	2.6 $\pm 0.3$ <sup>a</sup>	3.6 $\pm 0.4$ <sup>a</sup>	1.1 $\pm 0.4$ <sup>b</sup>	1.4 $\pm 0.5$ <sup>b</sup>	2.9 $\pm 0.6$ <sup>a</sup>	1.1 $\pm 0.4$ <sup>b</sup>	1.6 $\pm 0.6$ <sup>b</sup>
TAR	1.6 $\pm 0.4$ <sup>b</sup>	2.5 $\pm 0.5$ <sup>b</sup>	2.1 $\pm 0.2$ <sup>b</sup>	1.1 $\pm 0.4$ <sup>b</sup>	1.3 $\pm 0.5$ <sup>b</sup>	2.1 $\pm 0.2$ <sup>c</sup>	5.1 $\pm 0.6$ <sup>a</sup>	2.6 $\pm 0.5$ <sup>a</sup>	1.4 $\pm 0.6$ <sup>b</sup>	2.6 $\pm 0.7$ <sup>a</sup>	1.4 $\pm 0.4$ <sup>b</sup>
VDS	2.6 $\pm 0.5$ <sup>a</sup>	2.6 $\pm 0.6$ <sup>b</sup>	2.4 $\pm 0.4$ <sup>ab</sup>	2.5 $\pm 0.4$ <sup>a</sup>	2.1 $\pm 0.2$ <sup>a</sup>	2.9 $\pm 0.4$ <sup>b</sup>	1.4 $\pm 0.4$ <sup>b</sup>	1.3 $\pm 0.5$ <sup>b</sup>	2.5 $\pm 0.4$ <sup>a</sup>	2.6 $\pm 0.6$ <sup>a</sup>	3.4 $\pm 1$ <sup>a</sup>

En la tabla III se muestran los descriptores de sabor, en la que se indica que en la muestra COM predominan los sabores de ACI, AMA, AAC, ALA y LEV, sobresaliendo el sabor ácido ( $5.4 \pm 0.5^a$ ), lo que se relaciona con su contenido de ácido láctico y acético; para la muestra TAR predominan el DUL, MAN y PIÑ, sobresaliendo el sabor dulce ( $4.1 \pm 1^a$ ), lo cual podría estar relacionado con su contenido en SST, dado que es la muestra con más grados Brix; finalmente, para VDS sobresalen AAC, OH y MAN, predominando el sabor a ácido ( $3.9 \pm 0.8^a$ ), dado que fue la muestra que reportó menor pH.

**Tabla III.** Descriptores y sus intensidades para el parámetro sabor.

LOC	DUL	ACI	AMA	AAC	ACC	ALA	OH	LEV	MAN	PIÑ
COM	$2.6 \pm 0.3^b$	$5.4 \pm 0.5^a$	$3.5 \pm 0.5^a$	$2.4 \pm 0.4^a$	$1.5 \pm 0.4^b$	$3.5 \pm 0.4^a$	$3.4 \pm 0.4^a$	$3.4 \pm 0.4^a$	$1.5 \pm 0.5^b$	$1.1 \pm 0.4^b$
TAR	$4.1 \pm 1^a$	$2.6 \pm 0.5^c$	$1.3 \pm 0.5^b$	$1.8 \pm 0.8^b$	$1.8 \pm 0.5^b$	$2.2 \pm 0.4^c$	$2.3 \pm 0.5^b$	$1.7 \pm 0.5^b$	$2.9 \pm 0.4^a$	$2.1 \pm 1^a$
VDS	$3.1 \pm 0.8^b$	$3.9 \pm 0.8^b$	$2.1 \pm 1.1^b$	$2.4 \pm 0.3^a$	$2.4 \pm 0.4^a$	$2.9 \pm 0.2^b$	$3.5 \pm 0.5^a$	$3.1 \pm 1^a$	$2.9 \pm 0.5^a$	$1.3 \pm 0.5^{ab}$

La tabla IV muestra los resultados para los descriptores que tienen diferencia estadísticamente significativa respecto al resabio, en las muestras COM y VDS predomina el resabio a levadura ( $3.1 \pm 1^a$  y  $2.6 \pm 0.5^a$ , respectivamente) y en la muestra TAR predomina el resabio a sidra ( $3.7 \pm 0.5^a$ ).

**Tabla IV.** Descriptores y sus intensidades para el parámetro aroma.

Municipio	DUL	LEV	SID
COM	$2.1 \pm 1.3^b$	$3.1 \pm 1^a$	$2.1 \pm 1.4^b$
TAR	$3.5 \pm 0.5^a$	$1.6 \pm 0.5^b$	$3.7 \pm 0.5^a$
VDS	$2.2 \pm 1.1^b$	$2.6 \pm 0.5^a$	$2.1 \pm 0.8^b$

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede sugerir que las propiedades fisicoquímicas y el perfil sensorial están relacionados con la región en la que se produce el aguamiel, que es la materia prima para la elaboración de pulque, dado que Rivas-Hilario (2014), al establecer un perfil sensorial del pulque, a través del Análisis Descriptivo Cuantitativo (ADC), encontró que las diferencias entre muestras dependen del tipo de elaboración y procedencia (Rojas-Rivas *et al.*, 2016; Rojas-Rivas *et al.*, 2020). Así mismo, lo anterior concuerda con Escalante *et al.* (2016), dado otros factores que determinan las propiedades del pulque son la especie de agave, el clima de la región, el consorcio microbiano autóctono que habita en el cajete del maguey y el tiempo al cual se somete a fermentación.

## CONCLUSIÓN

Se encontró que el pulque producido en Tarimoro es diferente estadísticamente ( $p < 0.05$ ) en los parámetros fisicoquímicos de pH, SST, contenido de alcohol y densidad con respecto al que se produce en Comonfort y Valle de Santiago, entre los cuales no hay diferencia significativa. Se desarrolló el perfil sensorial para el pulque producido en los tres municipios y se identificaron 19 descriptores distribuidos para aroma, sabor y resabio. Predominaron con mayor intensidad los aromas a manzana, alcohol y vinagre de manzana; ácido y dulce para sabor; sidra y levadura para resabio. Los resultados hallados sugieren que las propiedades sensoriales y fisicoquímicas sí podrían estar relacionadas con la región en la que se produce el pulque. Sin embargo, se sugiere realizar una investigación a fondo para determinar qué otros factores están involucrados en las propiedades fisicoquímicas y el perfil sensorial.

## BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez-Ríos, G. D.-U., & Casas, A. (2020). Sistemas de manejo de maguey pulquero en México. *Revista Etnobiología*, 18(2), 3-23.
- Anderson, R. K., Calvo, J., Serrano, G., & Payne, G. (1946). A study of nutritional status and food habits of Otomi Indians in the Mezquital Valley of Mexico. *American Journal of Public Health*, 36, 883-903.
- AOAC, A. o. (2000). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Chemists* (17th ed.). Gaithersburg, USA: AOAC.
- Backstrand, J. R., Allen, L. H., Black, A. K., & De Mata, M. P. (2002). Diet and iron status of nonpregnant women in rural Central-Mexico. *American Journal of Society for Clinical Nutrition*, 76, 156-164.
- Escalante, A., López-Soto, D., Velázquez-Gutiérrez, J., Giles-gómez, M., Bolívar, F., & López-Munguía, A. (2016). Pulque, a traditional mexican alcoholic fermented beverage: historical, microbiological, and technical aspects. *Frontiers in Microbiology*, 7(1026), 1026-1044.
- Escalante, A., Giles-Gómez, M., Hernández, G., Córdova-Aguilar, M. S., López-Munguía, A., Gosset, G., & Bolívar, F. (2008). Analysis of bacterial community during the fermentation of pulque, a traditional Mexican alcoholic beverage, using a polyphasic approach. *International Journal of Food Microbiology*, 124, 126-134.
- Hernández, F. (2007). *La alimentación de los antiguos mexicanos en la Historia natural de la Nueva España*. Distrito Federal, México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Herrera-Solorzano, M. C. (2008). *Identificación polifásica de levaduras y bacterias ácido lácticas aisladas de aguamiel, pulque y semilla*. Ensenada: Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada.
- Meilgaard, Morten C., Civille, Gail V. y Thomas Carr, B. (2016). *Sensory Evaluation Techniques*. Nueva York: Taylor & Francis Group. Quinta ed.
- Matías-Luis, G., Peña-Caballero, V., Reyna-González, W., Domínguez-Díaz, L. R., & Martínez-Hernández, J. J. (2019). Nutritional and medicinal value of pulque. *JONNPR*, 4(12), 1291-1303.
- Rivas-Hilario, C. (2014). *Desarrollo del perfil sensorial del pulque*. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, México, D.F.
- Rojas-Rivas, E., Viesca-González, F., Espeitx-Bernat, E., & Quintero-Salazar, B. (2016). El maguey, el pulque y las pulquerías de Toluca, Estado de México, ¿patrimonio gastronómico turístico? *PASOS*, 14(5), 1199-1215.
- Rojas-Rivas, E., Viesca-González, F. C., Favila-Cisneros, H. J., & Cuffia, F. (2020). Consumers' perception of a traditional fermented beverage in Central Mexico: An exploratory study with the case of pulque. *British Journal Food*, 122(2), 708-721.
- Steinkraus, K. (1997). *Handbook of indigenous fermented food* (Segunda ed.). New York: Mardel Dekker.

## **Adaptación de la metodología sensorial, a causa de la COVID-19, para el desarrollo de una galleta rellena.**

L.I. Sánchez - Albarrán<sup>1</sup>, S.G. Romo-Calderón<sup>1</sup>, V.D. Barrera-García<sup>1\*</sup> y M.C. Calvo-Carrillo<sup>1,2</sup>

1 Colegio de Gastronomía, Universidad del Claustro de Sor Juana. 2 Dirección de Nutrición, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. \*[vbarrerag@elclaustro.edu.mx](mailto:vbarrerag@elclaustro.edu.mx)

### **RESUMEN**

En el contexto de pandemia por SARS-CoV-2, las restricciones fueron aplicadas en la movilidad y el distanciamiento social. Los programas académicos de todos los niveles educativos presenciales migraron súbitamente a distancia. Esto llevó a que asignaturas de corte teórico-práctico o práctico se adecuaron en sesiones sincrónicas y asincrónicas. En particular, la formación de un licenciado en gastronomía tuvo grandes repercusiones: el desarrollo de productos tuvo que adaptarse a condiciones caseras. En el desarrollo de productos, la valoración sensorial no podía llevarse a cabo bajo la metodología convencional de esta disciplina, por lo que el uso TIC 'S jugó un papel importante en la evaluación del producto. El presente trabajo reporta las adaptaciones a la evaluación sensorial que se realizaron para el desarrollo de una galleta con relleno de jalea de jamaica, aplicando tres evaluaciones sensoriales (ordenamiento, triangular y hedónica), se hizo uso de formularios electrónicos y sesiones a distancia con jueces consumidores para comparar atributos sensoriales como dureza, consistencia, percepción de harina de trigo y aceptación de la galleta rellena. Las evaluaciones sensoriales desarrolladas bajo estas condiciones permitieron obtener una galleta con una consistencia adecuada al perfil del consumidor, así como una jalea de jamaica sensorialmente es perceptible y utilizada como relleno.

**Palabras Clave:** SARS-CoV-2, desarrollo de productos, evaluaciones sensoriales, TIC 'S.

### **ABSTRACT**

In the context of the SARS-CoV-2 pandemic, restrictions were applied to mobility and social distancing. Academic programs at all face-to-face educational levels suddenly migrated to distance. This led to theoretical-practical or practical subjects being adapted in synchronous and asynchronous sessions. In particular, the training of a gastronomy graduate had great repercussions: product development had to be adapted to home conditions. In the development of products, sensory evaluation could not be carried out under the conventional methodology of this discipline, so the use of ICTs played an important role in the development of the product. The present work reports the adaptations to the sensory evaluation that were made for the development of a biscuit with jamaica jelly filling, reporting three sensory evaluations (ordering, triangular and hedonic), using electronic forms and remote sessions with judges. consumers to compare sensory attributes such as hardness, consistency, perception of wheat flour and acceptance of the filled cookie. The sensory evaluations carried out under these conditions allowed obtaining a biscuit with a consistency suitable to the consumer's profile, as well as a jamaica jelly that is sensorially perceptible and used as a filling.

**Key Words:** SARS-CoV-2, Educational adaptation, Sensory evaluations, TIC'S.

## INTRODUCCIÓN

En marzo de 2020 la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró que el brote de COVID-19 se convirtió en una pandemia, la implementación de un confinamiento forzoso, distanciamiento social y paralización de actividades ha afectado la vida cotidiana. Cuando se habla de un problema mundial, como la pandemia, los escenarios pueden ser catastróficos en todos los sectores de la sociedad, para el caso de la educación se convirtió en el factor detonante para la transformación de un modelo rígido tradicional a un modelo flexible apoyado con el uso de las TIC'S (Tecnologías de la Información y la Comunicación) (Guiot, 2021).

Con base en el modelo HyFlex (híbrido y flexible) se buscó otorgar al estudiante experiencias de aprendizaje virtuales y presenciales, de manera flexible. El modelo se basa en teorías como la de la andragogía y centra la enseñanza en el alumno, de tal forma que, por un lado, asume al estudiante como un adulto responsable de su propio proceso de aprendizaje y, por el otro, el profesor se convierte en un apoyo de ese proceso (Juárez, Torres y Herrera, 2014).

Este modelo, ya hace varios años desarrollado, tuvo que adaptarse de manera inesperada en programas educativos presenciales sin ninguna experiencia a distancia. Tal fue el caso de la licenciatura en Gastronomía de la Universidad del Claustro de Sor Juana, cuyo programa, además de presencial, es práctico y teórico-práctico. Dentro de sus asignaturas, el desarrollo de alimentos es fundamental y, como parte de éste, la valoración sensorial del producto desarrollado es sustancial. Las pruebas sensoriales antes de la Revolución Industrial se fundamentaban en criterios de selección con base en las características de un alimento a través del gusto. Años más tarde, los nuevos productos incrementaron, desarrollando una metodología sensorial basada en la capacidad de utilizar los sentidos, ligando directamente la industria alimentaria. En la evaluación sensorial de los alimentos, cada sentido resulta ser el instrumento que proporciona una información valiosa y específica acerca de los mismos. Existen algunos términos universales para la clasificación de los atributos sensoriales de los alimentos y otros particulares para áreas específicas.

La evaluación sensorial se ha definido como la disciplina científica para evocar, medir, analizar e interpretar las respuestas a los productos recibidos, a través de los sentidos como; vista, olfato, tacto, gusto y oído (Stone y Sidel, 1998). Las técnicas del análisis sensorial se pueden aplicar dentro de la industria alimentaria en estudios sobre los efectos de los diferentes cambios o alteraciones de la formulación de productos, el desarrollo de nuevos productos, el estudio del efecto del almacenamiento y los cambios que puedan afectar al producto en cuanto al proceso de envasado, etc. (González, 2019).

La aplicación de pruebas sensoriales se vio afectada por SARS-CoV-2, teniendo que adaptarse para evitar el contacto físico entre panelistas y el encuestador, exponiendo las desventajas derivadas por una nula convivencia. Pero eso no impidió la realización de pruebas sensoriales; el ser humano ha tenido que ajustarse a los medios disponibles, web, multimedia, etc., incorporando herramientas digitales en la aplicación de pruebas hacia los consumidores. Esto no es nuevo, ya se tienen antecedentes del uso de estas tecnologías en el área sensorial. Por ejemplo, los resultados obtenidos de Visalli et al. (2016), aplicado en chocolates oscuros, comparando el uso de un mousse y una pantalla táctil, demostrando la capacidad de los consumidores para realizar Dominancia Temporal de Sensaciones (TDS) consistentemente sin entrenamiento. Nogueira et al. (2006) alude en la formación de panel de Internet y validan el método sobre el mismo producto por ambos paneles, para determinar el nivel de rendimiento de los evaluadores. Por último, Rabino et al. (2007) presentan un enfoque para recopilar información sobre las actitudes de consumo hacia los alimentos, a través de una base de datos con características del producto.

El análisis sensorial durante el confinamiento afectó el progreso educativo implementando estrategias mediante el uso de las TIC 'S a través de condiciones caseras. Por ello, el presente trabajo reporta las adaptaciones a la metodología sensorial aplicada durante el desarrollo de una galleta con relleno de jalea de Jamaica durante la pandemia. Las pruebas sensoriales realizadas fueron :1) Prueba de ordenamiento para la galleta evaluando la dureza de esta, 2) Prueba triangular, implementada para conocer si las galletas libres de gluten se percibían igual a la de trigo, 3) Prueba de ordenamiento para la jalea, donde se buscaba saber la consistencia de las diferentes formulaciones, 4) Prueba hedónica utilizada para percibir la aceptación de la galleta rellena. El objetivo de este estudio fue la adaptación de la metodología sensorial con el uso de TICS en el desarrollo y evaluación de una galleta rellena en tiempos de pandemia.

### MATERIALES Y MÉTODOS

La materia prima utilizada para la elaboración de la galleta fue la siguiente: harina de trigo (Selecta), harina de arroz (Clementina), harina de tapioca (Clementina), harina de maíz (Maseca), mantequilla (Gloria), azúcar mascabado (*Zulka*), miel de agave (YEMA & CO), huevo (San Juan), fécula de maíz (Maizena), extracto de vainilla (Molina), sal (La Dina). Para la elaboración del relleno, se utilizaron los siguientes: jamaica de Sudán (*Hibiscus sabdariffa L.*), isomalt (Deiman), sacarosa (Great Value), pectina de alto metoxilo (Deiman), grenetina (Duche) y azúcar invertido. Para el azúcar invertido se requirió de: sacarosa (Great Value), bicarbonato de sodio (Productos Don Sebastián) y ácido cítrico (Deiman).

El material y equipo que se utilizó fue: báscula digital (Metaltex), bowls de acero inoxidable (Anforama), batidora de pedestal (Kitchenaid), rodillo de cocina (*Catre and Barrel*), tapete de silicona (*Catre and Barrel*), *espátula miserable* (*Catre and Barrel*), recipiente de acero (Cinsa), cuchara de acero inoxidable, termómetro (BIOS modelo DT131) y frascos de vidrio de 200 mL de capacidad.

El procedimiento que se siguió para la elaboración del producto comenzó con la preparación de la masa de trigo denominada formulación A (FA), cremando la mantequilla junto con el azúcar, posterior a ello se agregó huevo junto con la vainilla, se añadió la harina de trigo previamente cernida y sal, mezclando hasta obtener una masa homogénea, se refrigeró durante 10 min, por último se porcionó en 40 g, dándole la forma de barra. Se horneó a 180°C durante 15 min. Para las formulaciones B (FB) y C (FC), se siguieron los mismos pasos, sustituyendo el azúcar por miel de agave, el huevo por la yema, así como la harina de trigo por la mezcla de harinas libres de gluten (arroz, maíz, tapioca) y el uso de fécula de maíz.

En cuanto a la jalea utilizada como relleno, se infundió la jamaica en agua a una temperatura de 83°C, posterior a ello se coló para obtener el extracto, se procedió a calentar el extracto alcanzando los 85°C incorporando el isomalt y a los 87°C se añadió el azúcar invertido, sin dejar de mover. Se adicionó la mezcla de pectina y azúcar refinada. A los 88°C la jalea contaba con la consistencia requerida. Este procedimiento se replicó para las FB y FC. Se llevó a cabo el mismo procedimiento para la FA, exceptuando la adición de la grenetina previamente hidratada, agregada posteriormente a la incorporación de la pectina y azúcar refinada. Las tres formulaciones fueron envasadas en frascos de vidrio previamente esterilizados.

En la Tabla 1, se muestran los porcentajes de insumos utilizados en las formulaciones de las galletas que fueron evaluadas mediante una prueba discriminativa de ordenamiento. Para la evaluación sensorial triangular, se utilizaron las formulaciones presentadas en la Tabla 2.

La proporción de ingredientes usados en la prueba de ordenamiento para la determinación de porcentajes en la sustitución de azúcar se encuentra en la Tabla 3. Por último, en la Tabla 4 se presentan las formulaciones seleccionadas para la aplicación de la prueba hedónica de 7 puntos.

<b>Tabla 1. Formulaciones Prueba de ordenamiento</b>		
FA	FB	FC
100% Harina de trigo	20% Harina de arroz 60% Harina de maíz 20% Harina de tapioca	40% Harina de arroz 40% Harina de maíz 20% Harina de tapioca

<b>Tabla 2. Formulaciones Prueba triangular</b>		
FA	FB	FC
20% Harina de arroz 60% Harina de maíz 20% Harina de tapioca	100% Harina de trigo	20% Harina de arroz 60% Harina de maíz 20% Harina de tapioca

<b>Tabla 3. Formulaciones Prueba de ordenamiento</b>		
FA	FB	FC
45% Infusión 30% Isomalt 10% Azúcar invertido 10% Azúcar refinada 2% Grenetina 3% Pectina	47% Infusión 20% Isomalt 20% Azúcar invertido 10% Azúcar refinada 3% Pectina	47% Infusión 20% Isomalt 15% Azúcar invertido 15% Azúcar refinada 3% Pectina

<b>Tabla 4. Formulaciones Prueba hedónica</b>	
FA	FB
20% Harina de arroz 60% Harina de maíz 20% Harina de tapioca	40% Harina de arroz 20% Harina de maíz 40% Harina de tapioca
47% Infusión 20% Isomalt 20% Azúcar invertido 10% Azúcar refinada 3% Pectina	47% Infusión 20% Isomalt 20% Azúcar invertido 10% Azúcar refinada 3% Pectina

El análisis sensorial a distancia se llevó a cabo mediante la participación de 30 panelistas no entrenados, en un rango de edad de 20 a 50 años, género masculino y femenino. La ocupación de los

panelistas variaba en estudiantes de licenciatura y profesionistas de diferentes áreas: gastronomía, salud, educación, entre otros. La convocatoria se dio a conocer a través de las redes sociales *Facebook* e *Instagram* elegidas debido a la gran demanda que tienen en la comunidad, además de usarse como herramientas educativas. Sass et al. (2020) reportaron el uso de redes sociales como Twitter como fuente de información y herramienta dinámica para evaluar la percepción del consumidor sobre el huevo.

Posteriormente, se elaboraron las muestras, se empacaron en bolsas de celofán, se codificaron aleatoriamente con números de 3 dígitos y se armaron paquetes que contenían las muestras ordenadas en grupos e identificados para el tipo de prueba de evaluación sensorial que debían aplicar (Figura 1). Cada paquete incluía galletas, jaleas y galletas con jaleas. Se contactó individualmente a los panelistas para solicitar su domicilio y poder hacer la entrega del paquete de muestras. Una semana después, se programó la sesión asincrónica grupal a través de la aplicación *Zoom*, en esta se explicaron a detalle las instrucciones que debían seguir para realizar el cuestionario de cada una de las pruebas sensoriales. Cabe mencionar, que durante el lapso de espera para dicha sesión, se indicó que las muestras de la jalea se mantuvieran en refrigeración, mientras que las galletas podían permanecer a temperatura ambiente. El cuestionario de evaluación fue diseñado en la plataforma digital *Survey*, ya que permitía la aleatorización de las opciones de respuesta, lo que evitaba que se las compartieran entre ellos, se muestra un ejemplo en la Figura 2.



**Figura 1** Muestras empaquetadas

Las muestras con el número 258, 169 y 632 cuentan con diferentes consistencias. Pruebe las muestras y ordene las muestras del 1 al 3 siendo el 1 la de menor dureza y el 3 la de mayor dureza.

258  
-- Seleccionar --

169  
-- Seleccionar --

632  
-- Seleccionar --

**Figura 2.** Captura de pantalla. Cuestionario de Ordenamiento



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el fin de contar con una descripción de los productos que serían evaluados por los participantes para las pruebas sensoriales, las autoras de este trabajo describieron los atributos sensoriales (color, textura, dulzor, acidez, consistencia) de las formulaciones de la galleta, así como las de la jalea, explicando paso a paso las pruebas a realizar, a través de una sesión en zoom. Dicha descripción se presenta en las Tabla 5 y 6 observando las características antes mencionadas en el producto final utilizadas en la prueba hedónica, las cuales se muestran en las Figuras 3 y 4.

FA	FB	FC
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Masa manejable</li> <li>● Textura firme y húmeda</li> <li>● Consistencia suave</li> <li>● Al paladar no se siente grumosa ni seca</li> <li>● Color amarillo característico de las galletas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Masa desmoronable</li> <li>● Textura seca</li> <li>● Consistencia suave</li> <li>● Al paladar se aprecia granulosa y seca</li> <li>● Color dorado</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Masa desmoronable</li> <li>● Textura granulosa</li> <li>● Consistencia suave</li> <li>● Al paladar se aprecia sabor a mantequilla y vainilla</li> <li>● Color dorado</li> </ul>

FA	FB	FC
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Color rojizo</li> <li>● Acidez media</li> <li>● Dulzor agradable y no empalagoso</li> <li>● Consistencia estable</li> <li>● Textura ligeramente unttable</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Color rojo cereza</li> <li>● Acidez neutra, equilibrada</li> <li>● Dulzor equilibrado con la acidez, se percibe el sabor de la jamaica</li> <li>● Consistencia blanda</li> <li>● Textura gelatinosa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Color rojo cereza</li> <li>● Acidez equilibrada</li> <li>● Dulzor equilibrado con la acidez, se percibe el sabor de la jamaica</li> <li>● Consistencia blanda</li> <li>● Textura líquida</li> </ul>



**Figura 3** Galleta rellena FA



**Figura 4** Galleta rellena FB

Para la prueba de ordenamiento se prepararon 3 formulaciones con diferente textura con el objetivo de determinar los porcentajes a utilizar en la mezcla de harina, por ello, se les pidió a los panelistas que probaran cada una de las formulaciones y las ordenaran de menor (valor 1) a mayor dureza (valor 3). En la Tabla 7, se presentan las diferencias absolutas entre la suma de rangos, siendo 19 el valor crítico para establecer diferencia significativa para 3 muestras y 30 jueces de acuerdo con la tabla del libro de Introducción al análisis sensorial de los alimentos (Valls, 1999).

<b>Tabla 7.</b> Diferencias absolutas entre suma de rangos		
FA - FB	52 – 49	3
FA - FC	52 – 79	27
FB - FC	49 - 79	30

A partir de lo anterior, en la Tabla 8 se resumen los resultados obtenidos. Estableciendo una diferencia significativa, tanto para las muestras FA y FC, como entre FA y FB, siendo la formulación FA con mayor dureza.

<b>Tabla 8.</b> Relación de la sumatoria de rangos para cada muestra			
Muestra	FA <sup>b</sup>	FB <sup>a</sup>	FC <sup>a</sup>

a,b= suma de rangos con distintos superíndices indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ )

Para la prueba triangular se elaboraron dos formulaciones iguales (FA y FC) y una diferente (FB), con el objetivo de comparar las características sensoriales entre las galletas. Para ello, los panelistas debían identificar la formulación diferente, a continuación se presenta la sumatoria de aciertos en la Tabla 9. Concluyendo que 25 jueces identificaron la muestra diferente con un nivel de confianza del 95% y un valor crítico de 15 para 30 jueces, obtenido del libro de Introducción al análisis sensorial de los alimentos (Valls, 1999).

<b>Tabla 9.</b> Sumatoria de rangos	
Total de aciertos	25
Total de errores	5

La segunda prueba de ordenamiento tuvo como objetivo determinar los porcentajes a utilizar en la jalea. Se les pidió a los panelistas que probaran cada una de las muestras y las ordenaran de menor (valor 1) a mayor intensidad (valor 3). En la Tabla 10, se presentan las diferencias absolutas entre la suma de rangos, siendo 19 el valor crítico, estableciendo diferencia significativa para 3 muestras y 30 jueces participantes. A partir de ello, en la Tabla 11 se resumen los resultados obtenidos.

<b>Tabla 10.</b> Diferencias absolutas entre suma de rangos		
FA - FB	54 – 74	20
FA - FC	54 – 52	2
FB - FC	74 - 52	22

<b>Tabla 11.</b> Relación de la sumatoria de rangos para cada muestra			
Muestra	FA <sup>a</sup>	FB <sup>b</sup>	FC <sup>a</sup>

a,b= suma de rangos con distintos superíndices indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ )

Se estableció diferencia significativa tanto para las muestras FA y FB, como entre FB y FC. Siendo FB, la muestra con mayor intensidad a sabor jamaica percibida sensorialmente por el grupo de jueces participantes.

A partir de las características organolépticas descritas anteriormente, se realizó una prueba hedónica de 7 puntos, con el objetivo de conocer el nivel de agrado del producto, se utilizó una escala nominal y un análisis de comparación de media de dos formulaciones mostradas en las Tabla 12 y 13.

<b>Tabla 12. Escala Nominal</b>	
Me gusta muchísimo	1
Me gusta mucho	2
Me gusta poco	3
Ni me gusta ni me disgusta	4
Me disgusta poco	5
Me disgusta mucho	6
Me disgusta muchísimo	7

<b>Tabla 13. Promedio de resultados</b>	
FA	2.73
FB	2.33

A partir del análisis estadístico, se calculó la desviación estándar para poder calcular la prueba t de student para la comparación de medias de dos muestras. Teniendo como resultado, una diferencia significativa con un 95% de nivel de confianza, debido a que el valor mostrado en la Tabla 14 fue mayor a 1.6973 marcado en la tabla t-Student, de acuerdo con los grados de libertad.

<b>Tabla 14. Cálculo estadístico</b>	
Desviación estándar - FA	0.17
Desviación estándar - FB	0.33
t- Student	5.88

Al finalizar las evaluaciones sensoriales los panelistas pudieron externar sus opiniones acerca de la experiencia vivida, en donde comentaron que no habían participado en una prueba a distancia, sin embargo, contaron con las herramientas necesarias para cumplir con el objetivo. Una de las dificultades que se tuvo fue reunir a los panelistas, puesto que todos tenían tiempos libres diferentes, además de lo complicado que resultaba llamar la atención de ellos para que apoyaran en el desarrollo del presente trabajo.

## CONCLUSIÓN

La pandemia por SAR-CoV-2 modificó la dinámica educativa alterando, además, el desarrollo de los proyectos de investigación fundamentales para la titulación de las y los alumnos. Sin embargo, la creatividad y aplicación de las TIC 'S fueron fundamentales para continuar con las actividades académicas.

La adaptación del análisis sensorial mostró tener ventajas y desventajas, en donde se encontró lo positivo de la adaptación, siendo la rapidez con la que se hizo gracias a los medios electrónicos utilizados y al rango de edad de los panelistas, además, de seguir con las indicaciones sanitarias que la Secretaría de Salud marcaba. Sin embargo, uno de los escenarios más complicados fue la estrategia para hacerles llegar las muestras sin perder la esencia del producto, así como la explicación de la dinámica para las aplicaciones sensoriales.

A partir de esta dinámica se logró concluir este proyecto, que, a partir de los datos recabados se concluye que: de la prueba sensorial de ordenamiento se determinó que la FB (20% harina de arroz, 60% maíz, 20% tapioca) fue considerada la de menor dureza. En cuanto a la evaluación discriminativa la formulación FA (40% harina de arroz, 20% maíz, 40% tapioca) presentó una diferencia significativa en cuanto a la FB, preparada con harina de trigo.

Los resultados obtenidos en la prueba sensorial de ordenamiento, señalaron que la jalea elaborada con la FC (47% infusión, 20% isomalt, 20% azúcar invertido, 10% azúcar refinada, 3% pectina) tuvo una mayor intensidad en cuanto al sabor de la flor de jamaica, promoviendo su bajo nivel energético.

La prueba de aceptación mostró que los panelistas tuvieron mayor preferencia por la galleta elaborada con la FC (40% harina de arroz, 20% maíz, 40% tapioca) en conjunto con la FC (47% infusión, 20% isomalt, 15% azúcar invertido, 15% azúcar refinada, 3% pectina) de la jalea.

De acuerdo con el objetivo del trabajo, se logró la adaptación de la metodología sensorial con el uso de TIC 'S en tiempos de pandemia. Como perspectiva del trabajo, la intención del producto radica en atender a un grupo de personas con restricciones en consumo de sacarosa, así como, de gluten.

### **BIBLIOGRAFÍA**

1. González, M. (2019). Diez años de pruebas discriminativas en análisis sensorial. España.
2. Guiot I. 2021. Uso de las TICS en la educación superior durante la pandemia COVID-19: Ventajas y desventajas
3. Juárez, D., Torres, C. y Herrea, L. (2014). El modelo HyFlex: Una propuesta de formación híbrida y flexible. México.
4. Rabino, S., Moskowitz, H., Katz, R., Maier, A., Paulus, K., Aarts, P., Beckley, J. y Ashman, H. (2007). Creating databases from cross-national comparisons of food mind-sets. *Journal of Sensory Studies*. 22. 550-586. Boston.
5. Sass, C., Pimentel, T., Dantas, T., Aleixo, M., Oliveira, F., Queiroz de Freitas, M., Gomes da Cruz, A. y Esmerino, E. (2020). Exploring social media data to understand consumers' perception of eggs: A multilingual study using Twitter. *Journal of Sensory Studies*. Brasil
6. Stone, H. y Sidel, J.L. (1998). Quantitative Descriptive Analysis: Developments, Application and The Future. *Food Technology* 52 (8), 48-52.
7. Nogueira, H., Tinet, C., Curt, C., Trystram, G. y Hossenlopp, J., (2006). Using the internet for descriptive sensory analysis: formation, training and follow-up of a taste-test panel over the web. *Journal of Sensory Studies*. 21. 180-202. Francia.
8. Valls, J. S., Prieto, E. B., & De Castro Martín, J. J. (1999). Introducción al análisis sensorial de los alimentos (Vol. 4). Edicions Universitat Barcelona.

9. Visalli, M., Lange, C., Mallet, L., Cordelle, S. y Schlich, P. (2016). Should I use touchscreen tablets rather than computers and mice in TDS trials? *Food Quality and Preference*. 52. 11-16. Francia.

## **Pan gourmet a base de harina de trigo, linaza y chapulín (*Sphenarium purpurascens*) como alimento funcional**

Gomez- Galicia P.F<sup>1</sup>, Parola-Contreras, I.<sup>1</sup>, Báez- González Juan Gabriel<sup>2</sup>, \*Durán-Lugo, R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tecnológico de Estudios superiores de Chimalhuacán, C. Primavera S/N, Santa María Nativitas, Chimalhuacán Estado de México, C.P. 56330. <sup>2</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas, departamento de Alimentos, Av. Universidad S/N, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. C.P. 66455. Correo: [reydl\\_30@yahoo.com.mx](mailto:reydl_30@yahoo.com.mx)

### **RESUMEN**

Hoy en día las enfermedades no transmisibles (ENT) se han vuelto una de las principales causas de muerte a nivel mundial, debido a diversos motivos que van desde el sedentarismo, la mala alimentación, sobrepeso u obesidad, tabaquismo, alcoholismo o bien genética. Para esto se propone la creación de un producto funcional pan gourmet a base de harina de trigo, linaza y chapulín (*Sphenarium purpurascens*) (PHTLC) para contribuir en la dieta de personas con estas enfermedades, principalmente el cáncer de colon. La elaboración del producto se lleva a cabo en los laboratorios del Tecnológico de Estudios Superiores de Chimalhuacán pretendiendo obtener resultados favorables en las personas que consuman el producto.

### **ABSTRACT**

Today non-communicable diseases (NCDs) have become one of the main causes of death for people worldwide, due to various reasons ranging from sedentary lifestyle, poor diet, overweight or obesity, smoking, alcoholism or genetics. For this, the creation of a functional product is proposed, which is a gourmet bread based on wheat flour, flax and grasshopper (*Sphenarium purpurascens*) (PHTLC) to contribute to the diet of people with these diseases, mainly the colon cancer. The elaboration of the product is carried out in the laboratories of the Technological Institute of Higher Studies of Chimalhuacán with the aim of obtaining favorable results in the people who consume the product.

**Palabras clave:** Cáncer de colon (Colon cancer), Pan (Bread), Fibra (Fiber), Chapulín (Grasshopper).

### **INTRODUCCIÓN**

Una ingesta alta en fibra favorece la salud intestinal y contrarresta los efectos nocivos del consumo excesivo de carne. La fibra reduce el tiempo del tránsito intestinal y la dilución de compuestos carcinógenos. Adicionalmente, la fibra provee antioxidantes y lidera el incremento de la protección de la producción intraluminal de los productos fermentados, como el butirato que tiene efectos benéficos y útiles para dietas ricas en fibra. Los efectos protectores de la fibra en el desarrollo del cáncer colorectal han sido también adjudicados a micronutrientes específicos como vitamina D, selenio y calcio. Las dietas ricas en fibra modulan las colonias de la microbiota de las células homeostáticas epiteliales y carcinógenas (Vernia et al., 2021).

Las cifras en México indican que el cáncer de colon ocupa el 4to lugar de los tipos de cáncer más comunes. Por lo regular, éste es detectado en personas mayores a 65 años afectando en mayor porcentaje al sexo masculino y es un problema de salud pública nacional y mundial. El estrato

socioeconómico determina el acceso a la detección temprana y al tipo de servicio de salud, siendo la población de bajos recursos la más afectada. Los métodos aplicados para los tratamientos son quimioterapia (oxaliplatino) y cirugía (Quezada-Gutiérrez et al., 2020). El cáncer colorectal está asociado a un estilo de vida y actitud no saludable (baja actividad física y una pobre ingesta de alimentos); así como a respuestas patológicas de los órganos a intervenciones específicas (intolerancia al ejercicio y disfunción metabólica). Por otro lado, la mal nutrición incrementa la condición oncológica y está asociada a complicaciones quirúrgicas, largas estancias hospitalarias, altos porcentajes de mortalidad y al incremento en el costo del cuidado en la salud. Tanto los tumores como las cirugías causan una respuesta inflamatoria sistémica que puede alterar la resistencia anabólica y de insulina, la energía, las secreciones hormonales y las rutas lipolíticas y proteolíticas (Minnella y Carli, 2018).

La microbiota intestinal promueve la homeostasis intestinal y ejerce el efecto anticancerígeno; sin embargo, esta microbiota también produce una variedad de metabolitos tóxicos que influyen en el comportamiento de la célula epitelial negativamente. El desequilibrio en esta microbiota es conocido como disbiosis que es frecuentemente observado en el cáncer colorrectal (Hughes et al., 2019; Sánchez-Alcoholado et al., 2020).

Los insectos aportan cantidades significativas de fibra, por lo regular en forma de quitina, la cual es fibra insoluble como parte del exoesqueleto. Los chapulines (*Sphenarium purpurascens*, Pyrgomorphidae family, Orthoptera order) se consideran una excelente opción nutricional debido a que registran un elevado contenido en fibra (31.81% w/w); de la cual la fibra insoluble es de 31.15% w/w y la soluble 0.70% w/w (Ojha et al., 2021). Estos insectos son consumidos tradicionalmente como condimento, snacks, o como platos gourmets (Ibarra-Herrera et al., 2020). Investigaciones recientes incluyen a este insecto como materia prima por tener propiedades tecnofuncionales como agentes texturizantes, capacidad de absorción de agua, de aceite, estabilidad de emulsión y capacidad de gelificación para la elaboración de múltiples alimentos como lo es el pan; dándole mayores propiedades nutrimentales y funcionales (Cruz-López et al., 2022).

Por todo lo antes mencionado, el objetivo de este trabajo se enfoca en el diseño de un pan gourmet a base de harina de lino, trigo y chapulín con alto contenido de fibra que coadyuvará a la incidencia de cáncer colorrectal.

### **Objetivo general**

Diseñar un pan gourmet a base de harina de trigo, lino y chapulín (PHTLC) alto en fibra con características similares a un pan comercial para contribuir en la disminución de la incidencia de enfermedades no transmisibles (cáncer de colon).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Estandarización de receta

Los chapulines (*S. purpurascens*) secos y sin sazonar, en presentación lista para comer, se adquirieron en un mercado de carnes exóticas en la Ciudad de México llamado “San Juan”. Los chapulines se limpiaron de materias extrañas. Se sometieron a una reducción de tamaño para obtener un polvo, el cual se tamizó con malla No. 40. Se obtuvo un lote y se etiquetó como harina de chapulín almacenado para su posterior caracterización (Cruz-López et al., 2022). Con el fin de evaluar el efecto de la harina de chapulín (*S. purpurascens*) incorporada con la harina de trigo y linaza, se llevó a cabo la estandarización de la receta.

Tabla 1. Formulaciones de pan con harina de trigo, linaza y chapulín.

Ingredientes	Formulaciones		
	F1	F2	F3
Harina de trigo (kg)	0.150	0.175	0.19 0
Harina de linaza (kg)	0.075	0.055	0.05 0
Harina de chapulín (kg)	0.040	0.035	0.02 0
Linaza entera (kg)	0.010	0.010	0.01 0
Mantequilla (kg)	0.033	0.033	0.03 3
Huevo (kg)	0.100	0.100	0.10 0
Azúcar (kg)	0.030	0.030	0.03 0
Sal (kg)	0.003	0.003	0.00 3
Levadura (kg)	0.007	0.007	0.00 7
Leche (L)	0.035	0.035	0.03 5
Agua (L)	0.030	0.030	0.03 0

#### Preparación de la masa

Se mezclaron harina de trigo, azúcar, levadura y agua. Se homogenizó durante 5 minutos con una batidora (Kitchen aids) a velocidad media. Una vez formado el gluten se incorporó poco a poco la harina de linaza, posteriormente agua, sal, linaza entera, mantequilla y leche. Después la harina de chapulín y el resto de los líquidos y se homogenizo durante 8 minutos hasta obtener una masa homogénea. Se fermentó durante 30 minutos en un rango de temperatura de 30 a 35°C. Se eliminó el aire de la masa y se extendió en una superficie plana. Paso seguido se moldeó y se horneó a 175°C durante 25 minutos.



### Evaluación de las características sensoriales del producto

El análisis sensorial fue realizado por consumidores ( $n = 100$ ) entre 19 y 25 años. La sesión se organizó en dos pasos. En el primero, los participantes recibieron cuatro porciones simultáneas de diferentes formulaciones de pan (30 g). Se instruyó a los consumidores para que limpiaran sus paladares entre muestras usando galletas saladas y agua. Los panes se evaluaron de acuerdo con el gusto general utilizando una escala hedónica horizontal de siete puntos, desde “Me disgusta mucho”

(1) hasta “Me gusta mucho” (7). Durante el segundo paso, se aplicó una prueba de verificación de todos los que aplican (CATA), en la que eligieron de una lista de 5 atributos relacionados con el color, apariencia, sabor, el olor y la textura de la muestra (Cruz-López et al., 2022).

### Estimación proximal de nutrientes

La composición nutrimental de la formulación tres fue determinada con la técnica del sistema mexicano de alimentos equivalentes (Coțovanu & Mironeasa, 2021). El cual consistió en identificar los ingredientes y la estimación de la cantidad contenida. Posteriormente, se multiplicó por el valor unitario de energía (kcal), g de proteínas, g de grasas y g de hidratos de carbono ya establecidos para cada uno de los ingredientes.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación de las características sensoriales de las tres formulaciones proyectó que la formulación F3 tuvo las características de preferencia de los consumidores como se muestra en la Figura 1.

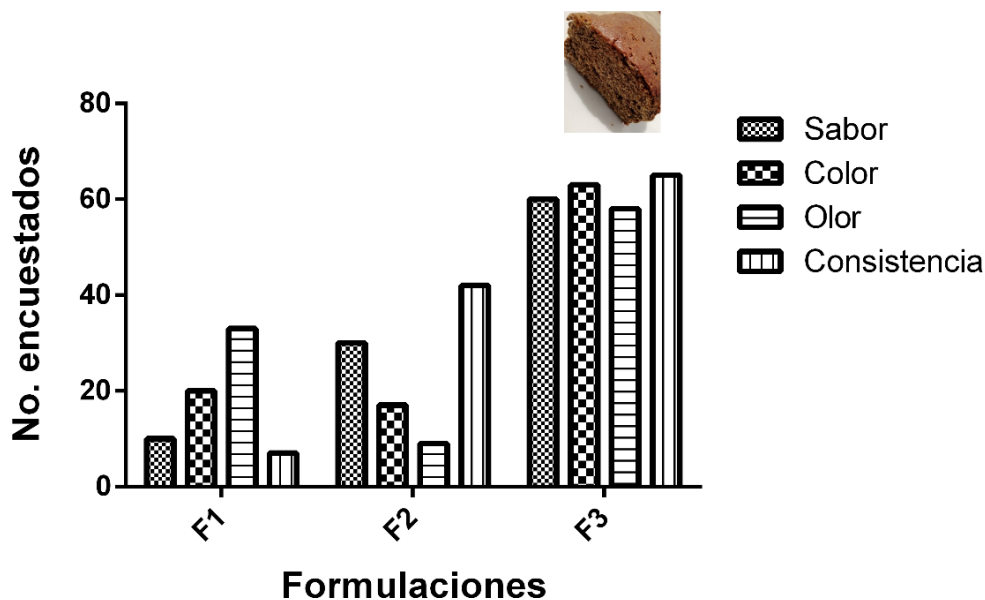


Figura 1. Grafica de evaluación de atributos de formulaciones de harina de trigo, linaza y chapulín.

Los atributos mostrados para la F1 destacan el olor característico del chapulín, mientras que el atributo de consistencia fue el menos favorecido ya que mostraba una apariencia pastosa y compacta. Mientras que para la F2 destaco la consistencia y sabor el atributo menos destacado fue el olor.

#### Comparativo de nutrientes

Comparado con el producto comercial, el desarrollo del PHTLC tuvo ventajas nutrimentales sobre la fibra dietética y las proteínas aportadas (Tabla 2); probablemente se atribuye a la harina de chapulín añadida.

**Tabla 2. Comparativo de nutrientes por cada 100g.**

Nutrientes	Comercial	Experimental (F3)
Energía	256.67 cal	236.67 cal
Fibra dietética	6.67 g	15.67 g
Proteína	10 g	34.33 g
Vitaminas	B1, B2, Niacina y Zinc (adicionadas)	B1, B2, B6, D, Niacina, Tiamina, Riboflavina, Ácido fólico
Minerales	Sodio, Fosforo, Calcio	Sodio, Hierro, Fosforo, Magnesio, Manganeso, Calcio
Carbohidratos	46.67 g (carbohidratos simples)	33.33 g (carbohidratos complejos)

Esto puede ser significativo para el control de la incidencia de cáncer de colon si se incluye en una dieta para personas con este padecimiento junto con una dieta establecida baja en azúcares y rica en ácidos grasos de cadena corta (Zeng et al., 2020). Ocvirk et al. (2019) reportaron que la ingesta de fibra reveló una correlación negativa dosis-respuesta y lineal con el riesgo de cáncer de colon. Adicionalmente, ésta estimuló la actividad butiragénica de la microbiota intestinal, proporcionando altas cantidades de butirato que manifestó amplios efectos antineoplásicos (Ocvirk et al., 2019). Se ha reportado que la ingesta de fibra mayores a 38 g/día en adultos masculinos reduce el riesgo de cáncer de colon en humanos como en animales. También estos beneficios pueden darse dado que la fibra no digestible incluye componentes como polisacáridos no amiláceos, oligosacáridos, lignina y polisacáridos análogos. La inclusión de estos componentes de la fibra insoluble (>40 g/día) en combinación con la concentración luminal de ácidos grasos de cadena corta en el colon puede alcanzar de 100 a 300 mmol/L y un gradiente de concentración de los ácidos grasos de cadena corta en el eje de las vellosidades dentro del colon, trayendo consigo provecho asociado para la salud (Zeng et al., 2020). Por otro lado, la inclusión de harina de chapulín incluye proteínas, lípidos, minerales y fibra. Su uso como sustitutos de harina de cereales enriquece los productos y las propiedades tecnológicas y los análisis sensoriales no se ven afectadas por la inclusión de éstos (Acosta-Estrada et al., 2021).

Aunque la composición nutricional de los insectos puede verse afectada por diversos factores, por ejemplo, la dieta con alfalfa y maíz incrementaron significativamente (valor  $p < 0.05$ ) los niveles de proteína, el perfil de aminoácidos, la digestibilidad de la proteína in vitro, el contenido de grasa y de fibra insoluble. La dieta con alfalfa ocasionó un incremento del 10% en el perfil de aminoácidos comparación del maíz (Ibarra-Herrera et al., 2020). El hábitat, su lugar de procedencia, la época de colecta y los sembradíos de frijol, maíz y alfalfa potencializan al chapulín como eficientes convertidores de carbohidratos a proteínas y fuente de nutrientes (Ibarra-Herrera et al., 2020).

Las harinas de trigo por sus características y sus aportes nutricios (2-3% lípidos, 7-10% proteínas) aportan calidad al pan (Melis et al., 2019); la harina de linaza ha emergido como un alimento funcional que es rico en nutrientes como fibra, antioxidantes, polifenoles y ácido  $\omega$ -linoleico. Adicionalmente el análisis sensorial mostró que la adición de linaza hasta 50 g/kg tuvo poco efecto sobre la aceptabilidad general de los panes (Zhu & Li, 2019). Por lo que el uso de la harina de trigo, linaza y chapulín fueron las más convenientes para la elaboración de este producto. La concentración adecuada de cada una de ellas cumple con una función específica; por ejemplo, la harina de trigo debido a la proteína del gluten (gliadina y glutenina) brinda elasticidad, consistencia, mayor absorción de agua, lo que brinda el marco ideal para atrapar burbujas de aire en masas para producir pan (Conte et al., 2019; Föste et al., 2020). Por otra parte, las tres harinas en su conjunto aportan mayor contenido nutricional superando a las de los panes comerciales como se observa en la Tabla 2. Sin embargo, la adición de fibras perjudica la calidad del pan en términos de consistencia, volumen y apariencia del pan, debido a la dilución del gluten en la masa de trigo, lo que reduce la retención de gases y disminuye el volumen del pan (Föste et al., 2020).

El producto experimental PHTLC contiene mayor cantidad de proteína que es aportado por la harina de chapulín (*S. purpurascens*) y una pequeña parte de la harina de trigo (Melis et al., 2019; Zeng et al., 2020). La proteína es un macronutriente presente en los alimentos. La importancia de la proteína presente en la dieta se debe a su capacidad de aportar aminoácidos para atender al mantenimiento de la proteína corporal y al incremento de esta durante el crecimiento (Chakrabarti et al., 2018). Del chapulín (*S. purpurascens*) también se deben los hidratos de carbono, que son macronutrientes con la función de contribuir al almacenamiento y la obtención de energía inmediata al cerebro y al sistema nervioso en el organismo de los seres vivos (Ojha et al., 2021). Debido a que los carbohidratos representan la principal fuente de fibra y calorías, son componentes básicos de una nutrición idónea; se han registrado valores entre 15.59 y 30.0 g/100 g de muestra (Rodríguez-Miranda et al., 2019). Así mismo, la aportación nutrimental de los chapulines está conformada por quitina. Mientras que, en el pan comercial los azúcares son el mayor nutriente. La quitina es un polisacárido que se encuentra en algunos crustáceos e insectos que actúa dándoles soporte y protección al exoesqueleto de los organismos, en este caso el chapulín. Es utilizada como aditivo natural en alimentos ya que ayuda a reducir la ingesta de calorías y colesterol en el cuerpo humano, además de que es una sustancia que no causa alergias (Cruz-López et al., 2022). En el cuerpo humano causa diversos efectos que en lo absoluto dañan los procesos naturales del cuerpo, al contrario, brinda beneficios como son contrarrestar la intoxicación del cuerpo, dolencias dermatológicas, eliminación del alto contenido de colesterol, ayuda al fortalecimiento de la mucosa intestinal, eliminación de toxinas, efecto antitumoral por mencionar algunos (Raheem et al., 2019).

Las vitaminas y minerales que contiene el producto experimental PHTLC son propias de los productos con los que es elaborado, no tiene ningún tipo de aditivo artificial que pueda llegar a causar algún daño en su consumo a largo plazo; además son aprovechadas por el cuerpo humano, pues cada una de ellas tiene funciones específicas como la absorción adecuada del calcio en los huesos y dientes, la síntesis del ADN en las células de tejidos nuevos, el fortalecimiento del sistema inmune, la intervención en el metabolismo de aminoácidos, la conversión de los alimentos en energía, liberación de energía y catalizar la oxidación de las grasas e hidratos de carbono, entre otros (Chakrabarti et al., 2018; Tokusoglu, 2018). Cabe mencionar que las vitaminas del producto comercial son adicionadas mediante procesos secundarios a la elaboración.

En lo que se refiere al aporte de fibra dietética, el pan experimental PHTLC contiene más del doble del comercial. 100g de pan aportan casi el 40% de la fibra recomendada (40 g/día); por lo que, lo hace mejor opción alimenticia para ayudar al mejoramiento de padecimientos del sistema digestivo como estreñimiento crónico, cáncer de colon, colitis y también actúa como control preventivo en enfermedades como diabetes mellitus y obesidad, pues una de sus principales funciones es que provoca sensación de saciedad lo que ayuda a tener una menor ingesta de alimentos y controlar el peso (Ibarra-Herrera et al., 2020; Ocvirk et al., 2019; Ojha et al., 2021).

### CONCLUSIÓN

Se concluye que el pan experimental PHTLC es una alternativa saludable para ayudar en la disminución de enfermedades no transmisibles (cáncer de colon), principalmente digestivas, ya que

los nutrientes aportados y las cantidades en que los contiene mejoran la asimilación de nutrientes y los desechos; puesto que el pan comercial al contener aditivos y nutrientes añadidos pueden tener efectos secundarios por su constante consumo y los beneficios nutrimentales son menores. De igual manera, los resultados obtenidos de las propiedades organolépticas del pan experimental PHTLC fueron satisfactorias, debido a que la mayoría de las personas que lo degustaron aprobaron la consistencia, textura, olor, color y sabor adecuados que buscarían en un producto de este tipo.

### Bibliografía

Acosta-Estrada, B. A., Reyes, A., Rosell, C. M., Rodrigo, D., & Ibarra-Herrera, C. C. (2021). Benefits and Challenges in the Incorporation of Insects in Food Products. *Frontiers in Nutrition*, 8(June). <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.687712>

Bacic, M. J. (2015). El Método Del Costeo Completo Y La Determinación De Precios: Una Visión a partir del abordaje de las convenciones. Los costos y la gestion en la ruta de innovación y el conocimiento. XIV Congreso Internacional de Costos, II Congreso Colombiano de Costos y Gestión, 21. <https://intercostos.org/wp-content/uploads/2019/01/55.pdf>

Chakrabarti, S., Guha, S., & Majumder, K. (2018). Food-derived bioactive peptides in human health: Challenges and opportunities. *Nutrients*, 10(11), 1–17. <https://doi.org/10.3390/nu10111738>

Conte, P., Fadda, C., Drabińska, N., & Krupa-Kozak, U. (2019). Technological and nutritional challenges, and novelty in gluten-free breadmaking: A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 69(1), 5–21. <https://doi.org/10.31883/pjfn-2019-0005>

Coțovanu, I., & Mironeasa, S. (2021). Impact of different amaranth particle sizes addition level on wheat flour dough rheology and bread features. *Foods*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/foods10071539>

Cruz-López, S. O., Álvarez-Cisneros, Y. M., Domínguez-Soberanes, J., Escalona-Buendía, H. B., & Sánchez,

C. N. (2022). Physicochemical and Sensory Characteristics of Sausages Made with Grasshopper (*Sphenarium purpurascens*) Flour. *Foods*, 11(5), 1–13. <https://doi.org/10.3390/foods11050704>

Föste, M., Verheyen, C., Jekle, M., & Becker, T. (2020). Fibres of milling and fruit processing by-products in gluten-free bread making: A review of hydration properties, dough formation and quality-improving strategies. *Food Chemistry*, 306, 125451. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125451>

Hughes, R. L., Kable, M. E., Marco, M., & Keim, N. L. (2019). The Role of the Gut Microbiome in Predicting Response to Diet and the Development of Precision Nutrition Models. Part II: Results. *Advances in Nutrition*, 10(6), 979–998. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz049>

- Ibarra-Herrera, C. C., Acosta-Estrada, B., Chuck-Hernández, C., Serrano-Sandoval, S. N., Guardado-Félix, D., & Pérez-Carrillo, E. (2020). Nutritional content of edible grasshopper (*Sphenarium purpurascens*) fed on alfalfa (*Medicago sativa*) and maize (*Zea mays*). *CYTA - Journal of Food*, 18(1), 257–263. <https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1746833>
- Melis, S., Meza Morales, W. R., & Delcour, J. A. (2019). Lipases in wheat flour bread making: Importance of an appropriate balance between wheat endogenous lipids and their enzymatically released hydrolysis products. *Food Chemistry*, 298(April), 125002. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125002>
- Minnella, E. M., & Carli, F. (2018). Prehabilitation and functional recovery for colorectal cancer patients. *European Journal of Surgical Oncology*, 44(7), 919–926. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2018.04.016>
- Ocvirk, S., Wilson, A. S., Appolonia, C. N., Thomas, T. K., & O'Keefe, S. J. D. (2019). Fiber, Fat, and Colorectal Cancer: New Insight into Modifiable Dietary Risk Factors. *Current Gastroenterology Reports*, 21(11). <https://doi.org/10.1007/s11894-019-0725-2>
- Ojha, S., Bekhit, A. E. D., Grune, T., & Schlüter, O. K. (2021). Bioavailability of nutrients from edible insects. *Current Opinion in Food Science*, 41, 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.08.003>
- Quezada-Gutiérrez, C., Álvarez-Bañuelos, M. T., Morales-Romero, J., Sampieri, C. L., Guzmán-García, R. E., & Montes-Villaseñor, E. (2020). Factors associated with the survival of colorectal cancer in Mexico. *Intestinal Research*, 18(3), 315–324. <https://doi.org/10.5217/IR.2019.09179>
- Raheem, D., Raposo, A., Oluwole, O. B., Nieuwland, M., Saraiva, A., & Carrascosa, C. (2019). Entomophagy: Nutritional, ecological, safety and legislation aspects. *Food Research International*, 126, 108672. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108672>
- Rodríguez-Miranda, J., Alcántar-Vázquez, J. P., Zúñiga-Marroquín, T., & Juárez-Barrientos, J. M. (2019). Insects as an alternative source of protein: a review of the potential use of grasshopper (*Sphenarium purpurascens* Ch.) as a food ingredient. *European Food Research and Technology*, 245(12), 2613–2620. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03383-0>
- Sánchez-Alcoholado, L., Ramos-Molina, B., Otero, A., Laborda-Illanes, A., Ordóñez, R., Medina, J. A., Gómez-Millán, J., & Queipo-Ortuño, M. I. (2020). The role of the gut microbiome in colorectal cancer development and therapy response. *Cancers*, 12(6), 1–29. <https://doi.org/10.3390/cancers12061406>
- Tokusoglu, O. (2018). Novel applications in nutrition and food science: Fortificated vitamins and polyphenols of innovative industrial foods and nutraceuticals. *Journal of Food Processing & Technology*, 09(2). <https://doi.org/10.4172/2157-7110-c1-079>

Vernia, F., Longo, S., Stefanelli, G., Viscido, A., & Latella, G. (2021). Dietary factors modulating colorectal carcinogenesis. *Nutrients*, 13(1), 1–13. <https://doi.org/10.3390/nu13010143>

Zeng, H., Hamlin, S. K., Safratowich, B. D., Cheng, W. H., & Johnson, L. A. K. (2020). Superior inhibitory efficacy of butyrate over propionate and acetate against human colon cancer cell proliferation via cell cycle arrest and apoptosis: linking dietary fiber to cancer prevention. *Nutrition Research*, 83, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2020.08.009>

Zhu, F., & Li, J. (2019). Physicochemical and sensory properties of fresh noodles fortified with ground linseed (*Linum usitatissimum*). *Lwt*, 101, 847–853. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.003>

## **Comparación sensorial de una bebida fermentada de Maíz (Tejuino) y una bebida fermentada de sorgo rojo.**

M. de L, Cuevas-Guevara, H. Mendoza-Gamiño, F.J. Espitia-Orozco y I.N. Ramos-Del Villar<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Coordinación en Ingeniería en Industrias Alimentarias, Tecnológico Nacional de México/ ITS de Abasolo, Blvd. Cuitzeo de los Naranjos 401, Colonia Peña de Guisa, Abasolo, Guanajuato.

\* [noe.rv@abasolo.tecnm.mx](mailto:noe.rv@abasolo.tecnm.mx)

### **RESUMEN:**

El tejuino es una bebida tradicional fermentada de origen mexicano, la cual es elaborada utilizando como base la harina o masa de maíz nixtamalizada. Esta bebida ha demostrado tener un alto valor nutricional y además un valor agregado al tener diversos microorganismos de origen probiótico dentro de ella, por lo cual elaborar una bebida fermentada de sorgo rojo utilizando la misma metodología nos podría generar, una bebida con características similares, ya que el sorgo le conferirá un alto valor proteico y una fuente rica de carbohidratos. En el presente proyecto se formulo una bebida fermentada de sorgo rojo "tipo tejuino" y fue comparada sensorialmente con una bebida fermentada de maíz "tejuino". De acuerdo con las evaluaciones sensoriales realizadas por los jueces se observó que existen diferencias significativas entre ambas bebidas y se determinó una mayor aceptabilidad de la bebida fermentada de sorgo rojo.

**Palabras clave:** Sorgo rojo, bebida fermentada y comparación sensorial.

### **ABSTRACT:**

Tejuino is a traditional fermented beverage of Mexican origins, which is made using nixtamalized corn flour as a base. This drink has shown to have a high nutritional value and also an added value by having various microorganisms of probiotic origin within it, thus the elaboration of a fermented red sorghum beverage applying the same methodology could generate a drink with similar characteristics, since sorghum will confer a high protein value and a rich source of carbohydrates. In the present project, a "tejuino-type" fermented sorghum drink was formulated and compared sensorially with a "tejuino" fermented corn drink. According to the sensory evaluations carried out by the judges, it was observed that there are significant differences between both beverages and a greater acceptability of the fermented red sorghum beverage was determined.

### **Keywords:**

Red sorghum, fermented beverage and sensory comparison



## INTRODUCCIÓN

El sorgo *Sorghum bicolor* (L.) Moench es uno de los alimentos básicos más importantes, es uno de los más antiguos cultivos que se han sembrado en las zonas tropicales y templadas del mundo. Es tolerante a la sequía y presenta resistencia a la salinidad, infertilidad y a las altas temperaturas. Además, el sorgo es utilizado para preparar bebidas fermentadas (bebidas alcohólicas y no alcohólicas) y otros alimentos tradicionales como pan y tortillas (Almodares & Hadi, 2009).

El uso del sorgo para elaboración de tortillas ha sido llevado a cabo previamente con éxito, para esto fue necesario llevar a cabo un proceso de nixtamalización. Este mismo proceso es necesario para llevar a cabo el Tejuino, una bebida tradicional fermentada de la masa de maíz nixtamalizada. El maíz y el sorgo comparte algunas de sus características nutricionales, sin embargo, este último, es considerado un cultivo más competitivo debido a su alta rentabilidad y tolerancia a la sequía, además de presentar características deseables para su uso en la alimentación humana (Ananda *et al.*, 2020).

No se han encontrado antecedentes directos para este proyecto, sin embargo, se ha trabajado previamente en la evaluación del efecto de la nixtamalización sobre la estabilidad de harinas de maíz, por lo que se considera que es posible realizar, una bebida fermentada a partir de la masa nixtamalizada de sorgo rojo, logrando así desarrollar un nuevo producto.

A nivel mundial la demanda de alimentos ha crecido y en un futuro cercano se prevé una crisis alimentaria, por lo que es necesario contar con productos alternativos para enfrentar dicha situación. El sorgo de grano cultivado fundamentalmente para usos alimenticios puede considerarse una fuente alternativa, para contribuir a solucionar esta problemática. Las bebidas tradicionales tipo tejuino son una fuente rica en diversos nutrientes, como los son carbohidratos, proteínas, minerales y vitaminas, además de diversas propiedades benéficas dentro de las destacan las probióticas, con este proyecto se pretende revalorizar este tipo de bebidas tradicionales, además de contribuir a la generación de nuevos productos que puedan aportar propiedades funcionales y un alto valor nutricional. El objetivo general de este trabajo fue comparar sensorialmente una bebida fermentada de maíz (tejuino) y una bebida fermentada de sorgo rojo (Lyumugabe *et al.*, 2012; Osorio-Oviedo, 2019).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para la elaboración del tejuino se utilizó maíz criollo originario del rancho La Mina municipio de Abasolo Guanajuato. La bebida fermentada de sorgo rojo (tipo tejuino) se elaboró con sorgo rojo adquirido en una tienda llamada “El Granero del Sur” ubicada en la ciudad de Abasolo Guanajuato.

### Nixtamalización

Se nixtamalizó el maíz y el sorgo rojo por separado para obtener la masa de cada uno. Para este paso se llevaron 500 g de cada cereal a cocción con 1.250 L de agua y 10 g de cal, se dejó en el fuego por 45 min obteniendo así un grano suave y fácil de retirar la piel al frotarlos. Posteriormente se molieron los granos nixtamalizados para obtener la masa de cada cereal.

## Elaboración de bebida fermentada de maíz y bebida fermentada de sorgo rojo

Fueron disueltos 500 g de masa en 2600 mL de agua, posteriormente fueron adicionados 260 g de piloncillo, 240 g de azúcar y 4 g de canela; la mezcla se mantuvo a fuego medio en constante movimiento. Una vez que la consistencia fue más espesa, se bajo el fuego y se agregó el jugo de un limón y se continuo la cocción por 45 minutos más. La mezcla se dejó fermentar por 24 horas a temperatura ambiente.

Pasado el tiempo al fermentado se le añadieron 500 mL de agua y la mezcla fue homogenizada. La bebida fermentada de sorgo rojo “tipo tejuino” fue elaborada siguiendo el mismo procedimiento ya descrito. Para las evaluaciones sensoriales por cada litro de bebida fermentada, fueron utilizados 500g hielo, 5g de sal de grano y el jugo de 3 limones (Flores *et al.*, 2009).

## Evaluación sensorial

La prueba de preferencia fue realizada utilizando 50 jueces no entrenados, los cuales evaluaron una muestra de cada bebida usando una codificación de 3 dígitos aleatorios, Los resultados de esta prueba fueron analizados estadísticamente, mediante una prueba de hipótesis utilizando un nivel de confianza del 99% (Anzaldúa-Morales, 2005).

La prueba triangular fue realizada a 36 jueces no entrenados, los cuales evaluaron tres muestras de las cuales dos eran iguales y una era diferente. Las muestras fueron codificadas con números aleatorios de 3 dígitos (maíz 236 y 974; sorgo 781 y 455). Se realizaron 6 combinaciones (Tabla I) y cada una de esta fue evaluada por 6 jueces.

*Tabla I. Combinaciones de muestras para prueba triangular*

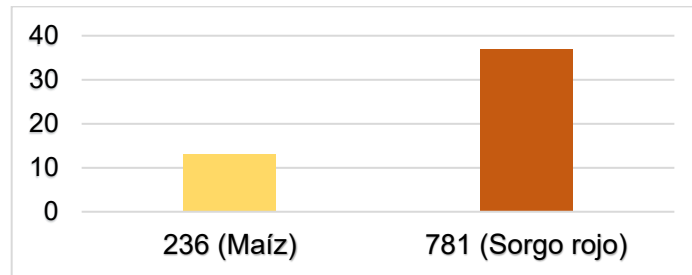
Muestra diferente	Combinación		
Tejuino de maíz	781	455	236
Tejuino de maíz	236	455	781
Tejuino de maíz	455	236	781
Tejuino de sorgo	236	974	781
Tejuino de sorgo	974	781	236
Tejuino de sorgo	781	974	236

Los resultados de esta prueba fueron analizados estadísticamente, mediante una prueba de hipótesis utilizando un nivel de confianza del 99% (Anzaldúa-Morales, 2005).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Prueba de preferencia

En esta primera prueba se observó claramente la preferencia por la bebida tipo tejuino a base de sorgo rojo, ya que 37 de las 50 personas encuestadas se inclinaron por esta bebida. De acuerdo con los comentarios recabados, el sabor de la bebida fermentada de sorgo rojo se considera fue más agradable en comparación con el de maíz. Los datos obtenidos se presentan en la gráfica 1.



**Gráfica 1.** Preferencia entre el tejuino de maíz y el tejuino de sorgo rojo

Para evaluar estadísticamente estos resultados se formularon las siguientes hipótesis:

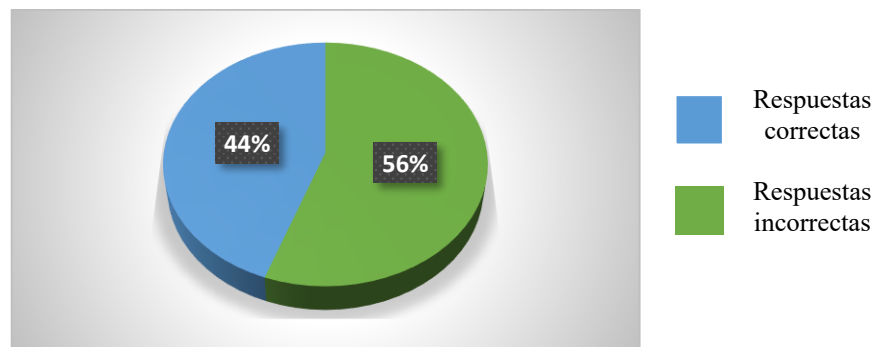
$H_0$  El tejuino de maíz y el tejuino de sorgo rojo tienen la misma preferencia

$H_1$  El tejuino de sorgo rojo tiene mayor preferencia que el tejuino de maíz

Puesto que se obtuvieron 37 respuestas correctas, podemos determinar con un 99% de confianza que aceptamos la  $H_1$  (hipótesis alternativa).

### Prueba triangular

Esta prueba fue aplicada a 36 jueces de los cuales como se puede observar en la Gráfica 2 el 56% identificó la muestra que era diferente, la mayoría acertó en la combinación donde la muestra diferente era de sorgo rojo.



**Gráfica 2.** Representación de las respuestas obtenidas de la prueba triangular

Para evaluar estadísticamente estos resultados se formularon las siguientes hipótesis:

$H_0$  No hay diferencia significativa entre el tejuino de maíz y el tejuino de sorgo rojo

$H_1$  Existe diferencia significativa entre el tejuino de maíz y el tejuino de sorgo rojo

Puesto que se obtuvieron 20 respuestas correctas de las 36 posibles, podemos determinar con un 99% de confianza que aceptamos la  $H_1$  (hipótesis alternativa).

### CONCLUSIÓN

Se logró producir una bebida fermentada de maíz (tejuino) y una bebida fermentada de sorgo rojo (tipo tejuino), con características sensoriales aceptables y se concluye con un 99.9% de confianza que la bebida fermentada de sorgo rojo tiene mayor preferencia que la bebida fermentada de maíz. Además, mediante una prueba triangular se determinó con el 99% de confianza que sí existen diferencias significativas entre las bebidas fermentadas de sorgo rojo y maíz.

### BIBLIOGRAFÍA

- Almodares, A., and Hadi, M.R. (2009). Production of bioethanol from sweet sorghum: A review. *African Journal of Agricultural Research*. 4 (9):772-780.
- Ananda, G., Myrans, H., Norton, S. L., Gleadow, R., Furtado, A., & Henry, R. J. (2020). Wild Sorghum as a Promising Resource for Crop Improvement. *Frontiers in plant science*, 11, 1108.
- Anzaldúa-Morales, A. (2005). *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica*. España: Acribia, S.A.
- Flores, S. G., Pacheco, J. R. S., Miranda, A. C., Reyes, M. T., Blanco, M. E. G., y Uscanga, B. R. A. (2009). Aislamiento e identificación de microorganismos nativos en la fermentación de tejuino artesanal.
- Lyumugabe, F., Gros, J., Nzungize, J., Bajyana, E. & Thonart, P., Characteristics of African traditional beers brewed with sorghum malt: a review., *Biotechnology Agronomy Society Environment*, Vol.16, No.4, 2012, pp. 509-530.
- Osorio-Oviedo, A. A. (2019). Pruebas de análisis sensorial para el desarrollo de productos de cereales infantiles en Venezuela. *Publicaciones En Ciencias Y Tecnología*, 13(2), 27-37.

## **Análisis Sensorial del Desarrollo una Nieve de Tamarindo con Mermelada de Chile Morrón y Habanero**

S.L. Juárez-Valtierra<sup>1\*</sup>, D. Campos-Arroyo<sup>1</sup>, S. Estrada-García<sup>1</sup>, L.A. Garibay-Rodríguez<sup>1</sup>, S. González-Flores<sup>1</sup>, P.A. Padilla-Vega<sup>1</sup>, M. Rodríguez-Vázquez<sup>1</sup> y S.C. Sombredero-Niño<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidad de Guanajuato. Campus Irapuato-Salamanca. División Ciencias de la Vida. Licenciatura en Ingeniería en Alimentos. Ex Hacienda El Copal km. 9; carretera Irapuato-Silao; A.P. 311; C.P. 36500; Irapuato, Guanajuato México. Correo de contacto: sl.juarezvaltierra@ugto.mx

<sup>2</sup>Universidad de la Sabana. Campus del Puente del común km. 7 Autopista Norte. Chia, Colombia.

### **RESUMEN**

Los sentidos son la única vía de comunicación del ser humano con su entorno es por ello que mediante el análisis sensorial utilizando dos pruebas se evaluaron tres formulaciones de mermelada en donde la variante en cada una fue el contenido de chile habanero y morrón, para después ser adicionada a tres muestras de nieve de tamarindo cada una con su respectivo código. Mediante el análisis sensorial se determinó la muestra con mayor aceptabilidad de acuerdo con los resultados obtenidos de 39 jueces no entrenados que participaron. La primera prueba fue Prueba de ordenación descriptiva en la cual se evaluó la intensidad de picante de cada muestra, de la cual se obtuvo que no encontraron diferencia significativa entre la muestra de nieve 82705 y 71480. Mientras que en la Prueba de nivel de agrado con escala estructurada, en la cual se evaluó la aceptación en general fue la muestra 66739 (formulación 3), siendo esta la seleccionada para para el desarrollo de este producto. Finalmente, se diseñó el etiquetado del producto con base a la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 declarando así el sello de Exceso de azúcares en la parte frontal de la etiqueta.

**Palabras clave:** Evaluación sensorial, análisis, desarrollo, mermelada, nieve.

### **ABSTRACT**

The senses are the only way of communication between the human being and his environment, which is why, through sensory analysis using two tests, three jam formulations were evaluated, where the variant in each one was the content of habanero chili and bell pepper, to later be added to three samples of tamarind snow each with its respective code. Through sensory analysis, the sample with the highest acceptability was determined according to the results obtained from 39 untrained judges who participated. The first test was a descriptive ordination test in which the intensity of spiciness of each sample was evaluated, from which it was obtained that no significant difference was found between the snow sample 82705 and 71480. While in the liking level test with structured scale, in which the acceptance was evaluated in general was sample 66739 (formulation 3), this being finally the one selected for the development of this product.

**Keywords:** Sensory evaluation, analysis, development, jam, snow.

## INTRODUCCIÓN

La nieve una preparación tradicional mexicana, es un postre congelado elaborado a base de agua, azúcar y un ingrediente que le dará el sabor, este es normalmente jugo de frutas. Entre las nieves de sabores frutales más populares se encuentran las de limón, mango, tamarindo, fresa, guanábana, coco, etc. También pueden ser de sabores no frutales como dulces de chocolate, galletas o cajetas. (Galeana P. et al 2017).

La nieve de garrafa es una de las formas más comunes de preparar nieve, en su preparación es básica por el tipo de maquinaria que se requiere, ya que solo se necesita un recipiente de madera, uno más pequeño de acero y una pala o cucharón para batirla. Se considera como una de las nieves más nutritivas por su forma de preparación, debido a que no contiene conservadores y la mayoría de sus sabores suelen ser de alguna fruta de temporada.

Por otra parte, la mermelada es un producto de consistencia pastosa o gelatinosa que se ha producido por la cocción y concentración de frutas sanas combinándolas con agua y azúcar. La elaboración de mermeladas sigue siendo uno de los métodos más populares para la conservación de las frutas en general. Una verdadera mermelada debe presentar un color brillante y atractivo, reflejando el color propio de la fruta. Además, debe parecer bien gelificada sin demasiada rigidez, de forma tal que pueda extenderse perfectamente. Debe tener por supuesto un buen sabor afrutado. También debe conservarse bien cuando se almacena en un lugar fresco, preferentemente oscuro y seco. Todos los que tienen experiencia en la elaboración de mermeladas saben que resulta difícil tener éxito en todos los puntos descritos, incluso cuando se emplea una receta bien comprobada debido a la variabilidad de los ingredientes en general, principalmente de la fruta. Las frutas difieren según sea su variedad y su grado de madurez, incluso el tamaño y la forma de las cacerolas empleadas para la cocción influyen sobre el resultado final al variar la rapidez con que se evapora el agua durante la cocción. (Romero-Suarez J. 2021).

En este presente trabajo pretendemos innovar uno de los postres más aceptados como lo es la nieve, en combinación con una mermelada hecha de una mezcla de chiles ya que en nuestro país México somos reconocidos por el consumo en gran medida de alimento y que todo lo queremos acompañar con él y porque no ahora en una nieve para disfrutar en compañía de toda la familia.

La evaluación sensorial se ha definido como una disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar esas respuestas a los productos percibidos a través de los sentidos de la vista, el olfato, el tacto, el gusto y el oído. (Severiano-Pérez P. 2021).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Mermelada de chile habanero y chile morrón

En el desarrollo del producto se realizaron tres formulaciones de mermelada para la nieve de tamarindo, en las cuales se varió el porcentaje de chiles. La formulación uno se realizó con 200 g de azúcar, 175 g de chile habanero, 25 g de chile morrón amarillo y 15 ml de vinagre, en la formulación 2 el porcentaje de chiles fue 50/50 es decir 100 g de chile habanero y 100 g de chile morrón y para la tercera formulación fue 25/75, 25 g de chile habanero y 175 de morrón. Los chiles de las tres formulaciones fueron desvenados y cortados en trozos pequeños, para posteriormente realizar cada mermelada; se puso un sartén a fuego lento con el chile previamente picado, hasta alcanzar una

temperatura de 105 °C durante un tiempo de 10 minutos para después adicionar el azúcar y vinagre, manteniendo la misma temperatura por otros 10 minutos, finalmente se pasó a un enfriamiento hasta alcanzar una temperatura de 4°C; este proceso fue el mismo para las tres formulaciones.



**Fig. 1:** Mermelada de habanero y chile morrón.

### Nieve de Tamarindo

Se lavaron 500 g de tamarindo para después pelarlos manualmente y llevarlos a cocción con 1 L de agua, hasta alcanzar una temperatura de 95°C por 5 minutos, posteriormente se realizó el despulpado y se le adiciono 1.5 L de agua y 1 kg de azúcar, se mezcló para después llevarse a congelamiento a -18°C.



**Fig. 2:** Nieve de tamarindo

### Evaluación Sensorial

Se formaron tres lotes de nieve tamarindo y a cada uno se le integro una de las formulaciones de mermelada, posteriormente se les asigno un código numérico. (tabla 1)

	<b>Formulación 1</b> <b>75% habanero + 25%</b> <b>morrón</b>	<b>Formulación 2</b> <b>50% habanero +</b> <b>50% morrón</b>	<b>Formulación 3</b> <b>25% habanero +</b> <b>75% morrón</b>
<b>Código asignado a la muestra</b>	71480	82705	66739

**Tabla I:** Códigos asignados a cada lote de nieve de acuerdo a la formulación de mermelada añadida.

En la evaluación sensorial participaron 39 jueces no entrenados, los cuales se encontraban en un rango de edad de 16-82 años. El análisis se llevó a cabo con la “Prueba de Ordenación descriptiva” con la cual ordenarían de acuerdo con la intensidad de picor de cada muestra, es decir, de la menos picante

a la más picante, la otra fue “Prueba de Nivel de agrado con Escala Estructurada” en la cual evaluarían la aceptabilidad general de cada muestra. Se les entregó a las juezes la boleta correspondiente a cada prueba y se les dieron a conocer las instrucciones.

Se sirvieron las muestras en platos con su respectivo código y también se les proporcionó a cada juez, pluma, servilleta y un vaso con agua para beber entre cada degustación y así evitar la combinación de sabores.



**Fig. 3:** Se observa el espacio en el cual cada juez realizó la evaluación sensorial.

### **Determinación del punto de equilibrio del producto**

El punto de equilibrio se estimó con base a los costos iniciales, variables y fijos, estos últimos representan a los servicios básicos como agua, electricidad, renta del local, gas, teléfono etc; así como también al recurso humano los cuales se estimaron a un mes, mientras que los costos variables representan principalmente a la materia prima utilizada para la elaboración del proceso de la nieve y mermelada, es variable, debido a que estos costos dependerán de la cantidad de producto a elaborar y finalmente los costos iniciales son los equipos y mobiliario que se emplean en el proceso. A continuación se presentan las ecuaciones para el cálculo del precio unitario del producto, venta mínima o punto de equilibrio.

#### **Ec. 1: Precio por unidad**

Ecuación 1:  $[(\text{Costo variable unitario} \times \text{Porcentaje de ganancia}) + \text{Costo variable unitario}]$

#### **Ec. 2: venta mínima**

Ecuación 2.  $[\text{Costo fijo total} / (\text{Precio de venta unitario} - \text{Costo variable unitario})]$

#### **Ec. 3: Punto de equilibrio**

Ecuación 3.  $[\text{Costo fijo total} / 1 - (\text{Costo variable unitario} / \text{Precio de venta unitario})]$

### **Elaboración del etiquetado y declaración nutricional**

Se realizó de acuerdo con las especificaciones que se marcan en la Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados- Información comercial y sanitaria. Tomando en cuenta la modificación del 2021.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Evaluación Sensorial**



Una vez terminada la evaluación sensorial se recabaron todos los datos para posteriormente realizar su análisis empleando la Prueba de Ordenación Descriptiva (Ranking Test) y la Prueba de Nivel de Agrado con Escala Estructurada y con base a ello elegir la mejor formulación de mermelada para la nieve.

**A) Prueba de Ordenación Descriptiva (Ranking Test)**

La característica que fue evaluada con esta prueba fue la intensidad de picante de las muestras. De la menos picante a la más picante (66739<82705<71480).

**Tabla II:** Resultados obtenidos de la prueba de ordenación descriptiva.

Código de muestra	66739	82705	71480
Suma total a 19 Jueces	25	42	45

Evaluando los resultados obtenidos (Tabla II), en la Tabla de Larmond (1986) para la Prueba de Ranking, tomando un total de 19 juicios con un nivel de significancia del 5%, la suma de las calificaciones de las muestras debe encontrarse en un rango de 37 a 58, para que no se establezca diferencia significativa entre ellas. Por lo tanto, se determina que no existe diferencia significativa en el porcentaje de chile habanero y chile morrón entre muestras de la nieve 82705 (50:50) y 71480 (75:25), ya que estos valores se encuentran dentro del rango que dicta la tabla de Larmond, es decir, que los jueces no encontraron diferencia entre el picor de la formulación 1 y 2. Mientras que si la encontraron con la formulación 1 lo cual es lógico ya que es la menos picante en comparación con las otras dos.

**Prueba de Nivel de agrado con Escala Estructurada**

Con esta prueba los 39 jueces no entrenados evaluaron la aceptabilidad en general de cada una de las muestras de nieve de tamarindo cada una con distinto porcentaje de chiles, con escala de 9 puntos, en la cual 1 (me disgusta mucho) y 9 (me gusta muchísimo). Una vez obtenidos los resultados se tabularon y metieron al Software Statgraphics (Tabla 3).

**Tabla III:** Resultados obtenidos de Statgraphics para la Prueba Afectiva

Código de la muestra	Aceptación General	P-Value
1) 66739	7.8 ± 1.1 <sup>A</sup>	0.0117
2) 82705	7.48 ± 1.0 <sup>AB</sup>	
3) 71480	6.9 ± 1.4 <sup>B</sup>	

- La muestra 66739 (formulación 3) fue la más aceptada por los jueces, con una variación estándar de 1,1.
- El valor p es un valor menor (0.0117) que 0,05 (p <0,05). Esto significa que si existe una diferencia estadísticamente significativa entre las tres muestras evaluadas.
- La muestra 82705 tiene similitud con la muestra 66739 en algunos atributos y con 71480 en otros atributos. Sin embargo, las muestras 66739 y 71480 son muy diferentes entre sí, y se refleja en el valor de aceptación de cada medio.

**Determinación del Punto de Equilibrio**

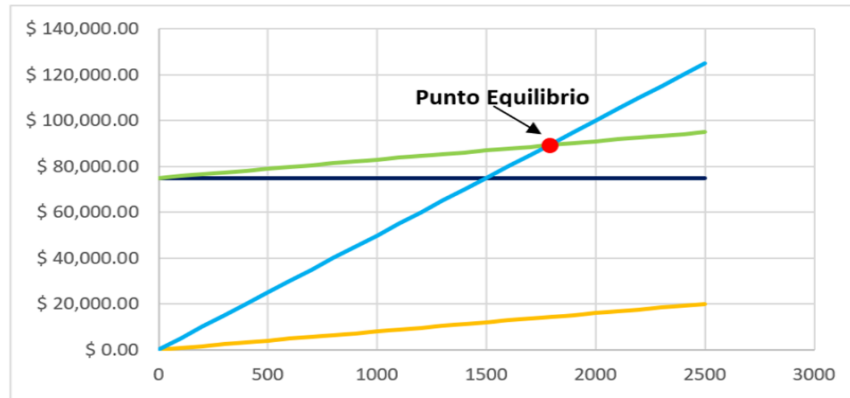
**Tabla IV:** Resumen de los Costos Fijos a 1 mes

<b>Cantidad</b>	<b>Concepto (Equipo y mobiliario)</b>	<b>Costo de Compra</b>
-	Arriendo	\$ 10,000.00
-	Luz	\$ 15,000.00
-	Agua	\$ 3,000.00
-	Teléfono	\$ 3,131.50
-	Gas	\$ 1,828.00
-	Mantenimiento	\$ 2,000.00
-	Limpieza	\$ 1,000.00
<b>Trabajadores</b>		
2	Ingenieros	\$ 16,000.00
2	Operadores	\$ 10,000.00
2	Personal de limpieza	\$ 8,000.00
1	Distribuidor	\$ 5,000.00
<b>COSTO TOTAL</b>		<b>\$ 74,959.50</b>

**Tabla V:** Resumen de los costos Variables

<b>Ingrediente</b>	<b>Unidades</b>	<b>Costo por Kg/L</b>	<b>Cantidad (g o ml) por L de nieve</b>	<b>Costo de producción (1 L)</b>
<b>Azúcar</b>	Kg	\$ 16	188.5	\$ 3.02
<b>Agua</b>	ml	\$ 3	318.9	\$ 0.80
<b>Tamarindo</b>	g	\$ 50	78.5	\$ 3.93
<b>Habanero</b>	g	\$ 95	4	\$ 0.38
<b>Pimentón</b>	g	\$ 35	27.5	\$ 0.96
<b>Vinagre</b>	ml	\$ 15	2.3	\$ 0.03
<b>Envase</b>	Piezas	\$ 7	1	\$ 7.00
<b>TOTAL</b>				<b>\$ 8.00</b>
<b>Costo Total</b>				<b>\$ 8.00</b>
<b>Precio de Venta</b>				<b>\$50.00</b>

De acuerdo con lo anterior (Tabla IV y V) el punto de equilibrio del producto en el cual se recuperan los costos fijos y variables y no se generan pérdidas ni ganancias es de 2,200 unidades o un total de \$110,000.00 pesos.



**Gráfico 1:** Punto de equilibrio

### Elaboración de la Etiqueta y Declaración Nutricional del producto

En la figura 4 se muestra la etiqueta del producto la cual cumple con todos los datos establecidos por norma. El producto solo tiene el sello de exceso de azúcares, ya que el contenido de azúcar añadida es de 36 g en 100 g de producto, lo que equivale al 94.8% de Kcal totales en dicha porción superando así al 10% que la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 establece para el contenido de azúcar.



**Fig. 4:** Etiqueta del producto

## CONCLUSIÓN

- El desarrollo de un nuevo producto “Nieve de Tamarindo Veteado con mermelada de habanero” se cumplió satisfactoriamente.
- Con los resultados obtenidos en la prueba de ordenación descriptiva o Ranking Test, se concluye que no existe diferencia significativa entre las muestras de nieve 82705 (50 % habanero) y 71480 (75% habanero). Por tanto, de estas dos la mejor formulación para elegir es la 82705, ya que esta al contener menos habanero que la 71480, nos ayudara a ahorrar costos, ya que el chile habanero es más caro en comparación con el chile morrón amarillo, además de que la nieve no será la más picante.
- De acuerdo con la Prueba de Escala Estructurada, se concluye que la muestra con mayor aceptabilidad por parte de los jueces es la nieve con formulación 3 (66739), que es la que tiene menor concentración de chile habanero (25%).
- Analizando los resultados, finalmente optamos por elegir la formulación 3 (200 gr de azúcar, 25 gr de habanero, 175g de pimienta, 15 ml de vinagre) de mermelada para que sea veteada con la nieve de tamarindo.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Galiana, P. y Coloma, E. (2017). El helado fase a fase. El Arte heladero.
2. Larmond E. (1986). Métodos de Laboratorio de Evaluación Sensoria. Canadá. Página 65
3. Romero Suarez J. (noviembre, 2021). Mermeladas. Ecuador. ESPE. Universidad de las Fuerzas Armadas. Pp 12-13
4. Severiano-Pérez P. (2018). ¿Qué es y Cómo se utiliza la Evaluación Sensorial? Inter disciplina. Vol. 7. no. 19. Pp 52-55
5. Ruiz de Castilla, R. (2017). Producción de helados a nivel industrial. Lamonina.

## Uso de extracto acuoso de buganvilia (*Bougainvillea spectabilis*) en la elaboración de jamón de carne de conejo

E. Jiménez Vázquez<sup>1</sup>, S. Soto Simental<sup>1</sup>, R. González Tenorio<sup>1</sup>, M. Ayala Martínez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Ave. Universidad s/n km 1 Ex-Hacienda de Aquetzalpa. Tulancingo, Hgo. MEXICO.CP. 43600. [ayalam@uaeh.edu.mx](mailto:ayalam@uaeh.edu.mx)

### RESUMEN

En México, el conejo se consume desde la época prehispánica (tochtli, conejo de campo en náhuatl), sin embargo, actualmente su consumo es bajo, a pesar de ello se han desarrollado una diversidad de productos cárnicos con base en esta carne. El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia de un extracto acuoso de buganvilia sobre algunas características de jamón extrafino de carne de conejo. Se realizaron dos lotes diferentes de jamón con dos tratamientos, un control y otro con la adición de un extracto de buganvilia (100g de flor en un L de agua), para posteriormente determinar color, análisis de perfil de textura y actividad de agua. Los resultados indican que la dureza, elasticidad, gomosidad y masticabilidad del jamón con extracto fue menor ( $p<0.05$ ) que el control. Aunado a ello los valores de  $a^*$  fueron mayores ( $p<0.05$ ) en los jamones con extracto, mientras que los valores de  $b^*$  fueron menores ( $p<0.05$ ). Con relación a la actividad de agua fue menor ( $p<0.05$ ) en los jamones con extracto de buganvilia. Se puede concluir que el extracto de buganvilia se puede emplear en la elaboración de jamón, sin embargo, se requiere de una caracterización mas amplia de dicho extracto.

**Palabras clave:** Buganvilia, textura, color, jamón.

### ABSTRACT

In Mexico, the rabbit has been consumed since ancient times (tochtli, in Nahuatl); however, nowadays rabbit meat consumption is low, despite this, a variety of meat products have been developed based on this meat. The objective of this work was to determine the influence of an aqueous extract of bougainvillea on some characteristics of extra fine rabbit meat ham. Two different batches of ham were made with two treatments, one control and the other one with the addition of a bougainvillea extract (100 g of flower in 1 L of water), in order to subsequently determine color, texture profile analysis and water activity. The results indicate that the hardness, springiness, gumminess and chewiness of the ham with extract were lower ( $p<0.05$ ) than the control. In addition,  $a^*$  values were higher ( $p<0.05$ ) in hams with extract, while  $b^*$  values were lower ( $p<0.05$ ). Regarding water activity, it was lower ( $p<0.05$ ) in hams with bougainvillea extract. It can be concluded that the bougainvillea extract can be used in the preparation of ham, however, further characterization of this extract is required.

**Key words:** Buganvilia, texture, color, ham.

## INTRODUCCIÓN

La producción mundial de carne de conejo ascendió en 2020 a 885 millones de toneladas, siendo China el mayor productor del mundo (Statista, 2022), mientras que México ocupa el noveno lugar con 18,297 toneladas (SENASICA, 2022). Con relación al consumo de carne de conejo se sabe que en México, se hace desde la época prehispánica (tochtli, conejo de campo en náhuatl); sin embargo, la especie, tal como se le conoce, fue introducida en el país por los colonizadores españoles (Aceves, 2019). La producción de carne de conejo se centra en los estados de: Puebla, Tlaxcala, Morelos, Ciudad de México, Michoacán, Guanajuato, Querétaro, Estado de México, Hidalgo y Jalisco (SAGARPA, 2016). Sin embargo, la zona metropolitana de la Ciudad de México es donde se encuentra la mayor venta de carne de conejo, principalmente en lugares como restaurantes de comida típica ubicados a pie de carretera, ferias y mercados.

La carne de conejo se considera un “alimento funcional”, esto significa que no solamente tiene un adecuado valor nutricional, sino que además aumenta el estado de salud y bienestar de las personas, ya que ayuda a disminuir el riesgo de enfermedades, ofrece excelentes propiedades nutritivas y dietéticas, contiene alto contenido de proteínas (22 %), con altos niveles de aminoácidos esenciales (2.12 g lisina, 2.01 g treonina, 1.19 g valina, 1.15 g de isoleucina, 1.73 g leucina y 1.04 g de fenilalanina por cada 100 g), con bajo contenido de lípidos, pero alto valor energético (144.02 a 214.72 Kcal / 100 g), el cual depende principalmente de su alto contenido de proteínas, contiene niveles bajos de Fe (1.3 mg / 100 g), bajo en Na (50–90 mg / 100 g), alto contenido de P (234 mg / 100 g) y Se de 9.3–15µg /100g, así como altas concentraciones de vitaminas del complejo B, principalmente ácido fólico (10 µg /100g) (Dalle & Szendro, 2011).

En la comercialización de la carne de conejo se encuentran productos a base de carne de conejo como: salchichas, mortadela, jamones batidos, especialidades cárnicas, carnes apanadas (croquetas, rollitos,) hamburguesas, salchichas, patés y otros (Aguilera & Jadid, 2011). En los cuales se utilizan una diversidad de aditivos, entre ellos colorantes.

La planta de *Bougainvillea spectabilis* contiene una diversidad de compuestos secundarios, entre los que se encuentran la presencia de alcaloides, flavonoides, furanoides, glucósidos, fenoles, flobotaninos, quinonas, saponinas, esteroides, taninos y terpenoides que se extrajeron del tallo, flores y hojas de *B. spectabilis*, los cuales le confieren diversas propiedades como antibacterianas, antihiperlipidémicas, antifertilidad, antioxidante, entre otras (Ghogar *et al.*, 2016). Dentro de esos compuestos se encuentran las betalainas que se encontraron en varias especies de *Bougainvillea* (Abarca-Vargas & Petricevich, 2018). Por lo anterior comentado, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el uso de un extracto acuoso de buganvilia (*Bougainvillea spectabilis*) en la elaboración de jamón de carne de conejo sobre el color, textura y actividad de agua del producto.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención del extracto acuoso de buganvilia

Se utilizaron 100 g de flor de buganvilia (*Bougainvillea spectabilis*) en 1L de agua, se dejaron a fuego medio, por un tiempo de 15 minutos, se retiraron del fuego y se procedió a colar la infusión. El resultado del extracto acuoso de almacenó refrigeración.

### Proceso de elaboración del jamón

Primero se realizó el deshuesado de la carne de conejo, del corte de lomo, posteriormente se pasó a través de un tenderizador de carnes Torrey MT43 (Torrey, Monterrey, NL, México), con esto se obtendrá un desgarramiento de la carne para conseguir así una mejor absorción de la salmuera, un aumento de la superficie del musculo y, consecuentemente, una mejora en la textura del producto y un producto final más uniforme, posteriormente se deberá pasar la carne por el molino con el cedazo de riñón, y se meterá a refrigeración en lo que se preparará la salmuera. La salmuera es una mezcla de aditivos e ingredientes, seleccionados para conseguir los mejores resultados en la nitrificación de la carne, se utilizará sal, dextrosa, fosfato, sal cura, carragenina, condimento de jamón holandés, eritorbato, benzoato de sodio, el colorante rojo carmín y el extracto de bugambilia, se mezclarán los condimentos en agua/hielo en orden y así se obtendrá la salmuera.

La carne y la salmuera se vertieron en un tomblor Edel SVM-100 (QPI, Monterrey, NL, México), que es un equipo para mezcla cárnica al vacío. Se cerró el tomblor y se generó el vacío, se esperó un minuto, y se procedió con un ciclo de masajeo de 30 minutos, terminado esto, se dejó un reposo de 5 minutos, después un ciclo de tombleo de 30 minutos, se dejó en reposo de 5 minutos y finalmente se dio un ciclo de masajeo de 30 minutos. Se dejó reposar 4 horas en refrigeración. Pasadas las horas de reposo, se deberá embutir el jamón en una funda, en la embutidora de alimentos. Terminado este paso, se procederá a introducirlo en una empacadora al alto vacío, con esto se logrará retirar la mayor cantidad de burbujas de aire que hayan quedado en el momento que se embutirá. Se procedió al cocimiento del jamón, a una temperatura de 75°C, por un tiempo de 90 minutos, se verificó que la temperatura se mantuviera en el tiempo de la cocción, y se registró la temperatura con un termómetro de inserción para carne, en la parte interna del jamón, donde alcanzó una temperatura de 70 °C, alcanzada la temperatura deseada se retiró de la cocción y se llevó a refrigeración.

### Diseño del experimento

Se elaboraron dos tratamientos con jamón (Tabla 1), el primero fue el control, elaborado con una fórmula de jamón extrafino y condimento tipo holandés. El otro jamón se utilizó la misma formulación, pero se le añadió el extracto acuoso de buganvilia. Lo anterior se realizó en dos lotes diferentes.

Tabla 1. Formulación de los tratamientos de jamón de conejo adicionado con extracto acuoso de buganvilia.

Ingrediente	Tratamiento <sup>1</sup>	
	C	IB
Carne de conejo, g	1000	1000
Sal, %	1.45	1.45
Dextrosa	1.50	1.50
Fosfatos, %	0.5	0.5
Sal cura, %	0.5	0.5

<b>Carragenina, %</b>	0.4	0.4
<b>Condimento para jamón, %</b>	0.3	0.3
<b>Eritorbato, %</b>	0.2	0.2
<b>Esteribac, %</b>	0.16	0.16
<b>Rojo carmin, %</b>	0.02	0
<b>Extracto acuoso de buganvilia, %</b>	0	18.07

<sup>1</sup>C= Tratamiento control, IB= tratamiento con adición de extracto acuoso de buganvilia.

### Determinación del análisis de perfil de textura

Se prepararon muestras de jamón en cubos de 1.5 cm por lado, se realizaron 10 repeticiones del análisis. Para la determinación del análisis de perfil de textura se utilizó un texturómetro TA-XT Plus (Texture analyser, London, UK), el cual fue configurado para comprimir al 30% las muestras, se empleó una velocidad en la prueba de 1 mm.s<sup>-1</sup>, se adaptó una sonda de aluminio de 36 mm de diámetro. Las muestras fueron comprimidas dos veces, con ello se obtuvo una gráfica fuerza y tiempo con un software Exponent (Texture analyser, London, UK), para con ello obtener los parámetros de dureza, resiliencia, cohesividad, elasticidad, gomosidad y masticabilidad del jamón.

### Determinación de color

El color se determinó utilizando un colorímetro Minolta CM-508d (Minolta, Tokio, Japan). Los valores se registraron en términos del espacio de color CIELab utilizando el iluminante D65 y 10° en el observador como lo indican las guías para medir el color de la Asociación Americana de Ciencia de la Carne (AMSA, 2012). A partir de los valores de L\* (Luminosidad), a\* (coordenadas de rojo-verde) y b\* (coordenadas amarillo-azul), se calcularon chroma (croma o saturación) y Hue (ángulo de matiz). De cada tratamiento se tomaron 5 medidas internas y 5 externas de color del jamón.

### Determinación de actividad de agua (Aw)

Se tomarán 3 muestras por tratamiento y repetición, las cuales se cortaron para colocarlas en los platos muestras de plástico, para proceder a introducir la muestra en el medidor de actividad de agua HygroPalm HP23-AW (Rotronic Instrument Corp, NY, USA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto sobre la textura

La textura es uno de los atributos que son de suma importancia en los productos cárnicos y está altamente relacionada con la medición instrumental a través de un análisis de perfil de textura (Rizo



et al., 2018). En la Tabla 2, se muestran los resultados del análisis de textura que se realizó al jamón elaborado con extracto acuoso de buganvilia. En donde se puede observar que la dureza, elasticidad, gomosidad y masticabilidad fue mayor ( $p < 0.05$ ) en el tratamiento control en comparación con el extracto acuoso de buganvilia.

Tabla 2. Promedio de los parámetros del análisis de perfil de textura de jamón con carne de conejo elaborado con extracto acuoso de buganvilia.

Variable	Tratamiento <sup>1</sup>	
	C	IB
<b>Dureza</b>	551.55 ± 120.37 <sup>a</sup>	417.27 ± 181.61 <sup>b</sup>
<b>Resiliencia</b>	44.34 ± 4.95	42.21 ± 3.98
<b>Cohesividad</b>	73.52 ± 5.81	71.02 ± 7.49
<b>Elasticidad</b>	90.73 ± 10.61 <sup>a</sup>	84.17 ± 8.01 <sup>b</sup>
<b>Gomosidad</b>	40291.00 ± 8057.73 <sup>a</sup>	29310.52 ± 12300.17 <sup>b</sup>
<b>Masticabilidad</b>	36864.60 ± 10760.40 <sup>a</sup>	25286.73 ± 11572.64 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>C= Tratamiento control, IB= tratamiento con adición de extracto acuoso de buganvilia. <sup>ab</sup>Literales diferentes entre columnas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

### Efecto sobre el color y actividad de agua

El color es el atributo más importante para la compra de la carne y productos cárnicos. En la tabla 3, se muestran los resultados del análisis de color que se realizó al jamón elaborado con extracto acuoso de buganvilia. En donde se puede observar los valores de a\* fueron mayores ( $p < 0.05$ ) en los jamones con extracto, mientras que los valores de b\* fueron menores ( $p < 0.05$ ). En la Figura 1, se puede apreciar el color de los jamones elaborados. Aminzare *et al.* (2019) indican que en la carne se pueden emplear aditivos derivados del metabolismo secundario de las plantas para controlar la oxidación, entre estos compuestos se pueden mencionar vitaminas, ácidos fenólicos y numerosos flavonoides. García-Lomillo *et al.* (2017) indican que la cocción de la carne puede provocar la pérdida de pigmentos en la carne y productos cárnicos.

Tabla 3. Promedio de los parámetros de color y actividad de agua en jamón con carne de conejo elaborado con extracto acuoso de buganvilia.

Variable	Tratamiento	
	C	IB
<b>Color externo</b>		
<b>L*</b>	68.18 ± 4.19 <sup>a</sup>	63.81 ± 1.85 <sup>b</sup>

<b>a*</b>	4.79 ± 0.83 <sup>b</sup>	10.00 ± 0.74 <sup>a</sup>
<b>b*</b>	9.30 ± 1.96 <sup>a</sup>	3.45 ± 1.31 <sup>b</sup>
<b>C</b>	10.50 ± 1.92	10.65 ± 0.83
<b>H</b>	1.09 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.33 ± 0.11 <sup>b</sup>
<b>Color interno</b>		
<b>L*</b>	69.38 ± 1.33 <sup>a</sup>	60.89 ± 3.34 <sup>b</sup>
<b>a*</b>	5.27 ± 0.57 <sup>b</sup>	12.03 ± 1.63 <sup>a</sup>
<b>b*</b>	9.63 ± 0.83 <sup>a</sup>	3.19 ± 1.51 <sup>b</sup>
<b>C</b>	10.99 ± 0.85 <sup>b</sup>	12.54 ± 1.48 <sup>a</sup>
<b>H</b>	1.06 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.27 ± 0.13 <sup>b</sup>
<b>Aw</b>	0.939 ± 0.021 <sup>a</sup>	0.852 ± 0.012 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>C= Tratamiento control, IB= tratamiento con adición de extracto acuoso de buganvilia. <sup>ab</sup>Literales diferentes entre columnas indican diferencias significativas (p<0.05).

Con relación a la actividad de agua fue menor (p<0.05) en los jamones con extracto de buganvilia que el color fue mayor (p<0.05) en el tratamiento control en comparación con el extracto acuoso de buganvilia. Niederhäusern *et al.* (2021) mencionan que el empleo de extractos de plantas contra bacterias patógenas puede ser debido a que la actividad de agua se ve disminuida. Aun y cuando no indican que la disminución de la actividad es provocada por el extracto, aquí en este estudio se puede apreciar que la actividad de agua es menor en el jamón adicionado con extracto acuoso de buganvilia, el efecto de disminuir la disponibilidad de agua se ha reportado cuando se emplean frutas o vegetales en productos cárnicos (Salehi, 2021), aunque en general los estudios van enfocados a la determinación del efecto sobre la textura del producto cárnico.



**Figura 1.** Comparación de jamones elaborado con extracto acuoso de buganvilia y control.

## CONCLUSIÓN

Se puede concluir que el extracto de buganvilia se puede emplear en la elaboración de jamón, resultando en un buen colorante natural para el jamón, da una tonalidad agradable a la vista. Sin embargo, se requiere de una caracterización más amplia de dicho extracto, ya que existe un efecto sobre la textura y actividad de agua, es por ello por lo que se debería de ampliar la información del extracto acuoso.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abarca-Vargas, R. & Petricevich, V.L. (2018). Bougainvillea Genus: A Review on Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. <https://doi.org/10.1155/2018/9070927>.
- Aceves, M. R. (2019). Análisis económico de la producción cunícola en la región de los Volcanes del Estado de México. (Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México). <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/105885/Documento%20-%20tesis.pdf?sequence=4&isAllowed=y#:~:text=M%C3%A9xico%20ocupa%20el%20vig%C3%A9si mo%20lugar,500%20son%20de%20peque%C3%B1a%20escala.>
- Aguilera, B. G. & Jadid, S.L.Y. (2011). Diseño y elaboración de un enlatado de carne de conejo en ensalada de vegetales bajo en calorías y alto valor nutricional. (Tesis de licenciatura, Universidad de Cartagena). [https://repositorio.unicartagena.edu.co/bitstream/handle/11227/354/TESIS%20DE%20GRADO%20FIN ALIZADA%20.....pdf?sequence=1&isAllowed=y.](https://repositorio.unicartagena.edu.co/bitstream/handle/11227/354/TESIS%20DE%20GRADO%20FIN ALIZADA%20.....pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Aminzare, M., Hashemi, M., Ansarian, E., Bimkar, M., Azar, H.H., Mehrasbi, M.R., Daneshamooz, S., Raeisi, M., Jannat, B., & Afshari, A. (2019). Using natural antioxidants in meat and meat products as preservatives: a review. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 7(5): 417-426. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2019/7.5.417.426>
- AMSA, 2012. Meat color measurement guidelines. American Meat Science Association Champaign. IL. USA. [https://meatscience.org/publications-resources/printed-publications/amsa-meat-color-measurement-guidelines.](https://meatscience.org/publications-resources/printed-publications/amsa-meat-color-measurement-guidelines)
- Dalle Zotte, A. & Szendrő, Z. (2011). The role of rabbit meat as functional food. *Meat Sci* 88(3): 319–331. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.02.017>.
- García-Lomillo, J., Gonzalez-SanJose, M.L., Del Pino-García, R., Ortega-Heras, M., & Muñoz-Rodríguez, P. (2017). Antioxidant effect of seasonings derived from wine pomace on lipid oxidation in refrigerated and frozen beef patties. *LWT - Food Sci. Technol.* 77: 85-91.
- Ghogar, A., Jiraungkoorskul K., & Jiraungkoorskul, W. (2016). Paper Flower, *Bougainvillea spectabilis*: Update Properties of Traditional Medicinal Plant. *Journal of Natural Remedies*, 16(3), 83-87. <https://www.informaticsjournals.com/index.php/jnr/article/view/5703/7335>.
- Niederhäusern, S., Bondi, M., Camellini, S., Sabia, C., Messi, P., & Iseppi, R. (2021). Plant Extracts for the Control of *Listeria monocytogenes* in Meat Products. *Appl. Sci.* 11, 10820. <https://doi.org/10.3390/app112210820>.
- Rizo, A., Peña, E., Alarcon-Rojo, A. D., Fiszman, S., & Tarrega, A. (2018). Relating texture perception of cooked ham to the bolus evolution in the mouth. *Food Research International*. doi:10.1016/j.foodres.2018.02.073.
- SAGARPA (2016). Todo sobre la producción de carne de conejo. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/conoce-todo-sobre-la-produccion-de-carne-de-conejo>.
- Salehi, F. (2021). Textural properties and quality of meat products containing fruit or vegetable products: A review. *Journal of Food and Nutrition Research*. 60(3):187–202.
- SENASICA. (2022). Situación actual de la enfermedad hemorrágica del conejo (VEHC2) en México y EUA.

## Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

[https://dj.senasica.gob.mx/Contenido/infografias/anml/ehvc/info\\_evhc\\_MexicoEUA.pdf](https://dj.senasica.gob.mx/Contenido/infografias/anml/ehvc/info_evhc_MexicoEUA.pdf). Acceso 12 de mayo de 2022.

Statista (2022). Volumen de producción de carne de conejo producida en el mundo desde 2017 al 2020. <https://es.statista.com/estadisticas/525924/produccion-mundial-de-carne-de-conejo/>.

## Efecto del aceite de orégano en la carne de bovino

H. Reynoso-Escobedo<sup>1,\*</sup>, A. I. Luna-Maldonado<sup>1</sup>, N.E. García-Treviño<sup>1</sup>, S.R. Sinagawa-García<sup>1</sup>, D.S. Rico-Costilla<sup>1</sup>, E. Flores-Girón<sup>3</sup> y G. Méndez-Zamora<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Francisco Villa S/N, Ex-Hacienda el Canadá, 66050, General Escobedo, Nuevo León, México.

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina Veterinaria Zootecnista, Francisco Villa S/N, Ex Hacienda el Canadá, 66050, General Escobedo, Nuevo León, México.

<sup>3</sup> Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Carr. Federal México-Texcoco Km 38.5, 56230, Texcoco, Estado de México, México.

\* Correo electrónico del autor de contacto. [hugoreynosoescobedo@gmail.com](mailto:hugoreynosoescobedo@gmail.com)

### RESUMEN

En esta investigación se evaluó el efecto del aceite esencial de orégano (*Lippia berlandieri* Schauer) sobre la calidad de la carne de bovino. Un total de 11.2 kg de carne (Longissimus dorsi) fueron distribuidos en tres tratamientos y un control, divididos en dos réplicas cada uno. Los tratamientos evaluados fueron CBE: carne de bovino en empaque sin aceite de orégano; CBV: carne de bovino al vacío sin aceite de orégano; CBEAO: carne de bovino en empaque con 100 ppm de aceite de orégano; CBVAO: carne de bovino al vacío con 100 ppm de aceite de orégano. Las variables fisicoquímicas y microbiológicas fueron evaluadas a las 24 h de almacenamiento a 4°C. La carne tratada con el AO (CBEAO y CBVAO) mantuvieron el pH entre 5.46 y 5.64; el color de la carne se mantuvo, mejoró la retención de agua con valores de 65.65 hasta 69.23 %, aumentó las bacterias ácido lácticas, hongos y levaduras. La adición de aceite esencial de orégano puede mejorar las propiedades fisicoquímicas actuando como conservador natural en la carne de bovino.

**Palabras clave:** microbiológicas, retención de agua, pH, color.

### ABSTRACT

In this research, the effect of oregano essential oil (*Lippia berlandieri* Schauer) was evaluated on beef quality. A total of 11.2 kg of meat (Longissimus dorsi) were distributed in three treatments and one control, divided into two replicates each. The trials evaluated were CBE: beef in packaging without oregano oil; CBV: vacuum-packed beef without oregano oil; CBEAO: beef in packaging with 100 ppm of oregano oil; CBVAO: vacuum-packed beef with 100 ppm of oregano oil. Physicochemical and microbiological variables were evaluated after 24 h of storage at 4°C. The meat treated with the AO (CBEAO and CBVAO) kept the pH between 5.46 and 5.64; the meat color was maintained, water retention improved with values from 65.65 to 69.23%, lactic acid bacteria, fungi and yeasts increased. The addition of oregano essential oil can improve the physicochemical properties by acting as a beef natural preservative.

**Key words:** microbiological, water retention, pH, color

## INTRODUCCIÓN

Existe un mayor interés en el proceso de conservación de la carne. La temperatura, humedad relativa, flujo de aire, tipo de empaque y tiempo de almacenamiento son factores que influyen en la conservación. La carne es propensa a la oxidación y descomposición, ya que es alto el contenido de agua, alta en ácidos grasos insaturados y proteínas (Liu & Liu, 2020). El deterioro y oxidación son parámetros que disminuyen la calidad de la carne durante el almacenamiento (Pateiro et al., 2018). Diversos métodos de conservación como la congelación, refrigeración, deshidratación, salazón, ahumado, calor, curado y madurado se han evaluado en la preservación de la carne. Sin embargo, en la actualidad se buscan otros métodos más efectivos como las tecnologías emergentes, las cuales son métodos de conservación que proporcionan más inocuidad y vida útil en los alimentos.

Como parte de las tecnologías de conservación de alimentos en los últimos años, se ha visto el interés por la adición de conservadores naturales como los aceites esenciales de plantas aromáticas, los cuales son usados en la industria alimentaria y se han realizado estudios para encontrar otras aplicaciones alimenticias para mejorar el sabor y aroma (CONAFOR, 2009; SEMARNAT, 2015). Sin embargo, tras la demanda del consumidor por reducir el uso de productos químicos en los alimentos, ha habido un uso de conservantes naturales, como las bacterias del ácido láctico, los polifenoles de la uva o incluso los extractos de plantas aromáticas (Rysman et al., 2016; Horita, Baptista, Caturra, & Lorenzo, 2018; Nachi et al., 2018; Aykin-Dinçer et al., 2021).

Estos extractos son conocidos como aceites esenciales (AE). Los AE son líquidos aceitosos aromáticos obtenidos a partir de material vegetal (flores, brotes, semillas, hojas, ramas, cortezas, hierbas, madera, frutos y raíces). Pueden obtenerse a través de fermentación, extracción, destilación con vapor e hidrodestilación asistida por calentamiento óhmico, siendo este último el método que presenta mayor rendimiento y conservación de la bioactividad de los aceites (Stratako y Koidis, 2016; Gavahian et al., 2017).

Es entonces fundamental realizar investigaciones con el objetivo de evaluar la vida de anaquel, análisis de perfil de textura, capacidad antioxidante, aceptabilidad del consumidor, calidad y efecto de la conservación adicionando AO.

### Objetivo

Evaluar la adición del aceite esencial de orégano en la conservación de carne de bovino.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Origen de la materia prima y materiales

La carne de bovino *Longissimus dorsi* se obtuvo de una tienda especializada en cortes de carne de bovino, ubicado en Monterrey, Nuevo León, México. El empaque, charolas desechables y bolsas de polietileno de alta densidad grado alimenticio se obtuvieron en un supermercado comercial ubicado en, N.L., México. El aceite esencial de orégano (AO) *Lippia berlandieri* Schauer se obtuvo de la empresa Natural Solutions S.M.I., Cd. Jiménez, Chihuahua, México. La composición del AEO es 65.20 % carvacrol, 10.99 % p-cimeno y 10.26 % timol principalmente.

### **Diseño Experimental y Preparación de la Muestra**

Un total de 11.2 kg de carne de bovino (CB; Longissimus dorsi) fueron distribuidos en tres tratamientos y un control (1.4 kg/tratamiento y/o control) divididos en dos réplicas cada uno, preparados para el periodo de evaluación a 24 h (0.7 kg/réplica/periodo/tratamiento). Los tratamientos evaluados fueron CBE: carne de bovino en empaque sin aceite de orégano; CBV: carne de bovino al vacío sin aceite de orégano; CBEAO: carne de bovino en empaque con 100 ppm de aceite de orégano; CBVAO: carne de bovino al vacío con 100 ppm de aceite de orégano. El longissimus se seccionó entre la costilla 6 y 12 en cortes de aproximadamente 2 cm de grosor, retirando el hueso y grasa excesiva, distribuyendo  $1\pm 0.25$  cortes para cada réplica por tratamiento, de los cuales se dividieron en 2 análisis ( $350\pm 05$  g por análisis) (1. Análisis Físicoquímicos: pH, CRA y Color; 2. Análisis Microbiológicos). Las dosis de 100 mg/kg (ppm) se establecieron con base a la Norma General para Aditivos Alimentarios CODEX STAN192-2019 (revisión 2019; punto 08.3, productos cárnicos, de aves de corral y caza picados procesados, considerando las notas 15, 130, 162, XS88, XS89 y XS98) sobre BHT utilizado en alimentos. En el caso de los tratamientos del AO, este fue aplicado por aspersión directamente en la carne y empacado conforme al tratamiento correspondiente. Todos los tratamientos, incluyendo el control, se almacenaron a una temperatura de 4 °C. El sistema de empaquetado se realizó por medio de charola desechable y empaque de polietileno grado alimenticio. El tratamiento CBE y CBEAO se empacó con empaque de polietileno; los tratamientos CBV y CBVAO se empacaron dentro de una bolsa de polietileno de alta densidad para después aplicar vacío.

### **Pruebas fisicoquímicas**

El pH de las muestras se midió por triplicado utilizando un electrodo de punción (HI 84532, Hanna Instruments Woonsocket, RI). El electrodo fue introducido directamente en la carne a una temperatura de 4 °C. La capacidad de retención de agua (CRA) se determinó mediante el método de compresión de López-Puga et al. (2021); el resultado se expresó como porcentaje de líquido expulsado. El color de las muestras se midió por triplicado utilizando un colorímetro (CR-400 Konica Minolta, Tokyo, Japan; Illuminant/Observer: D65/10) con base al sistema CIELab (Luminosidad, L\*; enrojecimiento, a\*; amarillez, b\*). Por cada corte, se realizaron medidas en diferentes áreas de la muestra

### **Análisis microbiológico**

La calidad microbiana de la carne se determinó por triplicado. 10 g de carne con 90 mL de solución estéril de peptona al 0.1% (NaCl al 0,85%, Peptona al 0.1%) se homogeneizaron asépticamente en una bolsa utilizando un mezclador Stomacher (Seward Lab., London, UK). Para cada muestra, diluciones seriadas (1-100, 1-10000) apropiadas se prepararon con solución de peptona y se tomaron muestras de 1 o 0.1 mL de las diluciones, vertido o esparcido en placas de agar selectivo y recuento total. Los análisis de mesófilos fueron realizados en agar cuenta estándar (peptona de caseína: 5.0 g, dextrosa: 1.0 g, extracto de levadura: 2.5 g, agar bacteriológico: 15.0 g). Después, las placas se incubaron por 24 h a 37 °C para mesófilos. El conteo de las bacterias ácido lácticas (BAL) se realizaron en el medio MRS, incubando las placas a 37 °C por 24 h. El medio papa dextrosa agar (infusión de papa a partir de 200 g: 4 g, dextrosa: 20 g, agar: 15 g) se utilizó para el conteo de hongos y levaduras (HyL). Los datos microbiológicos se expresaron como logaritmos del número de unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (log UFC / g) (Sirocchi et al., 2017).

### Análisis estadístico de los datos

El diseño de los datos fue mediante un diseño de bloques completamente al azar, considerando en el modelo estadístico  $y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$ , donde  $T_i$  fue el efecto de los tratamientos,  $\beta$  el bloque (cada réplica experimental). También se consideró el error experimental o aleatorio ( $\epsilon_{ij}$ ) con media y varianza ( $N \sim \mu, \sigma^2$ ). Cuando el valor de probabilidad fue menor a 0.05 ( $P < 0.05$ ) en los efectos fijos, la  $H_0$  se rechazó y la comparación de medias con la prueba Tukey fue ejecutada. El Software estadístico Minitab® (versión 17.3.0, 2014) fue usado para analizar los datos y la comparación de las medias.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El comportamiento del pH y la capacidad de retención de agua (CRA) de la carne de bovino (CB) experimentada con aceite esencial de orégano (AO) son mostrados en el Cuadro I y Figura 1. El efecto fijo  $T_i$  afectó significativamente ( $P < 0.05$ ) para pH y no en CRA ( $P > 0.05$ ). El pH disminuyó ( $P < 0.05$ ) en el tratamiento adicionado con el aceite esencial de orégano (CBEAO) pero aumentó 0.03 de pH en el tratamiento CBVAO con respecto al CBV; sin embargo, la CB en emplee sin AO (CBE) obtuvo el mayor pH.

Los parámetros de pH y color son variables evaluadas en carne cruda como predictores de calidad y características fisicoquímicas (Warriss, 2000). Los valores de pH (Cuadro I) fueron similares a los reportados por Cantú-Valdéz et al. (2020), quienes evaluaron los efectos de dos variedades de AO (*Poliomintha longiflora* Gray y *Lippia berlandieri* Schauer) en carne molida de bovino, pero diferentes a los reportados por Yin et al. (2016), quienes evaluaron los efectos de los extractos de romero (53, 33 y 55 g / kg) en carne de cerdo molida cruda, y encontraron que el pH de la muestra disminuyó de manera constante hasta los 10 d, lo que contrasta con el estudio actual en el que el pH aumentó ligeramente para el tratamiento CBVAO. Corral et al. (2013) indicaron que la disminución del pH de la carne en el tratamiento CBEAO podría deberse a que las BAL sintetizan el ácido láctico. Por lo tanto, el comportamiento del pH en el estudio actual puede indicar una posible inactivación de las BAL debido a los efectos de los componentes fenólicos del AO sobre su membrana celular.

Cuadro I. Evaluación de pH y CRA de la carne de bovino tratada con aceite de orégano a 4 °C.

Tratamientos <sup>1</sup>	pH	CRA <sup>2</sup>
CBE	5.64 <sup>a</sup>	65.82 <sup>a</sup>
CBV	5.51 <sup>ab</sup>	65.65 <sup>a</sup>
CBEAO	5.46 <sup>b</sup>	66.79 <sup>a</sup>
CBVAO	5.54 <sup>ab</sup>	69.23 <sup>a</sup>
EEM	0.03	1.00
P-value		
Tratamiento ( $T_i$ )	0.000	0.180



<sup>1</sup> CBE: carne de bovino en empleaje sin aceite de orégano; CBV: carne de bovino al vacío sin aceite de orégano; CBEAO: carne de bovino en empleaje con 100 ppm de aceite de orégano; CBVAO: carne de bovino al vacío con 100 ppm de aceite de orégano. EEM: error estándar de la media.

<sup>2</sup> CRA: capacidad de retención de agua.

<sup>a-b</sup> Medias en columna con diferentes superíndices indican diferencia estadística entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ).

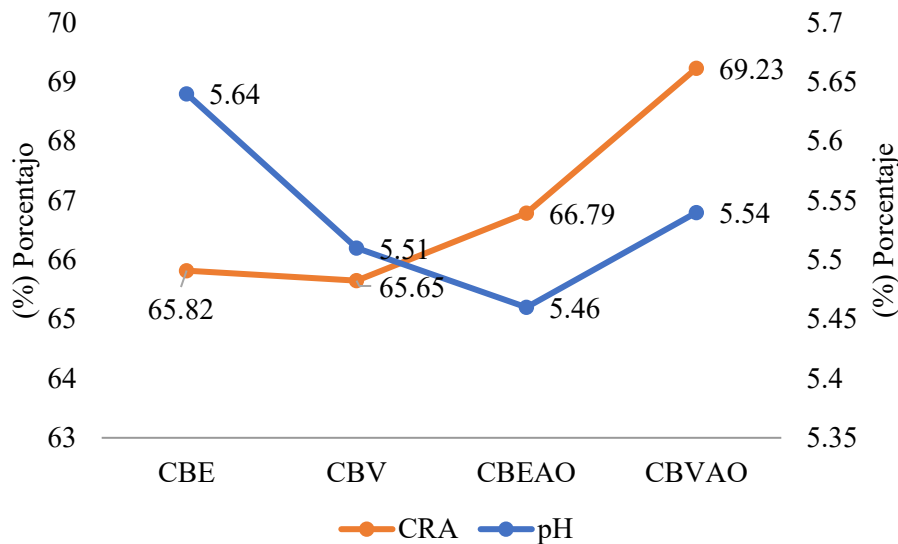


Figura 1. Fluctuación de CRA y pH.

Por su parte, la CRA es influenciada por el tipo de músculo, las condiciones pre y post rigor, pH y tipo de proteína (Fletcher, 2002). Por lo tanto, en cuanto a los datos obtenidos en CRA de los diferentes tratamientos, se observó que, a menores valores de pH, la CRA disminuyó en los tratamientos sin el AO (CBE y CBV) y aumentó en aquellos tratamientos adicionados en el AO (CBEAO y CBVAO); estos últimos podría deberse a que están sin presencia de oxígeno, generado por el empaque al vacío y modificando su atmósfera.

### Variables de color

Las variables de color en la CB con AO son mostradas en el Cuadro II y Fig. 2. El efecto fijo Ti afectó ( $P < 0.05$ ) todas las variables. El tratamiento con mayor  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Chroma y Hue fue el CBEAO; por lo contrario, el tratamiento que se mantuvo con el valor más bajo en las variables fue CBVAO. Los valores obtenidos de CBEAO puede deberse a la adición del AO almacenado en refrigeración a  $4^{\circ}\text{C}$ , ya que el *carvacrol* y *timol* podrían evitar la oxidación de la mioglobina, controlada por esos antioxidantes naturales para reducir la tasa de degradación del color de la mioglobina (Balentine et al., 2006). Varias investigaciones informaron que la susceptibilidad de la mioglobina a la oxidación es el principal factor en la explicación de la estabilidad del color en la carne y productos cárnicos (Fernández et al., 2005). Entonces, los pigmentos y oxidación de lípidos en la carne y productos cárnicos están relacionados entre sí.

Los valores de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Chroma y Hue (Cuadro II) fueron similares a los reportados por Cantú-Valdéz et al. (2020), donde reportaron que los tratamientos de carne molida adicionada con AO Mexicano (*Poliomintha longiflora* Gray y *Lippia berlandieri* Schauer) fueron los que obtuvieron

mayores valores en L\*, b\*, Hue y menores en Chroma y a\*. Así mismo, Ismail et al. (2008) obtuvieron resultados similares al utilizar antioxidantes naturales (ácido ascórbico al 0.05%,  $\alpha$ -tocoferol al 0.01% y sesamol al 0.01%) en carne molida irradiada.

Cuadro II. Variables de color en la carne de bovino evaluada con aceite de orégano.

Tratamientos <sup>1</sup>	L*	a*	b	Chroma	Hue
CBE	40.37 <sup>b</sup>	23.92 <sup>ab</sup>	9.44 <sup>ab</sup>	25.66 <sup>ab</sup>	21.55 <sup>ab</sup>
CBV	41.60 <sup>ab</sup>	23.24 <sup>b</sup>	8.30 <sup>b</sup>	24.74 <sup>ab</sup>	19.15 <sup>b</sup>
CBEAO	43.61 <sup>a</sup>	26.52 <sup>a</sup>	11.93 <sup>a</sup>	29.10 <sup>a</sup>	24.03 <sup>a</sup>
CBVAO	38.76 <sup>b</sup>	21.88 <sup>b</sup>	7.19 <sup>b</sup>	23.09 <sup>b</sup>	17.93 <sup>b</sup>
EEM	0.65	0.78	0.62	0.94	0.83
P-value					
Tratamiento (T <sub>i</sub> )	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

<sup>1</sup> CBE: carne de bovino en empleaje sin aceite de orégano; CBV: carne de bovino al vacío sin aceite de orégano; CBEAO: carne de bovino en empleaje con 100 ppm de aceite de orégano; CBVAO: carne de bovino al vacío con 100 ppm de aceite de orégano. EEM: error estándar de la media. L\*: Luminosidad, a\*: tendencia al color rojo, b: tendencia al color amarillo, Chroma: croma o saturación, Hue: ángulo de matiz (tonalidad).

<sup>a-b</sup> Medias en columna con diferentes superíndices indican diferencia estadística entre los tratamientos (P < 0.05).

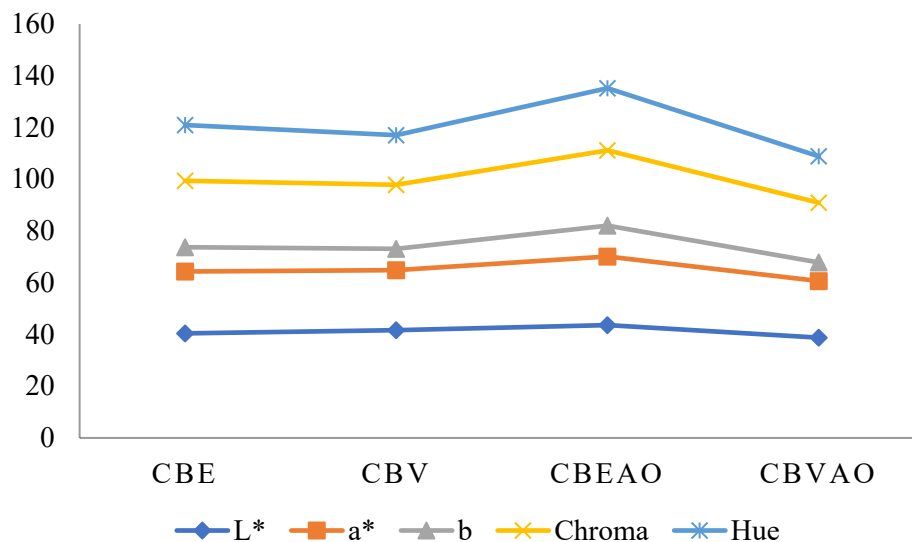


Figura 2. Variables de color a través del tiempo.

Estos resultados son mejores sobre los obtenidos con el extracto de romero (3000 ppm) examinados por Balentine et al. (2006) y extracto de semilla de uva (0 y 250 mg GSE / kg de producto) estudiado por Gómez et al. (2017) en carne molida. Según los datos obtenidos en las variables de color, la

adición del AO en la carne cruda de bovino almacenada a 4 °C mantiene el color durante el almacenamiento; esto debido a los diferentes compuestos con acción antioxidante que tiene el AO (*carvacrol* y *timol*), como también a la ausencia de aire generado por el empaque tratado al vacío; por lo tanto, el AO puede mejorar la preservación de las propiedades fisicoquímicas de la CB.

### Microbiología

El efecto fijo (Ti) no afectó los microorganismos (Cuadro III; Fig.3). Todos los microorganismos evaluados se incrementaron a las 24 h, el tratamiento con mayor presencia de mesófilos fue el CBEAO, para hongos y levaduras fue CBV seguido del CBVAO, y para las BAL fueron CBEAO y CBVAO, los cuales tuvieron el AO. De acuerdo con Castillo et al. (2017), las carnes son fácilmente alterables, sobre todo si están procesadas, ya que tienen un pH entre 5.1 y 5.6 adecuado para el desarrollo de la mayoría de los microorganismos, y un valor de actividad agua mayor que 0.85.

Los resultados de Herrera-Balandrano et al. (2020) fueron similares para los microorganismos evaluados en pechugas de pollo tratadas con AO, en el cual el efecto de (Ti) fue significativo ( $P < 0.05$ ) sobre mesófilos, hongos y levaduras. En el estudio de Herrera-Balandrano et al. (2020) encontraron que los valores más bajos de UFC de mesófilos se presentaron cuando se adicionó el AO, mientras que en el presente estudio el CBEAO tuvo presencia. En hongos y levaduras, los tratamientos con AO obtuvieron menores valores (2 UFC/mL muestra); comparando los conteos realizados por Chouliara et al. (2007) de BAL, *Enterobacteriaceae* y levadura a los 25 d en carne de pechuga de pollo, que incrementaron con 1% de AO.

Cuadro III. Mesófilos, bacterias ácido lácticas, hongos y levaduras en la carne de bovino.

Tratamientos <sup>1</sup>	Conteo microbiológico (UFC) <sup>2</sup>		
	Mesófilos	Bacterias ácido lácticas	Hongos y Levaduras
CBE	0.00 <sup>a</sup>	0.00 <sup>a</sup>	0.31 <sup>a</sup>
CBV	0.00 <sup>a</sup>	0.00 <sup>a</sup>	0.67 <sup>a</sup>
CBEAO	0.31 <sup>a</sup>	0.25 <sup>a</sup>	0.21 <sup>a</sup>
CBVAO	0.00 <sup>a</sup>	0.07 <sup>a</sup>	0.36 <sup>a</sup>
EEM	0.01	0.01	0.04
P-value			
Tratamiento (Ti)	0.147	0.390	0.233

<sup>1</sup> CBE: carne de bovino en empleaje sin aceite de orégano; CBV: carne de bovino al vacío sin aceite de orégano; CBEAO: carne de bovino en empleaje con 100 ppm de aceite de orégano; CBVAO: carne de bovino al vacío con 100 ppm de aceite de orégano. EEM: error estándar de la media.

<sup>a-b</sup> Medias en columna con diferentes superíndices indican diferencia estadística entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> UFC: unidades formadoras de colonias.

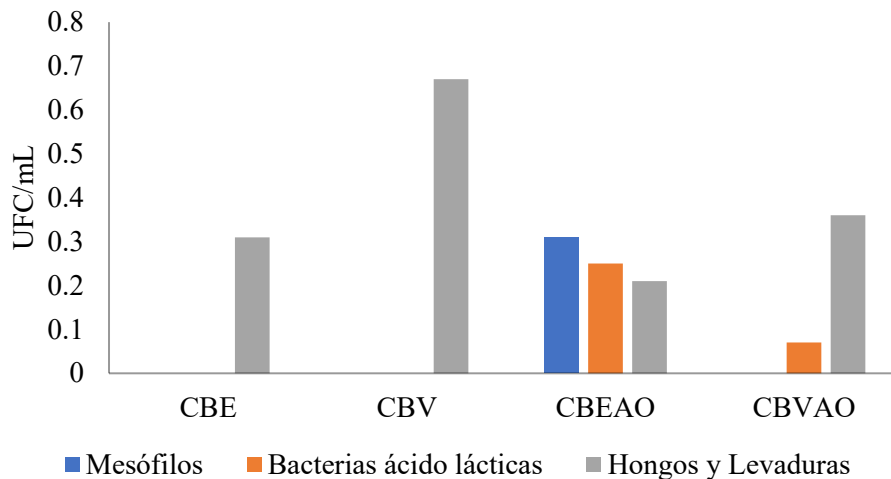


Figura 3. Comparación de UFC/ml de muestra.

Estos resultados sugieren que el AO promueve las BAL como también hongos y levaduras. En este caso, el potencial de hidrógeno del AO podría contribuir con el control de las bacterias (conservador natural) y mejora el desarrollo de las BAL a los 15 días (Zhang et al., 2016). Las BAL son los más resistentes de las gram positivas contra la acción antimicrobiana de los aceites esenciales por su habilidad ante el estrés osmótico, respuesta efectiva al eflujo de K<sup>+</sup> y su capacidad para generar ATP (Zhang et al., 2016).

## CONCLUSIÓN

La carne de bovino tratada con el aceite esencial *Lippia berlandieri* Schauer (100 mg / kg) mantuvo el pH a las 24 h de evaluación, y aumentó la retención de agua en aquellos tratamientos con aceite de orégano (AO). También, el AO mejoró el color de carne. El AO aumentó las bacterias ácido lácticas, y mesófilos. Con estos resultados puede indicarse que el aceite de orégano mantuvo las propiedades fisicoquímicas (CRA, pH y Color) y disminuyó la proliferación de Hongos y Levaduras en la carne, lo que ofrece una opción potencial para que la industria alimentaria utilice ingredientes naturales en lugar de compuestos sintéticos para preservar la calidad de la carne de bovino y mantener la aceptación del consumidor. El aceite esencial de orégano mexicano puede prolongar la vida útil de los productos cárnicos envasados y tratados con este aditivo natural.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aykin-Dinçer, G., Çaglar, K. K., & Erbas, E. (2021). The use of beetroot extract and extract powder in saussages as natural food colorant. *International Journal of Food Engineering*, 17(1), 75–82.
- Balentine, C., Crandall, P., O'Bryan, C., Duong, D., & Pohlman, F. (2006). The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, 73(3), 413–421. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.12.003>
- Cantú-Valdéz, J. A., Gutiérrez-Soto, G., Hernández-Martínez, C. A., Sinagawa-García, S. R., Quintero-Ramos, A., Hume, M. E., Herrera-Balandrano, D. D., & Méndez-Zamora, G. (2020).

- Mexican oregano essential oils as alternatives to butylated hydroxytoluene to improve the shelf life of ground beef. *Food Science & Nutrition*, 8(8), 4555-4564. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1767>.
- Castillo, M. P., Amadio, C. M., Farrando, S., Camargo, A., & Rodriguez, G. (2017). Efecto combinado del aceite esencial de orégano y extracto de ajo, en la conservación de hamburguesas de carne vacuna refrigerada. *Biblioteca Digital / UNCUYO*. Recuperado 15 de octubre de 2021, de <https://bdigital.uncu.edu.ar/8750>
- Chouliara, E., Badeka, A., Savvaidis, I., & Kontominas, M. G. (2007). Combined effect of irradiation and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of chicken breast meat: microbiological, chemical and sensory changes. *European Food Research and Technology*, 226(4), 877–888. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0610-3>
- CIE (1978). International commission on illumination, recommendations on uniform color spaces, color difference equations, psychometric color terms. Supplement No. 15 to CIE Publication No. 15 (E-1.3.1) 1971/(TO-1.3). Paris, France: Bureau Centra de la CIE.
- CONAFOR, 2009. Paquete tecnológico para la producción de orégano (*Lippia spp.*). EXTRAIDO EL 1 DE DICIEMBRE DEL 2020 DE <https://www.conafor.gob.mx/biblioteca/OREGANO.pdf>
- Corral, S., Salvador, A., & Flores, M. (2013). Salt reduction in slow fermented sausages affects the generation of aroma active compounds. *Meat Science*, 93, 776–785. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.040>
- Fernández-López, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Pérez-Alvarez, J., & Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science*, 69(3), 371–380. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.08.004>
- Fletcher, D. L. Poultry meat quality. *World's Poultry Science Journal*, 58(2): 131-145, 2002.
- Gavahian, M.; Farhoosh, R.; Javidnia, K.; Shahidi, F.; Golmakani, M. T. y Farahnaky, A. (2017). Effects of electrolyte concentration and ultrasound pretreatment on ohmicassisted hydrodistillation of essential oils from *Mentha piperita* L. *International Journal of Food Engineering*, 13, 10 - 12.
- Gómez, I., Berlain, M. J., Mendizabal, J. A., Realini, C., & Purroy, A. (2017). Vida de anaquel de carne molida enriquecida con ácidos grasos esenciales. *CARNILAC Industrial*, 7(2), 12–35. [https://issuu.com/alfaeditorestecnicos/docs/carnilac\\_industrial\\_abril-mayo\\_2017](https://issuu.com/alfaeditorestecnicos/docs/carnilac_industrial_abril-mayo_2017)
- Herrera-Balandrano, D. D., Martínez-Rojas, D., Luna-Maldonado, A. I., Gutiérrez- Soto, G., Hernández-Martínez, C. A., Silva-Vázquez, R., Flores-Girón, E., Quintero- Ramos, A., & Méndez-Zamora, G. (2020). Conservación de pechugas de pollo con aceite esencial de orégano mexicano//Conservation of chicken breasts with mexican oregano essential. *Biotecnia*, 22(2), 119–127. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i2.1253>
- Horita, C. N., Baptista, R. C., Caturla, M. Y. R., & Lorenzo, J. M. (2018). Combining reformulation, active packaging and non-thermal post-packaging decontamination technologies to increase the microbiological quality and safety of cooked ready-toeat meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 72, 45–61.
- Ismail, H., Lee, E., Ko, K., & Ahn, D. (2008a). Effects of aging time and natural antioxidants on the color, lipid oxidation and volatiles of irradiated ground beef. *Meat Science*, 80(3), 582–591. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.02.007>
- Liu, T., & Liu, L. (2020). Fabrication and characterization of chitosan nanoemulsions loading thymol or thyme essential oil for the preservation of referigerated pork. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 1509–1515.
- López-Puga J.C., Rico-Costilla D.S., Sobrevilla-Hernández G., Moreno-Degollado G., Kawas J.R., Méndez-Zamora G. 2021. Effects of copper levels on goat carcass traits and meat quality. *Small Ruminant Research* 203: 106491.

- Nachi, I., Fhoula, I., Smida, I., Ben Taher, I., Chouaibi, M., Janbergs, J., Hassouna, M. (2018). Assesment of lactic acid bacteria application for the reduction of acrylamide formation in bread. *LWT- Food Science and Technology*, 92, 4354-41.
- Pateiro, M., Barba, F. J., Dominguez, R., Santana, A. S., Khaneghah, A., Gavahian, M. Lorenzo, J. (2018). Essential oil additives as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 113, 156–166.
- Rysman, T., Van Hecke, T., De Set, S., & Van Royen, G. (2016). Ascorbate and Apple phenolics affect protein oxidation in emulsion type sausages during storage and in vitro digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(20), 4131–4138.
- SEMARNAT. 2015. Catálogo de recursos forestales maderables y no maderables Árido, Tropical y Templado. Extraído el 30 de Noviembre del 2020 de <http://www.conafor.gob.mx/biblioteca/Catalogo de recursos forestales M y N.pdf>. Consultado el 04 Marzo 2015.
- Sirocchi, V., Devlieghere, F., Peelman, N., Sagratini, G., Maggi, F., Vittori, S., & Ragaert, P. (2017). Effect of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil combined with different packaging conditions to extend the shelf life of refrigerated beef meat. *Food Chemistry*, 221, 1069-1076. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.054>
- Stratko, A. y Koidis, A. (2016). Methods for extracting essential oils. In V. R. Preedy M. Pateiro et. al. *Food Research International*, 113, 156 - 166 165
- Warriss, P. D. (2000). *Meat science: An introductory text* (p.310), New York, NY: CAB International.
- Yin, Y. , Xing, L., Zhou, G. , & Zhang, W. (2016). Antioxidative and Antibacterial Activities of Rosemary Extract in Raw Ground Pork Patties. *Journal of Food and Nutrition Research*, 4(12), 806-813.
- Zhang, H., Wu, J., & Guo, X. (2016, 1 marzo). Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality. *ScienceDirect*. Recuperado 7 de noviembre de 2021, de <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213453015000580>

## Efecto de hidrolato de *Cosmos bipinnatus* sobre características de textura, color y actividad de agua de chorizo de conejo.

F.S. García Gutiérrez<sup>1</sup>, S. Soto Simental<sup>1</sup>, R.González Tenorio<sup>1</sup>, M. Ayala Martínez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Avenida Universidad Km. 1 S/N Exhacienda Aquetzalpa, 43600, Tulancingo de Bravo, Hidalgo.

### RESUMEN

El empleo de hidrolatos en la industria alimentaria aun es baja, sin embargo, tienen propiedades antioxidantes y antimicrobianas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del hidrolato de *Cosmos bipinnatus* incluido en la formulación de chorizo de conejo sobre la textura, color y actividad de agua con el propósito de proponerlo como aditivo natural en chorizo y productos cárnicos. Se prepararon dos lotes de chorizo, con dos tratamientos, un control y otro con la adición de hidrolato de flor de *C. bipinnatus*. Se determinó color, análisis de perfil de textura y actividad de agua. Los resultados indican que no existen diferencias ( $p>0.05$ ) en cuanto a textura y color, excepto para el valor  $a^*$  interno y para actividad de agua ( $p<0.05$ ). Se concluye que este hidrolato podría ser empleado en la fabricación de chorizo u otros productos cárnicos sin deterioro de la textura o del color, y una disminución de la actividad de agua podría ser importante desde el punto de vista de crecimiento de microorganismos.

**Palabras clave:** Flor de *Cosmos bipinnatus*, chorizo, carne de conejo.

### ABSTRACT

The use of hydrolates or hydrosols in the food industry is still low, however, they have antioxidant and antimicrobial properties. The objective of this work was to evaluate the effect of *Cosmos bipinnatus* hydrolate included in the formulation of rabbit chorizo on texture, color and water activity with the purpose of proposing it as a natural additive in chorizo and meat products. Two batches of chorizo were prepared, with two treatments, one control and the other with the addition of *C. bipinnatus* flower hydrolate. Color, texture profile analysis and water activity were determined. The results indicate that there are no differences ( $p>0.05$ ) in texture and color, except for the internal  $a^*$  value and for water activity ( $p<0.05$ ). It is concluded that this hydrolate could be used in the manufacture of chorizo or other meat products without deterioration of texture or color, and a decrease in water activity could be important from the point of view of microorganism growth.

**Key words:** *Cosmos bipinnatus* flowers, chorizo, rabbit meat.

## INTRODUCCIÓN

El chorizo en México es un embutido que se prepara con una mezcla de carne de diversas especies animal, grasa y especias, que generalmente que no se da una maduración intencional (González-Tenorio *et al.*, 2013). Se sabe que la preparación de chorizo lo realizan desde pequeños productores de manera artesanal, hasta grandes empresas (González-Tenorio *et al.*, 2012). La carne de conejo se considera una carne magra que tiene un perfil nutricional diferente a otras carnes, que se caracteriza por su fácil digestión, bajas concentraciones de grasa, colesterol y sodio (Para y col., 2015), además la carne de conejo se ha estudiado en sus características fisicoquímicas como pH, capacidad de retención de agua, color y textura (Chodová & Tumová, 2013; Dalle Zotte *et al.*, 2016).

Los hidrolatos o hidrosoles son poco empleados y estudiados en la elaboración de productos alimenticios y son comúnmente empleados en la industria farmacéutica y de la belleza (Jakubczyk *et al.*, 2021). Sin embargo, tienen propiedades que podrían ser importantes en la industria alimentaria, ya que está compuesta por una suspensión coloidal compuesta de dos fases, una continua que contiene agua, y una dispersa que contiene pequeñas gotas de aceite esencial y compuestos solubles en agua (Tabares *et al.*, 2022).

*Cosmos bipinnatus* es también conocida como mirasol, girasol morado, mirasol xococtole, la cual es una planta anual, que ha sido empleado en la medicina tradicional, y se ha estudiado su capacidad antioxidante y efectos antígenotóxicos (Jang *et al.*, 2008). De acuerdo a Saleem *et al.* (2017) esta planta contiene quercetina, ácido gálico, ácido cafeico y ácido clorogénico. En lo que se ha buscado, los hidrolatos de esta planta no se han utilizado en carne o productos cárnicos. Por lo anteriormente mencionado, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del hidrolato de *Cosmos bipinnatus* incluido en la formulación de chorizo de conejo sobre la textura, color y actividad de agua con el propósito de proponerlo como aditivo natural en chorizo y productos cárnicos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención del hidrolato de *Cosmos bipinnatus*

Se colocaron 200 g de flor de *C. bipinnatus* y 4 L de agua en un hidroddestilador marca Niangge (Dongguan Niangge Machinery Equipment Co, Beijing, China) adaptado con un matraz de separación, con la finalidad de separar el hidrolato y el aceite esencial. El equipo operó por 4 h a 90°C y se obtuvieron 2 L de hidrolato.

### Proceso de elaboración del chorizo de carne de conejo

Primero se realizó el deshuesado de la carne de conejo, para posteriormente ser molida en un molino JR-MJ22 (Torrey, Monterrey, NL, México). Por separado se preparó la mezcla de ingredientes para el chorizo. Posteriormente, se mezclaron los ingredientes y la carne hasta alcanzar una masa cárnica homogénea. Se embutió en funda natural de 30 mm de diámetro en el mismo molino mencionado anteriormente. Una vez embutido se procedió a colocarle bajo condiciones de refrigeración 4 °C por 48 h con la finalidad de obtener un desecado.

### Diseño del experimento



Se elaboraron dos tratamientos con chorizo (Tabla 1), el primero fue el control, elaborado con una fórmula de chorizo regional. El otro chorizo se utilizó la misma formulación, pero se le añadió el hidrolato de *C. bipinnatus* (100 g.kg<sup>-1</sup> de masa cárnica). Lo anterior se realizó en dos lotes diferentes.

Tabla 1. Tratamientos utilizados en la evaluación del hidrolato de flor de *Cosmos bipinnatus*.

Ingrediente	Tratamiento	
	C	HCb
Carne de conejo, g	1000	1000
Hidrolato de <i>C. bipinnatus</i> , g	0	100
Agua, g	100	0
Ajo, g	3	3
Cebolla, g	2	2
Chile guajillo, g	15	15
Orégano, g	1	1

<sup>1</sup>C= Tratamiento control, HCb= tratamiento con adición de hidrolato de flor de *Cosmos bipinnatus*.

#### Determinación del análisis de perfil de textura

Se prepararon muestras de chorizo de 1.5 cm de largo, se realizaron 10 repeticiones del análisis. Para la determinación del análisis de perfil de textura se utilizó un texturómetro TA-XT Plus (Texture analyser, London, UK), el cual fue configurado para comprimir al 30% las muestras, se empleó una velocidad en la prueba de 1 mm.s<sup>-1</sup>, se adaptó una sonda de aluminio de 36 mm de diámetro. Las muestras fueron comprimidas dos veces, con ello se obtuvo una gráfica fuerza vs tiempo con un software Exponent (Texture analyser, London, UK), para con ello obtener los parámetros de dureza, resiliencia, cohesividad, elasticidad, gomosidad y masticabilidad de acuerdo a lo planteado por Bourne (1978).

#### Determinación de color

Para medir el color se empleó un colorímetro Minolta CM-508d (Minolta, Tokio, Japan). El equipo se configuró en términos del espacio de color CIELab, un iluminante D65 y 10° en el observador como lo indican las guías para medir el color de la Asociación Americana de Ciencia de la Carne (AMSA, 2012). A partir de los valores de L\* (Luminosidad), a\* (coordenadas de rojo-verde) y b\* (coordenadas amarillo-azul), se calcularon chroma (croma o saturación) y Hue (ángulo de matiz). De cada tratamiento se tomaron 5 medidas internas y 5 externas de color del chorizo.

#### Determinación de actividad de agua (Aw)

Se tomarán 3 muestras por tratamiento y repetición, las cuales se cortaron para colocarlas en los platos muestras de plástico, para proceder a introducir la muestra en el medidor de actividad de agua HygroPalm HP23-AW (Rotronic Instrument Corp, NY, USA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto del hidrolato de *Cosmos bipinnatus* sobre la textura del chorizo

La textura es importante en la carne y productos cárnicos, en el chorizo mexicano no es la excepción. Los resultados del análisis de perfil de textura practicado a los chorizos adicionados con un hidrolato de *C. bipinnatus* se puede apreciar en la Tabla 2, en donde se puede apreciar que no existen diferencias significativas ( $p>0.05$ ) entre los tratamientos. Lo cual puede ser importante, ya que no se ve alterado ningún parámetro de textura, es por ello que se podría buscar otros efectos como capacidad antioxidante o antimicrobiana, sabiendo que no se altera la textura, también seria importante continuar un análisis sensorial con la finalidad de detectar principalmente algún sabor u olor diferente al control. Ya que se ha reportado que extractos acuosos y metanólicos tienen efecto antioxidante (Saleem *et al.* 2017).

Tabla 2. Promedio del análisis de perfil de textura en chorizo de conejo adicionado con hidrolato de flor de *Cosmos bipinnatus*.

Variable	Tratamiento	
	C	HCb
Dureza, g	116.98 ± 53.02	143.54 ± 74.08
Adhesividad, g.s <sup>-1</sup>	8.71 ± 18.47	8.08 ± 13.65
Resiliencia, %	43.64 ± 17.41	37.83 ± 19.85
Cohesividad, %	53.87 ± 7.69	55.49 ± 6.75
Elasticidad, %	4411.65 ± 4340.75	3997.95 ± 5354.79
Gomosidad	4583.34 ± 2635.96	6799.43 ± 5172.18
Masticabilidad	4193.11 ± 1462.13	5233.19 ± 3804.86

<sup>1</sup>C= Tratamiento control, HCb= tratamiento con adición de hidrolato de flor de *Cosmos bipinnatus*.

<sup>ab</sup>Literales diferentes entre columnas indican diferencias significativas ( $p<0.05$ ).

### Efecto del hidrolato de *Cosmos bipinnatus* en el color y actividad de agua del chorizo

El color es el atributo mas importante para hacer la compra de la carne y de los productos cárnicos. Los resultados de color tanto externo como interno se pueden ver en la Tabla 3, en donde se puede apreciar que no existen diferencias significativas ( $p>0.05$ ) entre los tratamientos, excepto para el valor de a\* interno, donde el tratamiento con hidrolato de *C. bipinnatus* tuvo un valor menor ( $p<0.05$ ) que el tratamiento control. Lo anterior hace que disminuya los valores de rojos con el hidrolato, puede ser que el hidrolato interactúe con alguno de los ingredientes del chorizo como lo podría ser el chile guajillo, el cual esta relacionado con los colores rojos en el chorizo. Sin embargo, poco se sabe de la interacción de los hidrolatos con otros componentes. Como se mencionó anteriormente, los hidrolatos tienen propiedades antimicrobianas y antioxidantes que dependen de la especie, su origen, parte de la planta y el método de obtención (Jakubczyk *et al.*, 2021).

Tabla 3. Promedio de color y actividad de agua de chorizo elaborado con hidrolato de flor de *Cosmos bipinnatus*.

Variable	Tratamiento	
	C	HCb

Externo		
L*	45.41 ± 4.89	44.94 ± 4.74
a*	9.11 ± 2.26	9.43 ± 2.59
b*	17.28 ± 3.53	18.41 ± 5.55
c	19.76 ± 2.85	20.93 ± 5.10
h	1.08 ± 0.15	1.08 ± 0.16
Interno		
L*	50.43 ± 5.49	47.86 ± 6.66
a*	13.92 ± 2.78 <sup>a</sup>	11.28 ± 1.09 <sup>b</sup>
b*	24.87 ± 4.82	24.20 ± 5.69
c	28.63 ± 4.76	26.82 ± 5.15
h	1.05 ± 0.11	1.12 ± 0.10
Aw	0.944 ± 0.017 <sup>a</sup>	0.897 ± 0.056 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>C= Tratamiento control, HCb= tratamiento con adición de hidrolato de flor de *Cosmos bipinnatus*.

<sup>ab</sup>Literales diferentes entre columnas indican diferencias significativas (p<0.05).

La actividad de agua se vio afectada por el empleo de hidrolato de flor de *C. bipinnatus*, ya que se obtuvieron valores menores (p<0.05). Se sabe que existe un efecto sinérgico entre la Aw y el pH, Jakubczyk et al. (2021) reportaron que el pH de los hidrolatos fluctúa entre 3.3 y 4.3.

## CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, el hidrolato obtenido de flores de *Cosmos bipinnatus* podría ser empleado en la elaboración de chorizo, ya que la textura y el color no se modifica, sin embargo, se requiere hacer más estudios que permitan saber la capacidad antioxidante y antimicrobiana que tiene este hidrolato. Ya que, la disminución de la actividad de agua podría ser importante desde el punto de vista de crecimiento de microorganismos.

## BIBLIOGRAFÍA

- AMSA. (2012)- Meat color measurement guidelines. American Meat Science Association. Champaign. Il. USA.
- Bourne, M.C., (1978). Texture profile analysis. Food Technol 35: 62-66.
- Chodová, D. & Tumová, E. (2013). The effect of feed restriction on meat quality of broiler rabbits: A review. Scientia Agriculturae Bohemica. 44(1):55-62.
- Dalle Zotte, A., C. Celia, & Szendro, Z. (2016). Herbs and spices inclusion as feedstuff or additive in growing rabbit diets and as additive in rabbit meat: A review. Livestock Science. 189:82-90.

- González-Tenorio, R., A. Totosaus, I. Caro, & J. Mateo. (2013). Caracterización de propiedades químicas y fisicoquímicas de chorizos comercializados en la zona centro de México. *Inf. Tecnol.* 24(2):3-14. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642013000200002>
- González-Tenorio, R., I. Caro-Canales, S. Soto-Simental, B.R. Rodríguez-Pastrana, & Mateo, J. (2012). Características microbiológicas de cuatro tipos de chorizo comercializados en el Estado de Hidalgo, México. *Nacameh.* 6(2):25-32.
- Jakubczyk, K., Tuchowska, A., & Janda-Milczarek, K. (2021). Plant hydrolates – Antioxidant properties, chemical composition and potential applications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 142, 112033. doi:10.1016/j.biopha.2021.112033.
- Jang, IC., Park, JH., Park, E. & Lee, S.C. (2008). Antioxidative and Antigenotoxic Activity of Extracts from Cosmos (*Cosmos bipinnatus*) Flowers. *Plant Foods Hum Nutr* 63, 205–210 (2008). <https://doi.org/10.1007/s11130-008-0086-8>
- Para, P.A., Ganguly, S, Wakchaure, R, Sharma, R, Mahajan, T, & Praveen, P.K. (2015). Rabbit Meat has the Potential of Being a Possible Alternative to Other Meats as a Protein Source: A Brief Review. *Int. J. Phar. Biomed. Res.* 2(5):17-19.
- Saleem, M., Ali, H. A., Akhtar, M. F., Saleem, U., Saleem, A., & Irshad, I. (2017). Chemical characterisation and hepatoprotective potential of *Cosmos sulphureus* Cav. and *Cosmos bipinnatus* Cav. *Natural Product Research*, 1–4. doi:10.1080/14786419.2017.141355.
- Tavares, C.S., Gameiro, J.A., Roseiro, L.B. & A. Cristina Figueiredo. (2022). Hydrolates: a review on their volatiles composition, biological properties and potential uses. *Phytochem Rev.* <https://doi.org/10.1007/s11101-022-09803-6>

## Evaluación de la estabilidad lipídica en hamburguesas de pollo adicionadas con extractos de guayaba (*Psidium guajava L.*) como antioxidantes

C.H. Herrera Méndez<sup>1</sup>\*, A. Miranda Roque<sup>1</sup>, A.D. Trujillo Santoyo<sup>1</sup>, G. Arroyo Figueroa<sup>1</sup>, J.G. Dzul Cauich<sup>1</sup> y T. Medina Saavedra<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Guanajuato, Campus Celaya-Salvatierra, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Privada de Arteaga S/N, C.P. 38900, Salvatierra, Guanajuato, México. \* [chmendez@ugto.mx](mailto:chmendez@ugto.mx)

### RESUMEN

Se analizó si extractos de guayaba retrasan la oxidación lipídica de la carne en hamburguesas. Se caracterizó la guayaba: pH  $4.02 \pm 0.11$ ; acidez  $0.14 \pm 0.010$ ; % humedad  $83.80 \pm 0.392$ ; % cenizas  $0.34 \pm 0.065$ ; °Bx  $12.98 \pm 0.399$  y % proteína  $12.54 \pm 1.135$ . Estudios a extractos: cáscara:  $1544.4 \pm 0.013$  mg ácido gálico/100 g (fenoles totales),  $43.79 \pm 0.014$  % de taninos,  $261.334 \pm 2.665$  mg ácido ascórbico/100 g y  $91.65 \pm 0.003$ % inhibición (DPPH); pulpa:  $563.1 \pm 0.035$  mg ácido gálico/100 g,  $38.18 \pm 0.009$  % de taninos,  $237.622 \pm 2.059$  mg ácido ascórbico/100 g y  $88.67 \pm 0.004$  % inhibición; extracto combinado:  $1237.3 \pm 0.221$  mg ácido gálico/100 g,  $42.44 \pm 0.007$  % de taninos,  $142.655 \pm 1.026$  mg ácido ascórbico/100 g y  $87.67 \pm 0.004$  % inhibición. Se determinaron el pH, color y oxidación de lípidos (TBARS). La oxidación del control fue 12.711 a 18.727 mg malondialdehído/kg de carne, mientras que en la carne tratada fue menor, siendo P80 el mejor tratamiento con un valor de  $14.918 \pm 0.019$  mg malondialdehído/kg de carne, con lo que se concluye que al adicionar extractos de guayaba se puede disminuir la oxidación lipídica de la carne.

**Palabras clave:** Antioxidantes, carne, guayaba, oxidación, rancidez

### ABSTRACT

It was analyzed whether guava extracts delay the lipid oxidation of meat in hamburgers. Guava was characterized: pH  $4.02 \pm 0.11$ ; acidity  $0.14 \pm 0.010$ ; % moisture  $83.80 \pm 0.392$ ; % ash  $0.34 \pm 0.065$ ; °Bx  $12.98 \pm 0.399$  and % protein  $12.54 \pm 1.135$ . Studies to extracts: peel:  $1544.4 \pm 0.013$  mg gallic acid/100 g (total phenols),  $43.79 \pm 0.014$  % tannins,  $261.334 \pm 2.665$  mg ascorbic acid/100 g and  $91.65 \pm 0.003$ % inhibition (DPPH); pulp:  $563.1 \pm 0.035$  mg gallic acid/100 g,  $38.18 \pm 0.009$  % tannins,  $237.622 \pm 2.059$  mg ascorbic acid/100 g and  $88.67 \pm 0.004$  % inhibition; combined extract:  $1237.3 \pm 0.221$  mg gallic acid/100 g,  $42.44 \pm 0.007$  % tannins,  $142.655 \pm 1.026$  mg ascorbic acid/100 g and  $87.67 \pm 0.004$  % inhibition. The pH, color and lipid oxidation (TBARS) were determined. The oxidation of the control was 12.711 to 18.727 mg malondialdehyde/kg of meat, while in the treated meat it was lower, P80 being the best treatment with a value of  $14.918 \pm 0.019$  mg malondialdehyde/kg of meat, which leads to the conclusion that the addition of guava extracts can reduce lipid oxidation of the meat.

**Keywords:** Antioxidants, meat, guava, oxidation, rancidity

### INTRODUCCIÓN

Los alimentos de origen animal son fuentes excelentes de proteínas de elevada calidad, así como minerales y vitaminas, como calcio, hierro, zinc, selenio, yodo, varias vitaminas del grupo B y vitamina D (Carbajal, 2018). La carne es el tejido muscular animal que se consume como alimento y es el que mayor valoración y apreciación alcanza en los mercados y en los consumidores de alimentos de origen animal. La carne con un alto contenido de grasa es susceptible a la oxidación de lípidos, una reacción fotoquímica entre los lípidos y la luz que conduce a la rancidez, notable por un mal olor y una coloración amarillenta (Franco & Moure, 2010). La oxidación lipídica puede contrarrestarse mediante la adición de antioxidantes, con efectos que abarcan toda la cadena productiva, desde la conservación de las materias primas hasta la calidad y vida útil de los productos, tales como carne o huevos

procedentes de animales alimentados con estos piensos (Carné *et al.*, 2013). Se han buscado fuentes de antioxidantes de menor costo y suficientes, como, por ejemplo, en la sobreproducción de alimentos vegetales o en los residuos agroindustriales tales como: piel de papa (Singh, 2008), semillas de uva (Brannan, 2009), entre otras. Los antioxidantes derivados de fuentes naturales se perciben por los consumidores como más seguros que los sintéticos.

La guayaba (*Psidium guajava L.*) es una de las frutas que más concentración de antioxidantes tiene de manera natural. Este fruto contiene un alto contenido de vitaminas A, B y C, además de polifenoles, betacarotenos y flavonoides, constituyéndose en una buena fuente de antioxidantes. La guayaba tiene un alto contenido de fibra (8.15 %) y de ácido ascórbico (160 mg/100 g) (Mata & Rodríguez, 2000). Se cultiva comercialmente en muchos países tropicales y subtropicales de todo el mundo, siendo India el mayor productor, seguido por Pakistán, México y Brasil, además de Egipto, Tailandia, Colombia, Indonesia, Venezuela, Sudan, Bangladesh, Cuba, Vietnam, Malasia, Puerto Rico, Australia y Estados Unidos (Singh, 2011).

En los últimos años la industria cárnica se encuentra en busca de nuevos métodos de conservación para evitar el deterioro que se da de manera natural, induciendo cambios organolépticos en la carne. La guayaba debido a los altos niveles de compuestos polifenólicos, contando éstos con propiedades antioxidantes, puede ser una fuente posible para la aplicación de sus antioxidantes en alimentos cárnicos. El propósito del presente estudio fue evaluar el efecto de la actividad antioxidante de extractos naturales extraídos de la guayaba (*Psidium guajava L.*) en un sistema alimenticio elaborado a base de carne de pollo, buscando generar un beneficio para la conservación de los atributos sensoriales del mismo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Guayaba (*Psidium guajava L.*)**

Las guayabas se obtuvieron de la región de Salvatierra, Guanajuato, México. Estas fueron seleccionadas en base al color, tamaño, forma y grado de maduración. Una vez recolectadas, se lavaron con agua y se empacaron en bolsas de polietileno. Se mantuvieron en refrigeración a una temperatura entre 1-4 °C hasta su posterior uso.

### **Carne de pollo**

Se utilizó carne de pollo molida obtenida de un productor avícola de la región de Salvatierra, Guanajuato, empleando pierna (*M. Gastrocnemius*, *M. Peroneus longus*, *M. Flexor perforans et perforatus*) y muslo (*M. Semitendinosus*, *M. Semimembranosus*, *M. Iliotibialis*).

### **Análisis fisicoquímicos realizados a la guayaba (*Psidium guajava L.*)**

#### ***Determinación de pH***

Se realizó con base a la norma mexicana NMX-F-317-S-1978 (Determinación de pH en alimentos). Se añadieron 30 ml de agua destilada por cada 100 g de guayaba y se homogeneizaron. Se sumergió el electrodo del potenciómetro en la muestra de manera que se cubriera perfectamente.

#### ***Determinación de acidez***

Se realizó con base a la norma mexicana NMX-F-102-S-1978 (Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas). Se pesaron 500 g de guayaba y se homogeneizó hasta obtener una pulpa uniforme, se filtró a través de algodón absorbente. Se tomaron y mezclaron 10 ml de muestra con 50 ml de agua destilada y se agregaron 3 gotas de fenolftaleína. Se valoró la disolución con NaOH 0.1 N hasta viraje del indicador (de transparente a rosa) y se registró el volumen utilizado.

#### ***Determinación de humedad***

Se siguió la metodología de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC 23.003).

### ***Determinación de cenizas***

Se siguió la metodología de AOAC 942.05.

### ***Determinación de grados Brix (°Bx)***

Se realizó con base a la norma mexicana NMX-F-103-1982. Se pesaron 200 g de guayaba y se homogeneizó hasta obtener una pulpa uniforme. Se utilizó un refractómetro manual para la medición.

### ***Determinación de proteína***

Se aplicó el método de Bradford (1976).

### ***Extracción de antioxidantes***

Se utilizaron extractos naturales provenientes de tres diferentes partes de la guayaba: cáscara, pulpa y combinado (cáscara y pulpa).

### ***Obtención del extracto***

Se utilizó el método de Ersus & Yurdagel (2007) modificado. Se pesaron 10 g de muestra a los cuales se les adicionaron 50 ml de agua destilada, 50 ml de etanol y se dejaron en agitación constante durante 24 horas (200-300 rpm) a temperatura ambiente. El extracto se filtró a través de papel Whatman No. 2 y se almacenó el líquido filtrado a -8 °C hasta su uso.

### ***Determinación de compuestos fenólicos solubles totales***

Se determinó mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu modificado por González-Aguilar *et al.* (2007). Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de polvo seco. La curva de calibración se realizó con concentraciones entre 50-1000 ppm de ácido gálico.

### ***Determinación de taninos totales***

Se utilizó el método de Makkar *et al.* (1993).

### ***Determinación de ácido ascórbico***

Para la determinación del ácido ascórbico se utilizó el método de Tillmans (Zenebon *et al.*, 2008).

### ***Determinación de capacidad antioxidante mediante DPPH***

Se utilizó la técnica de DPPH según adaptación de Molyneux (2004).

### **Preparación y elaboración de hamburguesas**

Se adquirieron 4 kg de carne molida de pollo (muslo y pierna) y se produjeron 16 hamburguesas de 25 gramos cada una, para cada tratamiento del experimento, siendo un total de 9 tratamientos. En la tabla I se muestra la composición de cada tipo.

**Tabla I.** Tratamientos empleados en la investigación

Tratamiento	Descripción:
Control (C)	Carne de pollo + 1.5 % NaCl, sin antioxidantes.
Cáscara (K80)	Carne de pollo + 1.5 % NaCl + volumen de extracto de cáscara equivalente a 80 mg de fenoles totales por kg de carne.
Cáscara (K40)	Carne de pollo + 1.5 % NaCl + volumen de extracto de cáscara equivalente a 40 mg de fenoles totales por kg de carne.
Cáscara (K20)	Carne de pollo + 1.5 % NaCl + volumen de extracto de cáscara equivalente a 20 mg de fenoles totales por kg de carne.
Pulpa (P80)	Carne de pollo + 1.5 % NaCl + volumen de extracto de pulpa equivalente a 80 mg de fenoles totales por kg de carne.
Pulpa (P40)	Carne de pollo + 1.5 % NaCl + volumen de extracto de pulpa equivalente a 40 mg de fenoles totales por kg de carne.
Pulpa (P20)	Carne de pollo + 1.5 % NaCl + volumen de extracto de pulpa equivalente a 20 mg de fenoles totales por kg de carne.
Eritorbato de sodio, ácido cítrico y sacarosa (EAS)	Carne de pollo + 1.5 % NaCl + 0.37 % de eritorbato de sodio, ácido cítrico y sacarosa.
Butilhidroxitolueno (BHT)	Carne de pollo + 1.5 % NaCl + 0.01 % BHT disuelto en 5 ml de aceite de soja.

Una vez que se agregaron los ingredientes se procedió al mezclado y posteriormente la cocción de la carne, la cual fue sin aceite hasta alcanzar una temperatura en el centro de la hamburguesa de 72 °C por 5 minutos. Después de la cocción se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se empaquetaron las hamburguesas individualmente en bolsas de polietileno. El tiempo de evaluación fue de 90 días realizando análisis cada 15 días en base a pH, color y TBARS.

#### Determinación de pH en carne

Se pesaron 10 g de muestra, se agregaron 100 ml de agua destilada y se homogeneizó por un minuto. Después, se filtró la mezcla con un tamiz para retirar el tejido conectivo. Se calibró el potenciómetro con los buffers correspondientes y se realizaron las mediciones.

#### Determinación de color en carne

Se utilizó la escala Hunter Lab (a, b y L) para medir el color en las hamburguesas de pollo. A cada hamburguesa se le realizó un corte longitudinal y empleando un colorímetro (Konica Minolta cr-410) se hizo la lectura en el centro de la hamburguesa.

#### Determinación de TBARS

La capacidad antioxidante de los extractos se determinó evaluando la rancidez oxidativa, midiendo la concentración de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico de acuerdo con la metodología reportada por Zipser *et al.* (1962).

#### Análisis estadístico

Los experimentos se realizaron en un diseño completamente al azar con tres réplicas. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y de acuerdo a la significancia de la prueba F, la prueba de Tukey fue aplicada a un 5 % de probabilidad, utilizando un STATGRAPHICS Software.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Análisis fisicoquímicos realizados a la guayaba (*Psidium guajava L.*)

En la tabla II se presentan los resultados obtenidos de los diferentes métodos realizados al fruto.

**Tabla II.** Análisis fisicoquímicos de la fruta

pH	4.02 ± 0.011
Acidez (%)	0.14 ± 0.010
Humedad (%)	83.80 ± 0.392
Cenizas (%)	0.34 ± 0.065
Grados Brix (°Bx)	12.98 ± 0.399
Proteína (%)	12.54 ± 1.135

pH



Los resultados obtenidos se encuentran en el rango de pH que debe presentar la guayaba (2.89-6.20). Cortés (2011) obtuvo valores de pH en cinco variedades de guayaba (*Psidium guajava* L.) entre 3.7 a 4.2. El aumento de los valores de pH se relaciona a los procesos de maduración inherentes al fruto.

### **Acidez**

González *et al.* (2016) lograron resultados en muestras de guayaba con un porcentaje de acidez de 0.40 % al inicio del experimento y al finalizar la acidez disminuyó significativamente hasta alcanzar valores de 0.19 %. Tiene similitud el resultado obtenido de acidez en este estudio. Para las diferentes variedades de guayaba, algunos autores indican que la acidez total titulable (ATT) aumenta hasta el climaterio y luego disminuye, mientras que otros reportan que la ATT disminuye durante la poscosecha o permanece constante cuando el fruto se almacena a baja temperatura, con valores entre 0.15 y 1.21 %. En este caso la cosecha realizada para este trabajo fue en otoño-invierno lo que puede estar relacionado con lo mencionado con este autor.

### **Humedad**

Según De Moreno *et al.* (1999) reportan que el contenido de humedad varía de 81.9 a 91.7 %, con un promedio general de 86.3 % en guayaba. De la misma manera, distintas fuentes mencionan que la guayaba contiene entre 78 a 87 % de humedad, esto dependiendo de la variedad de la fruta y de las condiciones climatológicas en que se desarrolla.

### **Cenizas**

De Moreno *et al.* (1999) determinó que el contenido de cenizas en la guayaba varía de 0.3 a 0.6 %, con un promedio general de 0.5 %. Los resultados obtenidos en este trabajo son similares a los reportados anteriormente. Mata & Rodríguez (2000) reportaron 4.13 % (bs) de cenizas. Esta diferencia en el contenido de cenizas puede deberse a que están asociadas al contenido mineral y, en consecuencia, dependen del manejo agronómico de las plantaciones.

### **Grados Brix**

Mondragón Jacobo *et al.* (2009) indicó un total de 11.6 °Bx en guayaba tipo media china. Asimismo, Cortés (2011) obtuvo en su investigación un promedio de 12.1 °Bx llegando hasta un valor mayor de 18.1 °Bx, este aumento en la cantidad de sólidos solubles totales sugiere que existe un incremento en la hidrólisis de almidones debido a la actividad metabólica. De acuerdo con la NMX-FF-040-1993, la guayaba en un buen estado de madurez debe de tener 12 °Bx.

### **Proteína**

Lara *et al.* (2007) reportan en guayaba agria, que el porcentaje de proteína se encuentra entre 0.28 y 0.5 %. Medina & Pagano (2003) reportaron un valor de 0.88 % de proteína en guayaba tipo criolla roja. Los valores de proteína varían de acuerdo con la especie de la fruta y a los diferentes métodos utilizados para este parámetro. El resultado que se obtuvo es mayor a lo referenciado dado que se hizo un pretratamiento a la fruta con agua caliente y agitación para extraer el mayor contenido de proteína.

### **Análisis de antioxidantes realizados a los extractos de guayaba**

En la tabla III se muestran los resultados acerca de antioxidantes de los diferentes extractos obtenidos de la guayaba.

**Tabla III.** Resultados obtenidos de antioxidantes de los extractos utilizados.

Extracto	Fenoles totales (mg/100g)	Taninos (%)	Ácido ascórbico (mg/100g)	DPPH (% inhibición)
Cáscara	1544.4 ± 0.013	43.79 ± 0.014	261.334 ± 2.665	91.65 ± 0.003
Pulpa	563.1 ± 0.035	38.18 ± 0.009	237.622 ± 2.059	88.67 ± 0.004
Combinado	1237.3 ± 0.221	42.44 ± 0.007	142.655 ± 1.026	87.24 ± 0.005

Fenoles totales: mg equivalentes de ácido gálico.

### **Compuestos fenólicos solubles totales**

El extracto proveniente de la cáscara fue el que presentó mayor contenido de fenoles totales. Zapata *et al.* (2014) clasificó a la guayaba como una fruta con alto contenido de fenoles totales (>500 mg de ácido gálico/100 g) obteniendo un resultado de  $1192.2 \pm 27.8$  mg de ácido gálico/100 g. Benites Vílchez *et al.* (2011) obtuvieron el resultado para fenoles totales de  $600.5 \pm 41.9$  mg ácido gálico/100 g en un estudio realizado con cáscara de guayaba fresca. Se sabe que los compuestos fenólicos inhiben la formación de radicales libres y la propagación de reacciones de radicales libres a través de la quelación de iones de metales de transición, como el hierro (McBride *et al.*, 2007). La fuerte actividad antioxidante *in vitro* mostrada por extractos vegetales puede ser un protector en cárnicos.

### **Taninos totales**

Los resultados obtenidos indican que los diferentes extractos de guayaba contienen un alto porcentaje de taninos, siendo el extracto de la cáscara el que presenta el mayor porcentaje. Zapata *et al.* (2013) en sus resultados refieren que la guayaba común y la guayaba agria, contienen casi la misma cantidad de taninos (42.6 %).

### **Ácido ascórbico**

El extracto proveniente de la cáscara contiene más cantidad de ácido ascórbico que la pulpa y el combinado. Según Gutiérrez (2013) la guayaba presenta altos contenidos en ácido ascórbico (200-400 mg/100 g), el valor de esta vitamina es mayor en la cáscara o epicarpio del fruto. Gutiérrez *et al.* (2008) obtuvieron un valor de ácido ascórbico en guayaba de 100 mg/100 g. El ácido ascórbico se encuentra en mayor cantidad en la cáscara, en segundo lugar, está la pulpa, estos valores fluctúan entre 56 a 600 mg y puede variar entre 350 a 450 mg en frutas casi maduras (Charles *et al.*, 2006). Como se puede observar los resultados en este trabajo son acordes a los mencionados anteriormente.

### **Determinación de capacidad antioxidante (DPPH)**

Los resultados muestran que el extracto de cáscara tiene un alto porcentaje de inhibición, seguido del extracto de pulpa y el combinado. Esto se puede atribuir a que la cáscara es la primera barrera que tiene la fruta, por lo cual posee compuestos que tienen una alta capacidad antioxidante para evitar cambios en su estructura. Cortes-Penagos (2016) obtuvo un porcentaje de inhibición (DPPH) entre  $24.5 \pm 0.7$  % a  $48.82 \pm 1$  %, lo cual indica que los valores obtenidos en este estudio son superiores a los que presenta este autor, relacionado posiblemente a la variedad de la fruta y las condiciones de cultivo. Benites Vílchez *et al.* (2011) obtuvieron un valor aproximado de 80 % de capacidad atrapadora de radicales libres en un extracto de cáscara de guayaba fresca realizado con la técnica de DPPH, lo cual es un resultado similar al obtenido en esta investigación. Cabe mencionar que la actividad antirradical puede depender del tipo de concentración de polifenoles y la presencia de metales de transición debido a que la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante (Monreal, Manzanera, & Tomé, 2012).

**Evaluación de la carne (hamburguesas)**

Se evaluó durante 90 días (análisis cada 15) los valores de pH, color y TBARS para carne tratada con los extractos de cáscara y pulpa de guayaba.

**pH**

El análisis estadístico de los resultados obtenidos en base a pH se presenta en la tabla IV.

**Tabla IV.** Análisis estadístico de los resultados obtenidos de pH en la carne.

Días	Control	Cáscara			Pulpa			Antioxidantes no naturales	
		80 mg	40 mg	20 mg	80 mg	40 mg	20 mg	EAS	BHT
0		6.11 ±	6.14 ±	6.1 ±	6.21 ±	6.16 ±	6.12 ±	6.07 ±	6.12 ±
	6.16 ± 0.004 <sup>aA</sup>	0.009 <sup>aA</sup>	0.012 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>aA</sup>	0.024 <sup>aA</sup>	0.016 <sup>aA</sup>	0.009 <sup>aA</sup>	0.021 <sup>bA</sup>	0.021 <sup>aA</sup>
15		6.21 ±	6.20 ±	6.18 ±	6.24 ±	6.21 ±	6.21 ±	6.08 ±	6.18 ±
	6.26 ± 0.021 <sup>aA</sup>	0.020 <sup>aA</sup>	0.016 <sup>aA</sup>	0.012 <sup>aA</sup>	0.016 <sup>aA</sup>	0.016 <sup>aA</sup>	0.012 <sup>aA</sup>	0.016 <sup>bA</sup>	0.012 <sup>aA</sup>
30		6.23 ±	6.24 ±	6.21 ±	6.23 ±	6.21 ±	6.23 ±	5.78 ±	6.21 ±
	6.24 ± 0.024 <sup>aA</sup>	0.012 <sup>aA</sup>	0.009 <sup>aA</sup>	0.012 <sup>aA</sup>	0.026 <sup>aA</sup>	0.020 <sup>aA</sup>	0.021 <sup>aA</sup>	0.016 <sup>bA</sup>	0.021 <sup>aA</sup>
45		6.25 ±	6.27 ±	6.26 ±	6.25 ±	6.24 ±	6.24 ±	6.13 ±	6.22 ±
	6.27 ± 0.012 <sup>aA</sup>	0.008 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>aA</sup>	0.008 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>aA</sup>	0.009 <sup>aA</sup>	0.008 <sup>bA</sup>	0.004 <sup>aA</sup>
60		6.21 ±	6.22 ±	6.17 ±	6.28 ±	6.26 ±	6.26 ±	5.59 ±	6.14 ±
	6.31 ± 0.004 <sup>aA</sup>	0.012 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>aA</sup>	0.009 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>bA</sup>	0.008 <sup>aA</sup>
75		6.28 ±	6.31 ±	6.29 ±	6.29 ±	6.30 ±	6.27 ±	5.72 ±	6.26 ±
	6.27 ± 0.004 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>aA</sup>	0.008 <sup>aA</sup>	0.009 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>aA</sup>	0.008 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>aA</sup>	0.008 <sup>bA</sup>	0.012 <sup>aA</sup>
90			6.35 ±	6.34 ±	6.36 ±	6.35 ±	6.31 ±	6.20 ±	6.25 ±
	6.29 ± 0.008 <sup>aA</sup>	6.34 ± 0 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>aA</sup>	0.008 <sup>aA</sup>	0.008 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>aA</sup>	0.012 <sup>aA</sup>	0.004 <sup>bA</sup>	0.008 <sup>aA</sup>

a, b: Valores con la misma letra en el mismo renglón no son significativamente diferentes (P<0.05) para cada tratamiento.

A, B: Valores con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (P<0.05) para el tiempo de almacenamiento.

El pH del tratamiento de EAS presenta una diferencia significativa (P<0.05) en comparación con el resto de los tratamientos. Piñón *et al.* (2015) obtuvo resultados similares a los de esta investigación relacionados al pH en carne de pollo tratada con aceite de orégano, teniendo 5.98 de pH como valor máximo para la pierna y para la pechuga de 5.81. Periago (2013) menciona que durante el almacenamiento de la carne se produce un incremento del pH en las etapas finales, cuando el crecimiento de microorganismo proteolíticos produce una degradación de las proteínas y la consecuente liberación de compuestos nitrogenados. Se ha visto que durante el proceso de maduración existe un incremento en el pH de la carne debido a que hay un proceso de degradación de proteínas, también existe una liberación de iones de sodio y calcio por parte del retículo sarcoplasmático, todo esto conlleva a un incremento de la presión osmótica de las células musculares y por consiguiente un incremento del pH.

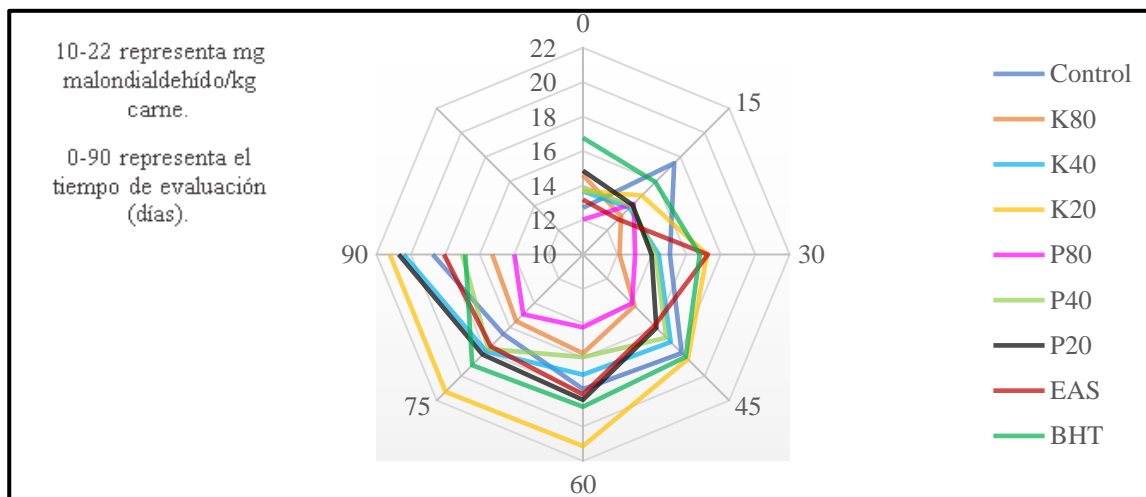
**Color**

El análisis estadístico (no mostrado) de los resultados obtenidos en base al color para los parámetros L, a y b indican que para el parámetro L, son cuatro tratamientos (P80, P40, P20 y BHT) que tienen una diferencia significativa (P<0.05). Al evaluar el parámetro a, vemos que existen dos tratamientos (K80 y EAS) que son significativamente diferentes (P<0.05), los cuales presentan un comportamiento contrario; el tratamiento K80 tiende a valores negativos mientras que EAS a valores positivos. Para el parámetro b, no existe diferencia significativa para los tratamientos (P>0.05). Piñón *et al.* (2015) presenta valores similares a los de este estudio para los parámetros de color en carne de pollo adicionada con aceite de orégano. Bravo (1998) menciona en su investigación de un producto

cárnico tratado con mangostán, que el mangostán está compuesto por azúcares fermentables que pueden generar color oscuro incrementando así la tonalidad roja en el tratamiento. La guayaba tiene cerca del 10 % de carbohidratos lo cual puede estar relacionado con lo que indica este autor. El color de la carne se debe al pigmento mioglobina, que está diseñado para unir y almacenar oxígeno en el músculo hasta que se necesita para procesos metabólicos. Amensour *et al.* (2010) explica que en los productos cárnicos la coordenada  $a^*$  está influenciada por diversos factores tanto tecnológicos (emulsión en frío o caliente, tipo de picado, etc.) como de composición (relación fracción magra/fracción grasa, entre otros). Por su parte la luminosidad está relacionada con el agua libre en la superficie, el contenido de grasa, tejido conjuntivo, contenido y tipo de hemopigmentos. Existen muchos factores que afectan a la estabilidad del color de la carne: los de mayor importancia son: pH, temperatura, humedad relativa, iluminación, bacterias, oxidación de lípidos, etc. (Escalante *et al.*, 2008).

### TBARS

El efecto de los extractos naturales sobre la oxidación de lípidos de las hamburguesas de pollo durante todo el periodo de almacenamiento se muestra en la Fig. 1. El análisis estadístico (no mostrado) para los datos de TBARS indica que los valores se vieron significativamente afectados ( $P < 0.05$ ) tanto por el período de almacenamiento (45, 60, 75 y 90 días) como para los tratamientos (P80 y BHT). Estos resultados sugieren que los antioxidantes naturales provenientes de extractos de guayaba pueden disminuir la oxidación de lípidos de la carne, siendo el extracto de pulpa a una concentración de 80 mg fenoles/kg carne el mejor tratamiento para dicha actividad.



**Figura 1.** Comportamiento de TBARS en la carne durante todo el estudio (K: cáscara; P, pulpa; EAS: eritorbato de sodio; BHT: butilhidroxitolueno; 80, 40 y 20: mg fenoles/kg carne).

Los resultados obtenidos se comportan de manera similar a los reportados por Fernández-López *et al.* (2005) donde evaluaron el efecto de extractos naturales en albóndigas de carne. Djenane *et al.* (2004) encontraron que la adición de ácido ascórbico (500 ppm) a la carne fresca antes del almacenamiento refrigerado de envasado en atmósfera modificada retrasó la oxidación durante 28 días. Vázquez *et al.* (2009) analizaron el efecto que tendría el agregar a un batido de carne extractos provenientes de romero y chile ancho, y obtuvieron resultados favorables donde se ve que ambos extractos disminuyen la rancidez de la carne en comparación con la del control, lo cual concuerda con los resultados de este estudio. El efecto de la estabilidad oxidativa de los extractos etanólicos está relacionada con la composición del extracto, es decir, con el contenido de polifenoles, flavonoides y antocianinas (Juntachote *et al.*, 2007), lo cual posiblemente explique las diferencias encontradas en la aplicación como antioxidantes naturales en batidos cárnicos. A todos los tratamientos utilizados en este estudio incluido el control se les agregó cloruro de sodio. Price & Schweigert (1994) menciona que la sal actúa como prooxidante de la oxidación del grupo hemo, causando pardeamiento. Lagarraña (1999) indica que la presencia de cloruros sódicos favorece a la reacción de oxidación. Las hamburguesas fueron tratadas térmicamente a 72 °C. Según investigaciones realizadas por Mielche

& Bertelsen (1993), la mayoría de los tratamientos térmicos a altas temperaturas (60-80 °C) aceleran la oxidación de lípidos en carne cocida, desarrollando durante su posterior almacenamiento refrigerado, sustancias volátiles principalmente aldehídicas que producen olores y sabores desagradables, lo que se conoce como el Warmed Over Flavour (WOF) o sabor rancio, mostrando un aumento del desarrollo de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico cuando se trabaja en sistemas modelos calentados en baño de agua.

### CONCLUSIÓN

Con respecto a la hipótesis planteada en este estudio, es decir, que al utilizar antioxidantes naturales extraídos de diversas fracciones de guayaba (*Psidium guajava L.*) y aplicados a un sistema alimenticio elaborado a base de carne de pollo se logra disminuir la oxidación lipídica prolongando su vida de anaquel, quedó demostrado que con la concentración de 80 mg de fenoles totales del extracto proveniente de la pulpa se logra reducir la oxidación de los lípidos en relación con el control en un 17 %, lo cual manifiesta que la pulpa de guayaba es un posible inhibidor de la rancidez oxidativa de los lípidos presentes en la carne y productos cárnicos haciendo posible el alargamiento de la vida de anaquel de dichos productos. En esta investigación se muestra que los antioxidantes naturales provenientes de extractos de la guayaba son eficaces y confiables aplicados para la conservación de la carne de pollo, en comparación con los que comúnmente se utilizan en la industria cárnica (eritorbato de sodio y BHT), dándole un valor agregado a dicha fruta. Los resultados de este estudio pueden dar la pauta para que se empiecen a buscar y utilizar nuevas fuentes de antioxidantes naturales que ayuden a la conservación y preservación de alimentos, agregando dichos compuestos en su procesamiento. Además, los antioxidantes pueden beneficiar los procesos de oxidación del organismo y no perjudicar la salud de los individuos como los antioxidantes sintéticos. En la actualidad las personas buscan alimentos más naturales y sanos tratando de disminuir los que contengan compuestos artificiales en su elaboración.

### BIBLIOGRAFÍA

- Amensour, M., Zapata, E. S., Abrini, J., Nadal, E. S., Barberá, M. E., Vera, d., . . . López, J. F. (2010). Estabilidad del color en salchichas de pollo tipo Frankfurt adicionadas con extracto acuoso de hoja de *Myrtus communis*. *Óptica pura y aplicada*, 43(4), 251-257.
- AOAC. (2000). *Determination of ash in animal feed: AOAC official method 942.05*.
- AOAC. (2003). *Métodos de análisis de la asociación oficial de química analítica para determinar humedad, fibra, cenizas, grasa y proteína*.
- Benites Vílchez, J., Díaz García, R., López Vivar, J., Gajardo Solari, S., Kusch Fuschlocher, F., & Rojas Arredondo, M. (2011). Actividad antioxidante y antibacteriana de seis cáscaras de frutos del oasis de Pica. *Biofarbo*, 19, 1.
- Bradford, M. M. (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of micro-gram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, 72:248-254.
- Brannan, R. G. (2009). Effect of grape seed extract on descriptive sensory analysis of ground chicken during refrigerated storage. *Meat science*, 81(4), 589-595.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56: 11.
- Carbajal, A. A. (2018). *Los alimentos como fuente de energía, nutrientes y otros bioactivos*. Madrid: Manual de nutrición y dietética.
- Carné, S., Zaragoza, A., & Mascarell, J. (2013). Función de los antioxidantes en el pienso y efectos en la calidad de carne. *Selecciones avícolas*.
- Charles, W. W., Philip, E. S., & Carl, W. C. (2006). Determination of organic acids and sugars in guajava L. cultivars by high-performance liquid chromatography. *Journal of the Food and Agriculture*, 33, 777-780.
- Cortés, C. (2011). Valoración de madurez en cinco variedades de guayaba (*Psidium guajava L.*). *XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería*.

- Cortes-Penagos, C. (2016). Actividad antioxidante en cinco variedades de *Psidium guajava* L. *Agroproductividad*, 9(4).
- De Moreno, L. A., Marín, M., Peña, D., Toyo, E., & Sandoval, L. (1999). Contenido de humedad, materia seca y cenizas totales en guayabas (*Psidium guajava* L.) cosechadas en granjas del municipio Mara del estado Zulia. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 16(1).
- Djenane, D., Martínez, L., Sánchez-Escalante, A., Beltrán, J. A., & Roncalés, P. (2004). Antioxidant effect of carnosine and carnitine in fresh beef steaks stored under modified atmosphere. *Food Chemistry*, 85(3), 453-459.
- Ersus, S., & Yurdagel, U. (2007). Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering*, 80(3), 805-812.
- Escalante, A. S., Urrutia, G. R., Arriola, J. P., Méndez, N. F., & Watanabe, G. H. (2008). Sistemas combinados de conservación para prolongar la vida útil de la carne y los productos cárnicos. *Nacameh*, 2(2), 124-159.
- Fernández-López, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Pérez-Alvarez, J. A., & Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat science*, 69(3), 371-380.
- Franco, R. D., & Moure, V. A. (2010). *Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales*. Santiago de Compostela: Gráficas Garabal, S.L.
- González-Aguilar, G. A., Villegas-Ochoa, M. A., Martínez-Téllez, M. A., Gardea, A. A., & Ayala-Zavala, J. F. (2007). Improving antioxidant capacity of fresh-cut mangoes treated with UV-C. *Journal of Food Science*, 72(3), S197-S202.
- Gutiérrez, A. A. (2013). Evaluación de la calidad de frutos de guayaba *Psidium guajava* L. del banco de germoplasma de Corpoica Palmira.
- Gutiérrez, R. M., Mitchell, S., & Solis, R. V. (2008). *Psidium guajava*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of ethnopharmacology*, 117(1), 1-27.
- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S., & Bauer, F. (2007). Antioxidative effect of added dried Holy basil and its ethanolic extracts on susceptibility of cooked ground pork to lipid oxidation. *Food Chemistry*, 100(1), 129-135.
- Lagarraña, I. (1999). *Control e higiene de los alimentos*. Madrid: McGraw-Hill.
- Lara, C., Nerio, L. S., & Oviedo, L. E. (2007). Evaluación fisicoquímica y bromatológica de la guayaba agria (*Psidium araca*) en dos estados de maduración. *Temas agrarios*, 12(1).
- Makkar, H. P., Blümmel, M., Borowy, N. K., & Becker, K. (1993). Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61(2), 161-165.
- Mata, B. I., & Rodríguez, M. (2000). Cultivo y Producción del Guayabo. *Trillas*.
- McBride, N. T., Hogan, S. A., & Kerry, J. P. (2007). Comparative addition of rosemary extract and additives on sensory and antioxidant properties of retail packaged beef. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(10), 1201-1207.
- Medina, B., & Pagano, G. (2003). Caracterización de la pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) tipo "Criolla Roja". *Revista de la Facultad de Agronomía*, 20(1), 72-86.
- Mielche, M. M., & Bertelsen, G. (1993). Effects of heat treatment on warmed-over flavour in ground beef during aerobic chill storage. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 197(1), 8-13.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.
- Mondragón Jacobo, C., Toriz Ahumada, L. M., & Guzmán Maldonado, S. H. (2009). Caracterización de selecciones de guayaba para el Bajío de Guanajuato, México. *Agricultura técnica en México*, 315-322.
- NMX-F-102-S-1978. *Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas. Norma Mexicana. Dirección general de normas*. (6 de noviembre de 2017). Obtenido de <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-102-S-1978.PDF>
- NMX-F-103-1982. *Alimentos. Frutas y derivados. Determinación de grados Brix. Foods. Normas mexicanas. Dirección general de normas*. (6 de noviembre de 2017). Obtenido de <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-103-1982.PDF>

- NMX-F-317-S-1978. *Determinación de pH en alimentos. Determination of pH in foods. Normas Mexicanas. Dirección general de normas.* (5 de noviembre de 2017). Obtenido de <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-317-S-1978.PDF>
- NMX-FF-040-1993. *Fruta fresca. Guayaba. (Psidium guajava L.) Especificaciones. Fresh fruit. Guava (Psidium guajava L.). Specifications. Normas mexicanas. Dirección general de normas.* (6 de Noviembre de 2017). Obtenido de <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-FF-040-1993.PDF>
- Periago, M. J. (2013). Técnicas analíticas en carne y productos cárnicos. *Higiene, inspección y control alimentario.*
- Piñón, J. R., Monterrubio, A. L., Meléndez, L. A., Martínez, A. C., Rojo, A. D., Palma, N. G., & Vázquez, R. S. (2015). Efecto del aceite esencial de orégano en el rendimiento y las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la carne de pollo. *Investigación y Ciencia: de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, (66), 5-11.
- Price, J., & Schweigert, B. (1994). *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos.* España: Acribia 2a edición.
- Singh, N. (2008). Antioxidant-mediated protective effect of potato peel extract in erythrocytes against oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions*, 173 (2), 97-104.
- Singh, S. (2011). Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits. *Woodhead Publishing Series in Food Science*, 213-245.
- Vázquez, A. M., Martínez, I. G., & Sánchez, A. T. (2009). Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos etánicos de romero y chile ancho y su aplicación en un batido cárnico. *Nacameh*, 3(1), 21-32.
- Zapata, K., Cortes, F. B., & Rojano, B. A. (2013). Polifenoles y actividad antioxidante del fruto de Guayaba Agria (*Psidium araca*). *Información tecnológica*, 103-112.
- Zapata, S. P. (2014). Capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 16(1), 25-36.
- Zenebon, O., Sadocco, N., & Tiglea, P. e. (2008). *Métodos físicos químicos para análisis de alimentos.* Sao Paulo: Instituto Adolfo Lutz.
- Zipser, M. W., Dupont, J., & Watts, B. M. (1962). Extraction of Lipids from Oxidizing Mullet a. *Journal of Food Science*, 27(2), 135-138.

## Desarrollo de una bebida aromática funcional a partir de polvos de mentol y luteolina obtenidos mediante Spray-Drying

L. S. Mora Flórez<sup>1\*</sup>, D. Cabrera Rodríguez<sup>1</sup> y M. Hernández Carrión<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ingeniería Química y de Alimentos, Grupo de Diseño de Productos y Procesos (GDPP), Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. \* [ls.moraf@uniandes.edu.co](mailto:ls.moraf@uniandes.edu.co)

### RESUMEN

Las plantas aromáticas representan alrededor del 0,7% de las hierbas medicinales. Las más comunes son manzanilla (principio activo mayoritario: flavonoides como luteolina) y hierbabuena (principio activo mayoritario: mentol). Estas suelen consumirse en infusiones o tisanas usando "bolsas de té", pero el uso de estas bolsas conlleva tiempos de preparación relativamente largos, genera residuos y acarrea una alta probabilidad de ingerir microplásticos y nanoplásticos. En este trabajo se utilizaron polvos de mentol y luteolina obtenidos mediante secado por atomización a partir de una infusión de manzanilla y hierbabuena (75% agua, 8% hierbas 1:1 y 17% material de pared (MP)). Para evaluar su potencial como nuevo producto en el mercado, se elaboraron 3 bebidas con adición de vitaminas B1 y B9, usando polvos (1 g, 2 g y 3 g) con maltodextrina y proteína de soya al 15% (p/p) (MP). Se realizó un análisis sensorial con 57 consumidores, donde la formulación con 2 g de cápsulas obtuvo mejores puntuaciones para color, aroma y aceptabilidad global. Además, el 95% de los encuestados afirmó que consumiría alguna de las bebidas evaluadas. Los resultados sugieren el potencial de los polvos como producto innovador, de fácil consumo, ambientalmente amigable y que pueda comercializarse como bebida aromática instantánea o preparada en el mercado.

**Palabras clave:** Análisis sensorial, Alimento funcional, Solubilidad, Humedad.

### ABSTRACT

Aromatic plants represent about 0.7% of medicinal plants. The most common are chamomile (major active ingredient: flavonoids such as luteolin) and spearmint (major active ingredient: menthol). These are usually consumed in infusions or tisanes using "tea bags", but the use of these bags involves relatively long preparation time, generates waste, and carries a high probability of ingesting microplastics and nanoplastics. In this work, menthol and luteolin powders obtained by Spray-Drying from an infusion of chamomile and spearmint (75% water, 8% herbs 1:1 and 17% wall material (WM)) were used. To evaluate its potential as a new product in the market, 3 beverages with vitamins B1 and B9 were prepared using powders (1 g, 2 g and 3 g) with maltodextrin and soy protein at 15% (w/w) (WM). A sensory analysis was conducted with 57 consumers, where the formulation with 2 g of capsules obtained better scores for color, smell, and overall acceptability. In addition, 95% of the participants stated that they would consume any of the evaluated beverages. Results suggest the potential of the powders as an innovative product that is easy to consume, environmentally friendly and can be commercialize as an instant or prepared aromatic beverage in the market.

**Key words:** Sensory analysis, Functional food, Solubility, Moisture.



### INTRODUCCIÓN

Las plantas forman parte de la alimentación de animales y humanos ya que otorgan principios inmediatos (moléculas como carbohidratos, lípidos y proteínas) y principios activos (Tovar & Ospina, 2015). De acuerdo con sus efectos en la salud humana (por contacto, absorción o ingestión) pueden ser venenosas, narcóticas, medicinales, especias y aromáticas (Fretes, 2010). Estas últimas representan alrededor de 0,7% del total de plantas medicinales y son aquellas cuyos principios activos se constituyen parcial o totalmente por esencias (Fretes, 2010). En Colombia se producen y comercializan aproximadamente 156 especies de plantas aromáticas medicinales (ICA, 2011). Entre las especies que gobiernan gran parte de estos mercados se encuentran la manzanilla y hierbabuena (Cardona & Barrientos, 2011). Estas son de gran interés ya que poseen una mayor distribución geográfica en el territorio nacional (Cardona & Barrientos, 2011). La hierbabuena (*Mentha spicata*) es originaria de las regiones de la cuenca mediterránea y procede de la hibridación de la menta negra y la blanca. Su principal principio activo es el aceite esencial, que está compuesto por un 70% de mentol libre (monoterpeno) y un 20% de mentol en combinación con ácido acético y resinas. Estas sustancias químicas son las responsables de su fuerte olor y sabor (Castro *et al.*, 2005). Según investigaciones presentadas en el Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales (VCPM), las hojas de esta planta también contienen taninos, flavonoides como el luteol y aminoácidos libres como la arginina y el triptófano. Tradicionalmente se consume la infusión de sus hojas, así como la inhalación de su aceite esencial, como tratamiento de afecciones gastrointestinales, como el dolor de estómago y las náuseas; respiratorias, como la tos, y nerviosas, como el nerviosismo y el insomnio. Se han realizado varios estudios que demuestran su eficacia contra diversas enfermedades. Por ejemplo, la administración de cápsulas de la planta a niños con síndrome del intestino irritable contribuyó a una disminución significativa de los síntomas. El uso del aceite esencial en pacientes sometidos a colonoscopia redujo los espasmos del colon. Además, estudios en ratas demostraron que la ingestión de la planta genera actividad antidiarreica (Ministerio de la Protección Social, 2008). Por otro lado, la manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) también es originaria de regiones de la cuenca mediterránea, tiene flores blancas y es parecida a una margarita (ICA, 2011). Está constituida por flavonoides, en particular luteolina, sesquiterpenos como el óxido de bisabolol, ácido salicílico, vitamina C y lactosas sesquiterpénicas que contribuyen a su sabor amargo (Castro *et al.*, 2005). Según las investigaciones presentadas por el VCPM, esta hierba se utiliza tradicionalmente para tratar la diarrea, las úlceras, los dolores menstruales y otros trastornos gastrointestinales. También se utiliza como antiespasmódico, antiinflamatorio y bactericida. Los estudios han demostrado que su aceite esencial ejerce una acción bactericida contra el *Helicobacter pylori*. Además, el extracto de sus flores ha demostrado tener actividad antipruriginosa, antiespasmódica (*in vitro*) e inmunomoduladora (*in vitro*) (Ministerio de la Protección Social, 2008).

Así, el consumo de plantas con la intención de usarlas para fines medicinales es una práctica tan antigua como la humanidad misma. Gracias a los remedios herbáceos de muchas civilizaciones antiguas como los egipcios, mesopotámicos, griegos, precolombinos entre otros, se pudo construir una importante farmacopea que continúa aplicándose hoy en día (Berdonces, 2003). Así, de acuerdo con el Centro de Investigación para el Desarrollo (CID) de la Universidad Nacional de Colombia, se resalta el empleo de las plantas aromáticas en infusiones y tisanas (Cardona & Barrientos, 2011), bebidas similares cuya preparación conlleva mayormente a una connotación medicinal (RAE, s. f.-b). Ahora bien, estas bebidas forman parte de la industria del té, sobre la cual va enfocado este trabajo. Conforme las estadísticas presentadas por Passport®, las ventas de estos productos son mayores con el transcurso de los años y las predicciones son que sigan aumentando; especialmente, luego de que la pandemia del COVID-19 fortaleciera el enfoque del cuidado preventivo de la salud (Euromonitor International, 2021). A pesar de los múltiples beneficios y el gran acogimiento en el mercado que tienen los productos de esta índole, existen dos factores en su contra. El primer factor para tener en cuenta es su tiempo de preparación. Regularmente, estas bebidas se preparan dejando las hojas de la planta en agua por más o menos 5 min (Fretes, 2010), sumado al tiempo que toma calentar o hervir este líquido. Este tiempo, si bien parece corto, resulta representativo si se tiene presente que en la sociedad actual todo se mueve más rápido y los consumidores prefieren productos instantáneos o *ready to eat*.

Por su parte, el segundo factor es su envoltura. Uno de los empaques más comunes para el consumo de estas bebidas son las conocidas “bolsas de té”. Estas suelen ser fabricadas a partir de papel, con un porcentaje de nylon de grado alimentario o polietileno tereftalato (PET) (Hernandez *et al.*, 2019), uno de los materiales más usados para el envasado de alimentos y bebidas (Tsochatzis *et al.*, 2020). La presencia de materiales plásticos en los sacos de té hace que el alto consumo de estas bebidas conlleve una alta producción de desechos que son difíciles de degradar (más de 100 años) debido a su inercia química y durabilidad (Julienne *et al.*, 2019). Esto, junto con las maneras en las que se disponen los residuos de estas bolsas, produce un daño al medio ambiente (Lee *et al.*, 2020). Sin embargo, esta no es la única problemática que presenta el uso de este tipo de empaques en las bebidas aromáticas, ya que estos sacos pueden descomponerse en micro y nano plásticos; partículas que pueden llegar al sistema gastrointestinal acarreando consigo una respuesta inflamatoria y cambios en la composición microbiana de los intestinos (Prata *et al.*, 2019) Su consumo se ha relacionado con el incremento de enfermedades neurodegenerativas, desordenes inmunológicos y cáncer; aunque actualmente los datos sobre los efectos de dicha exposición sobre la salud humana son limitados, generando así grandes incertidumbres (Prata *et al.*, 2019). Dado que el agua usada para la preparación de infusiones o tisanas frecuenta temperaturas de 95°C o superiores, el plástico presente en las bolsas puede degradarse, incluso aquellos de grado alimentario, liberando así sustancias tóxicas al ser calentados por encima de 40°C. Estudios han evidenciado que una bolsa de té plástica en agua a 95°C libera aproximadamente 11,6 billones de microplásticos y 3,1 billones de nanoplásticos en una sola taza de bebida (Hernandez *et al.*, 2019). Con lo anterior en mente, se piensa que una forma de evitar cualquier efecto secundario que pueda causar la ingesta de estas partículas es ofrecer las bebidas aromáticas en una presentación que no incluya las bolsas de té. Sumando esto con el ya mencionado factor del tiempo de preparación de estas bebidas, una opción interesante sería encontrar la manera de producirlas en versión instantánea; es decir, en polvo.

Por otra parte, el alcohol es la droga legal más consumida en Colombia y en el mundo. Para 2009, cerca de 2,4 millones de personas en el país presentaron un consumo de riesgo o perjudicial de alcohol. El mayor consumo prevalece entre los jóvenes de 18 a 24 años, seguidos por la población de los 25 a los 34 años (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013). A nivel mundial, el consumo total de alcohol per cápita en la población mayor a los 15 años aumentó de 5,5 L de alcohol puro en 2005 a 6,4 L en 2016, siendo más alto el consumo en Europa, pero seguido por el que se presenta en el continente americano (Organización Panamericana de la Salud, 2018). Uno de los problemas que conlleva el consumo de alcohol es la probabilidad de presentar un déficit nutricional, particularmente vitamínico. Se ha visto que cuando la ingesta de alcohol supera el 30% del aporte calórico total, la ingesta de vitaminas A, C y B1 se encuentra por debajo de los límites recomendados, pero también se ven carencias en vitamina B2, B6 y B9 (Moreno Otero & Cortés, 2018). La ingesta excesiva de alcohol dificulta la absorción de vitamina B1 y B9 de los alimentos, produciendo síntomas como fatiga, cansancio, debilidad muscular, falta de concentración, náuseas, entre otros. Además, se puede llegar a padecer de anemia, problemas estomacales, problemas del sueño y problemas cognitivos (Ratner, 2017). Teniendo presente todo lo anterior, en este trabajo se caracterizaron polvos de mentol y luteolina obtenidos mediante encapsulación con secado por atomización para su posterior uso como una bebida aromática instantánea y en el desarrollo de una bebida aromática funcional enriquecida con vitaminas B1 y B9 apta para toda la población, pero enfocada principalmente para las personas que consumen alcohol regular y moderadamente.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo de este trabajo se utilizó 1,28 kg de hierbabuena y 1,00 kg de manzanilla. Ambas hierbas aromáticas se adquirieron en un puesto local ubicado dentro de la Plaza de Mercado Paloquemao (Bogotá, Colombia). Se usó un total de 504 g de maltodextrina (Químicos Mandarin), 36 g de caseinato de sodio (Sigma-Aldrich®), 36 g de proteína de soya (Vadequímica), 5,52 mg de vitamina B1 (Sigma-Aldrich®) y 1,92 mg de vitamina B9 (Ácido fólico 97%) (Sigma-Aldrich®). Adicionalmente, se utilizó 1,2 ml de Stevia (Vida Stevia), la cual se adquirió en el supermercado Éxito.

## Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Las cápsulas de mentol y luteolina utilizadas para el proceso de caracterización de los polvos y la elaboración de la bebida aromática funcional se obtuvieron usando un secador por atomización (BÜCHI B-290) a 180°C con un flujo de alimentación de 4 ml/min. Se desarrolló un diseño experimental factorial 2<sup>2</sup> donde se evaluaron 4 formulaciones de polvos. Para cada una de ellas, se alimentó al equipo una infusión de manzanilla y hierbabuena compuesta por 75% agua, 8% hierbas en proporción 1:1 y 17% material de pared (MP). La variación entre las formulaciones fue la composición del MP; así, las formulaciones analizadas fueron: maltodextrina + caseinato de sodio al 10% (p/p) (F1), maltodextrina + proteína de soya al 10% (p/p) (F2), maltodextrina + caseinato de sodio al 15% (p/p) (F3) y maltodextrina + proteína de soya al 15% (p/p) (F4).

### Solubilidad

Esta propiedad se calculó como una combinación entre las metodologías planteadas por Serna-Cock *et al.* (2015) y Largo Ávila *et al.* (2015). El porcentaje de solubilidad se calculó por diferencia de peso como se muestra en la Ec. (1). Las mediciones se hicieron por triplicado.

$$\text{Solubilidad en agua(\%)} = \frac{\text{Peso inicial de la alicuota(g)} - \text{peso final de la alicuota(g)}}{\text{peso inicial de la alicuota(g)}} \times 100 \quad \text{Ec. (1)}$$

### Humedad

El valor de esta propiedad, expresado en porcentaje, se obtuvo por medio de una termobalanza (Precisa® XM 60). Para cada formulación se utilizaron 3 g de polvo. Las mediciones se hicieron por triplicado.

### Densidad aparente

Esta propiedad se determinó de acuerdo con la metodología *Tapped density* descrita por Amidon *et al.* (2017), donde para cada formulación se utilizaron 2 g de polvo. Las mediciones se hicieron por triplicado.

### Elaboración de la bebida

Con base en las propiedades de los polvos evaluadas, se seleccionó la mejor formulación y con ella se elaboraron tres bebidas: B1, B2 y B3. Para esto, se tuvo en cuenta que, de comercializarse, la bebida vendría en una presentación de 200 ml y se buscaría que contuviera el 40% del Valor Diario de Referencia de Nutrientes (VRN) para la vitamina B1 y la vitamina B9. Debido a que la concentración de mentol en los polvos se considera suficiente para brindar al consumidor el sabor característico de la hierbabuena y la manzanilla, las cantidades de cápsulas usadas para cada formulación se mantuvieron bajas. Así, las bebidas elaboradas se presentan en la Tabla I. Para su proceso de obtención se utilizó un agitador mecánico (Heidolph® Hei-TORQUE® Value 400) a 300 RPM por 10 min.

**Tabla I.** Composición de las bebidas aromáticas funcionales elaboradas.

Compuesto	Bebida 1 (B1)	Bebida 2 (B2)	Bebida 3 (B3)
Polvos (g)	1	2	3
Vitamina B1 (mg)	0,46	0,46	0,46
Vitamina B9 (µg)	160	160	160
Stevia (2 gotas) (ml)	0,1	0,1	0,1
Agua (ml)	200	200	200
Total (ml)	200	200	200

### Análisis sensorial

Esta etapa se desarrolló con un panel sensorial conformado por 57 jueces inexpertos (consumidores), mayores de edad, seleccionados aleatoriamente. La prueba se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad de los Andes (Bogotá, Colombia) y se contó con el aval del comité de ética de la Facultad de Ingeniería. Los datos demográficos de los participantes muestran que el 53% de los encuestados fueron hombres y el 47% mujeres. El 72% tuvo entre 18-26 años, 23% entre 27-59 años y 5% 60 años o más. En cuanto al estrato socioeconómico, el 4% perteneció al estrato 2, 23% al 3, 61% al 4, 7% al 5 y 5% al 6. Adicionalmente, el 72% tenía estudios universitarios, mientras que el 28% alcanzó estudios secundarios. Por otra parte, se preguntó acerca de la frecuencia de consumo de infusiones de plantas y/o frutas y de bebidas alcohólicas. El consumo diario fue de 19% para las infusiones y 0% para las bebidas alcohólicas; semanal de 21% y 37% respectivamente; mensual de 5% y 16%; esporádico de 47% y 40%; y nulo de 7% para ambas bebidas.

Al momento de ejecutar el análisis sensorial, la hoja de cata se facilitó por medio de un formulario de Google Forms y las muestras se presentaron a cada juez de una en una y en orden aleatorio. A cada bebida se le asignó un código de 3 dígitos generado también aleatoriamente. Se realizó una prueba afectiva o prueba de aceptabilidad en escala hedónica, donde se evaluaron 3 atributos: aceptabilidad global, aroma y color (apariencia visual) de cada una de las tres bebidas formuladas, mediante el uso de una escala de nueve puntos (1 = me disgusta muchísimo; 9 = me gusta muchísimo). Adicionalmente, se les preguntó a los jueces su intención de consumo y compra de las bebidas y el valor que estarían dispuestos a pagar por ellas.

### Diseño experimental y análisis estadístico

Los resultados obtenidos en la caracterización de los polvos se analizaron por medio de un diseño experimental factorial  $2^2$ , donde las variables de respuesta fueron la solubilidad, humedad y densidad aparente y los factores que se variaron fueron la combinación de MP que cubre la matriz y las concentraciones de caseinato y proteína de soya con respecto al total del MP. Por otro lado, el análisis estadístico de los resultados recolectados para la evaluación de la bebida se hizo por medio de un análisis de la varianza (ANOVA) de un factor (atributo evaluado) con 3 niveles (B1, B2 y B3). Se hizo uso del software Minitab® teniendo en cuenta el criterio de la prueba Tukey con un nivel de confianza del 95%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Solubilidad

Serna-Cock *et al.* (2015) definen la solubilidad como la velocidad con la que los compuestos presentes en las partículas de polvo se disuelven en agua. Este es un factor de gran importancia a la hora de presentar al mercado un producto para reconstituir. Dependiendo de la facilidad que tenga un polvo para dispersarse en la fase líquida, se puede ver influenciada la decisión del consumidor sobre adquirir el producto. Debido a que se busca que esta propiedad sea cercana al 100%, se hace uso de materiales de pared que presenten altos porcentajes de solubilidad.

La Tabla II presenta los porcentajes de solubilidad obtenidos para cada formulación, donde se realizó la prueba de Tukey para este parámetro. Se observó que entre las formulaciones F1, F2 y F3 no hubo una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) para este atributo, al igual que entre F2, F3 y F4. Sin embargo, entre F1 y F4 si se pudo evidenciar una diferencia entre sus medias estadísticamente significativa. Se observó que F4 mostró la mejor solubilidad, mientras que F1 fue la menos soluble. En general, las formulaciones elaboradas con proteína de soya como material de pared fueron más solubles que aquellas elaboradas con caseinato. Además, se obtuvieron valores más altos de esta propiedad cuando la concentración del material de pared fue del 15% (p/p). La solubilidad

de los polvos depende de diversos factores: microestructura, densidad, tamaño de partícula, condiciones de operación del secador por atomización, humedad y, como ya se mencionó, la selección de un material de pared altamente soluble como lo es la maltodextrina, caseinato de sodio o proteína de soya y la concentración de estos. Generalmente, un polvo con baja higroscopicidad, bajo contenido en agua y una alta solubilidad es considerado un buen polvo (Jafari *et al.*, 2017). Basado en esta última característica, se podría considerar que el producto obtenido podría ser tentador para el mercado.

**Tabla II.** Resultados de las pruebas de caracterización de los polvos de mentol y luteolina.

Formulación	Material No.2	%p/p	Solubilidad (%)	Humedad (%)	Densidad (g/ml)
F1	Caseinato	10	97,73 <sup>b</sup> (0,76)	2,69 <sup>a</sup> (0,53)	0,250 <sup>b</sup> (0,020)
F2	Proteína	10	98,07 <sup>a b</sup> (0,50)	2,71 <sup>a</sup> (0,21)	0,302 <sup>a</sup> (0,046)
F3	Caseinato	15	97,99 <sup>a b</sup> (0,20)	3,11 <sup>a</sup> (1,42)	0,248 <sup>b</sup> (0,07)
F4	Proteína	15	98,29 <sup>a</sup> (0,29)	2,78 <sup>a</sup> (1,28)	0,291 <sup>a b</sup> (0,038)

Los valores entre paréntesis representan la desviación estándar.

\*Para una misma columna letras diferentes indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba Tukey ( $p < 0,05$ ).

## Humedad

Este parámetro suele utilizarse como un índice de estabilidad del producto; por ello, el contenido de humedad de los alimentos es de gran interés. Se entiende como humedad a la cantidad de agua presente en un medio y que puede influir en la conservación o resistencia al deterioro de los productos (Bianco *et al.*, 2014). Para alimentos granulados, un alto porcentaje de humedad indica que las fuerzas de cohesión entre las partículas son mayores, fenómeno que puede afectar la velocidad de dispersión de estos (Gómez Arciniegas, 2016).

Los valores de esta propiedad para cada formulación se muestran en la Tabla II, donde puede verse que F3 presenta el mayor porcentaje de humedad mientras que F1 el menor. Sin embargo, al realizar el análisis estadístico por medio de la prueba de Tukey, se puede evidenciar que las 4 formulaciones no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre sí. En términos generales, se observa que, para obtener porcentajes de humedad más bajos, es mejor que la concentración de caseinato de sodio y proteína de soya sea del 10% (p/p). Por otro lado, usar maltodextrina como parte del material de pared puede acarrear que se presenten valores de humedad más altos debido a que esta podría tener un contenido alto de dextrosa. Las maltodextrinas con alto contenido de dextrosa presentan un mayor número de ramificaciones con grupos hidrófilos y, por ello, las moléculas de agua del ambiente pueden adherirse más fácilmente a los polvos (Martínez Iturralde, 2015). Aun así, las cuatro formulaciones presentan valores bajos de humedad, lo cual contribuye a una buena estabilidad del producto. Por último, si se toma la leche en polvo como referencia, se sabe que para esta el porcentaje de humedad tiene un límite superior de 4% (Augustin & Margetts, 2003). Al comparar este porcentaje con el obtenido en los polvos estudiados, se observa que estos están dentro del rango común para este tipo de productos.

## Densidad aparente

Es importante recalcar que esta no es una propiedad intrínseca del polvo puesto que puede variar conforme la manipulación de estos (Brady, 1984). En la Tabla II se muestran los resultados obtenidos para cada formulación. Al realizar la prueba de Tukey, se pudo observar como las formulaciones F1, F3 y F4 no presentaron medias significativamente diferentes entre sí ( $p > 0,05$ ), al igual que las formulaciones F2 y F4. Por otra parte, F1, F2 y F3 sí presentaron una diferencia estadísticamente significativa para este parámetro. Se observa que las formulaciones que contenían caseinato presentaron una menor densidad que aquellas con proteína de soya. Esta propiedad es útil para calcular otros parámetros como la porosidad y así conocer la fluidez que tendrían los polvos, ya que indica la cohesividad que presentan. Así, si se tiene un producto muy cohesivo no será fácil que se disperse en el medio, lo

cual afectaría la velocidad de disolución. Si el material es poroso, este tendrá un mayor contacto con el medio facilitando así la dispersión de los polvos en la solución (Martínez Iturralde, 2015).

### Análisis sensorial de la bebida aromática funcional

La Fig. 1 muestra las 3 formulaciones de bebidas elaboradas y la forma en la que fueron presentadas a los consumidores durante el desarrollo de la evaluación sensorial. Analizando los resultados de las propiedades evaluadas para los polvos y, dando prioridad a la solubilidad, la mejor formulación para la elaboración de la bebida fue F2 (maltodextrina + proteína de soya al 10% p/p). Por ello, el análisis sensorial se llevó a cabo con 3 formulaciones de bebidas que contenían estos polvos en diferentes cantidades. Ahora bien, en primer lugar, se evaluó el color. La Tabla III presenta la prueba de Tukey para este parámetro. Se observa que en este aspecto las 3 bebidas no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en el color. A pesar de que la tonalidad de las bebidas muestra un cambio considerable debido a su diferencia en concentración de polvos, especialmente entre B1 y las otras dos, este no fue un factor de peso, estadísticamente hablando, sobre la preferencia de los consumidores. Si bien no hubo diferencias representativas en las medias de esta propiedad, la bebida 2 obtuvo la mejor puntuación (6,96), seguido de la bebida 3 (6,89) y, por último, la bebida 1 (6,70) sugiriendo que una mayor cantidad de polvo tiende a originar mejores puntuaciones en el color de las bebidas.



**Figura 1.** Presentación de las bebidas a los jueces durante el análisis sensorial.

Por otra parte, se evaluó el aroma de las bebidas. La prueba Tukey (Tabla III) mostró que entre B1 y B3 no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) para este atributo; mientras que B2 presentó los puntajes en aroma significativamente más altos ( $p < 0,05$ ). Los resultados evidencian una notoria diferencia entre la media de la puntuación de la bebida 2 (6,63) y las medias de las bebidas 1 (5,79) y 3 (5,82). Cabe destacar que algunos encuestados expresaron que no lograban percibir olor alguno en B1, razón por la cual esta fue la que menor calificación obtuvo.

**Tabla III.** Resultados de la prueba Tukey para propiedades de la bebida evaluadas en el análisis sensorial.

Bebida	Aroma	Color	Aceptabilidad General
1	5,789 <sup>b*</sup> (0,475)	6,632 <sup>a</sup> (0,443)	6,491 <sup>a</sup> (0,393)
2	6,632 <sup>a</sup> (0,474)	6,965 <sup>a</sup> (0,443)	6,772 <sup>a</sup> (0,393)
3	5,825 <sup>b</sup> (0,474)	6,895 <sup>a</sup> (0,443)	6,404 <sup>a</sup> (0,393)

Los valores entre paréntesis representan la desviación estándar.

\*Para una misma columna letras diferentes indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba Tukey ( $p < 0,05$ ).

Por último, se evaluó la aceptabilidad global de las bebidas. A pesar de haberse obtenido diferencias estadísticamente significativas en las medias de la puntuación para el aroma de las bebidas, esa propiedad no influyó estadísticamente ( $p > 0,05$ ) en la aceptabilidad global de las 3 formulaciones tal y como se observa en la Tabla III. Si bien no hubo diferencias representativas en las medias de dos de los atributos evaluados, la bebida 2 fue la que obtuvo las puntuaciones más altas en las 3 propiedades evaluadas. Adicionalmente, cuando se les preguntó a los encuestados sobre cuál o cuáles de las bebidas evaluadas estarían dispuestos a consumir, el 95% afirmó que consumiría alguna de las tres, mientras que el 5% ninguna. En este caso, B2 también presentó mayor preferencia ya que el 53% de los encuestados la consumiría; mientras que el 44% del total de jueces consumiría las bebidas 1 y 3.

Las personas que afirmaron no tener disposición para consumir alguna de las bebidas mencionaron que su decisión se debió a que visualmente no lucen agradables por la turbidez que presentan. Aquellos que prefirieron únicamente B1, lo hicieron en su mayoría por su color claro que se asemeja más a una bebida aromática y su olor suave que no se siente penetrante. Por su parte, los que decidieron elegir solamente a B2 justificaron que esta brinda un balance entre un color no tan claro, pero tampoco turbio, y un aroma agradable que se percibe fácilmente, pero sin llegar a ser molesto. En el caso de B3, la preferencia por ella se basó en su concentración, ya que para varios evaluadores entre más intenso fue el color y el aroma, mejor fue la bebida. Finalmente, los participantes respondieron cuánto estarían dispuestos a pagar por una presentación de las bebidas de 200 ml, independientemente de la formulación. La mayoría de los encuestados (81%) pagaría entre 1.000 COP y 3.000 COP, el cual es un valor que les resulta cómodo y acorde con el precio de las bebidas que actualmente se ofrecen en el mercado.

### CONCLUSIÓN

Se observó que las cuatro formulaciones de polvos obtuvieron valores de solubilidad considerablemente altos y prometedores al querer reconstituir estas cápsulas en agua. Además, las cápsulas presentaron valores de humedad bajos, los cuales son ideales para productos instantáneos y, a su vez, se pueden considerar seguros en una primera instancia por el hecho de que presentan bajas probabilidades de crecimiento de microorganismos. Respecto a la densidad aparente no se encontraron variaciones entre las formulaciones, aunque las formulaciones que presentaron una menor densidad fueron aquellas preparadas con caseinato como material de pared en vez de proteína de soya.

El análisis sensorial realizado evidenció que una bebida formulada con 2 g de polvos de la formulación F2 (maltodextrina + proteína de soya al 15% p/p) presenta buena aceptabilidad por parte de los consumidores ya que su color y aroma fueron considerados agradables y equilibrados. Los resultados muestran un buen potencial para la bebida aromática funcional como producto nuevo en el mercado debido a que la mayoría de los encuestados afirmaron estar dispuestos a consumirla y adquirirla. Asimismo, se impulsaría el interés de los consumidores por este producto ya que se vio que existe una alta frecuencia de consumo de infusiones herbales. Los resultados sugieren un alto potencial en los polvos formulados al momento de desarrollar un nuevo producto que sea innovador, de fácil consumo, amigable con el ambiente y que pueda comercializarse como una bebida aromática instantánea o preparada en el mercado.

### BIBLIOGRAFÍA

Amidon, G., Meyer, P. J., & Mudie, D. M. (2017). Particle, Powder, and Compact Characterization. *Developing Solid Oral Dosage Forms*, 271–293. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-802447-8.00010-8>

## Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

- Augustin, M., & Margetts, C. (2003). POWDERED MILK | Milk Powders in the Marketplace. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 4694–4702.
- Berdonces, J. L. (2003). Historia de la fitoterapia. *Natura Medicatrix*, 21(3), 142–152.
- Bianco, H., Capote, T., & Garmendia, C. (2014). Determinación de humedad en harina precocida de maíz blanco utilizando un horno de microondas doméstico. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 45(2).
- Brady, N. C. (1984). *The Nature and Properties of Soils* (9th ed.). Macmillan Publishers.
- Cardona, J. O., & Barrientos F., J. C. (2011). Producción, uso y comercialización de especies aromáticas en la región Sumapaz, Cundinamarca. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 5(1), 114–129.
- Castro M., M. J., Ricaurte C., C. E., & Quijano Parra, A. (2005). Determinación de metales en las estructuras del diente de león (*taraxacum officinalis weber*) hierbabuena (*mentha piperita*) y manzanilla (*matricaria chamomilla*). *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 3(1), 38–44.
- Euromonitor International. (2021, enero). Tea in Colombia. Passport. <https://www-portal-euromonitor-com.ezproxy.uniandes.edu.co:8443/portal/analysis/tab>.
- Fretes, F. (2010). Plantas medicinales y aromáticas-Una alternativa de producción comercial. USAID. [https://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1862/plantas\\_medicinales.pdf](https://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1862/plantas_medicinales.pdf).
- Gómez Arciniegas, J. (2016). Caracterización Granulométrica de un Producto Comercial en Polvo (Suplemento Dietario) y Evaluación de la Capacidad de Dispersión en Agua. UNIVERSIDAD ICESI.
- Hernandez, L. M., Xu, E. G., Larsson, H. C. E., Tahara, R., Maisuria, V. B., & Tufenkji, N. (2019). Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea. *Environmental Science & Technology*, 53(21), 12300–12310.
- ICA. (2011). Plantas Aromáticas y Medicinales Enfermedades de importancia y sus usos terapéuticos - Medidas para la temporada invernal. Produmedios. <https://www.ica.gov.co/getattachment/2c392587-f422-4ff5-a86f-d80352f0aa11/Plantas-aromaticas-y-medicinales-Enfermedades-de.aspx>.
- Jafari, S. M., Ghalegi Ghalenoei, M., & Dehnad, D. (2017). Influence of spray drying on water solubility index, apparent density, and anthocyanin content of pomegranate juice powder. *Powder Technology*, 311, 59–65.
- Julienne, F., Delorme, N., & Lagarde, F. (2019). From macroplastics to microplastics: Role of water in the fragmentation of polyethylene. *Chemosphere*, 236, 1–8.
- Lee, N., Kim, S., & Lee, J. (2020). Valorization of waste tea bags via CO<sub>2</sub>-assisted pyrolysis. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*, 44, 1–6.
- Martínez Iturralde, A. (2015). Efecto de la maltodextrina y la temperatura sobre kiwi deshidratado por atomización. Universidad Pública de Navarra.
- Ministerio de la Protección Social. (2008). *Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales*. Arte y Sistemas Integrados Ltda.
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2013). Estrategia nacional de respuesta integral frente al consumo de alcohol en Colombia. Minsalud. Recuperado noviembre de 2021, de <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ENT/estrategia-nacional-alcohol-colombia.pdf>.



## Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

- Moreno Otero, R., & Cortés, J. R. (2018). Nutrición y alcoholismo crónico. *Nutrición Hospitalaria*, 23(2), 3–7.
- Organización Panamericana de la Salud. (2018). Informe sobre la situación mundial del alcohol y la salud 2018. PAHO. Recuperado noviembre de 2021, de [https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51352/OPSNMH19012\\_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51352/OPSNMH19012_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Prata, J. C., da Costa, J. P., Lopes, I., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. (2019). Environmental exposure to microplastics: An overview on possible human health effects. *Science of The Total Environment*, 702, 1–8.
- RAE. (s. f.-a). infusión | Diccionario de la lengua española. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario. Recuperado 1 de octubre de 2021, de <https://dle.rae.es/infusi%C3%B3n>.
- RAE. (s. f.-b). tisana | Diccionario de la lengua española. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario. Recuperado 1 de octubre de 2021, de <https://dle.rae.es/tisana>.
- Ratner, R. (2017). Déficit de vitamina B. *Nutrición y Salud*, 70–73.
- Serna-Cock, L., Torres-León, C., & Ayala-Aponte, A. (2015). Evaluación de Polvos Alimentarios obtenidos de Cáscaras de Mango (*Mangifera indica*) como fuente de Ingredientes Funcionales. *Información tecnológica*, 26(2), 41–50.
- Tovar, C. D. G., & Ospina, J. D. (2015). Cadena de valor de plantas aromáticas, medicinales y condimentarias. Editorial Bonaventuriana-Universidad de San Buenaventura.
- Tsochatzis, E. D., Alberto Lopes, J., Kappenstein, O., Tietz, T., & Hoekstra, E. J. (2020). Quantification of PET cyclic and linear oligomers in teabags by a validated LC-MS method – In silico toxicity assessment and consumer’s exposure. *Food Chemistry*, 317, 1–10.

## Desarrollo de snacks a base de fruta, fortificados con calcio mediante impregnación a vacío

C.O. Morales<sup>1</sup>, J.C. Sánchez<sup>1\*</sup> y M. Hernández-Carrión<sup>1</sup>

Departamento de Ingeniería Química y de Alimentos, Grupo de Diseño de Productos y Procesos (GDPP), Universidad de los Andes, Carrera. 1 # 18<sup>a</sup>-12, La Candelaria, C.P. 111711, Bogotá D.C., Cundinamarca, Colombia.

\* [jc.sanchez@uniandes.edu.co](mailto:jc.sanchez@uniandes.edu.co)

### RESUMEN:

A lo largo del tiempo, Colombia ha sufrido problemas en el marco socioeconómico, los cuales han impactado en el bienestar nutricional de un sector significativo de la población, particularmente los niños y mujeres en estado de gestación, siendo contrastantes con los altos índices de biodiversidad del país. A raíz de esto, se decidió llevar a cabo el desarrollo de un snack a partir de frutas de la región (carambolo, pitahaya y manzana), presentando así una alternativa viable para minimizar la existente brecha nutricional. Se llevó a cabo una fortificación con calcio a través de una impregnación a vacío y se obtuvo su índice de biodisponibilidad. La pitahaya, siendo el fruto con una mayor porosidad en su matriz, presentó el mayor índice de biodisponibilidad (60.89%). También se realizaron caracterizaciones fisicoquímicas de los snacks, de las cuales se concluye que no se presentaron cambios físicos notables en los mismos luego de ser sometidos a la impregnación. Además, las cifras promedio de pH (2.8–3.7) y °Brix (12.9–17.9) dan evidencia de niveles adecuados de estabilidad. Los resultados sugieren que es posible desarrollar un producto con alto valor agregado que ayudaría a suplir los requerimientos mínimos diarios de calcio y comercialmente escalable.

**Palabras clave:** Desnutrición, fortificación, impregnación, biodisponibilidad, propiedades organolépticas

### ABSTRACT:

Over time, Colombia has suffered from problems related to the socio-economic framework, which have had an impact on the nutritional well-being of a significant segment of the population, particularly children and pregnant women, being those problems contrasting with the country's high biodiversity indexes. For this reason, a snack made with typical fruits of the region (star fruit, pitahaya, and apple) was developed, thus presenting a viable alternative to minimize the existing nutritional gap. A fortification, with calcium, was carried out through vacuum impregnation and its bioavailability index was determined. Pitahaya presented the highest bioavailability index (60.89%) related to its greater porosity. Furthermore, physicochemical characterizations were performed. Results showed that there were non-significant physical changes in the snacks after impregnation. In addition, the mean values of pH (2.8-3.7) and ° Brix (12.9-17.9) give evidence of adequate levels of stability. The results suggest that it is possible to develop a product with high added value that would help to supply the minimum daily requirements of calcium and that is commercially scalable.

**Key words:** malnutrition, fortification, impregnation, bioavailability, organoleptic properties

### INTRODUCCIÓN

Colombia es conocida como uno de los países cuya variedad de especies bióticas presenta mayor pluralidad en el mundo (Rangel, 2005). Actualmente, se estima que hay una variedad de aproximadamente 400 frutos o semillas endémicas en el territorio nacional (Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt, 2019). Sin embargo, aunque Colombia ha sido, en términos de flora, un país privilegiado, la rampante desigualdad socioeconómica que aqueja el país ha causado notables problemas de desnutrición que han afectado las poblaciones más vulnerables, en especial los niños y las mujeres en estado de gestación (Serpa *et al.*, 2016).

A nivel nutricional, el calcio se presenta como uno de los micronutrientes más importantes para la salud humana.

Entre sus funciones se encuentra fortalecer y mantener adecuadamente la consistencia ósea y dental del cuerpo (Barrera *et al.*, 2009). No obstante, este micronutriente presenta déficit en países en vía de desarrollo, esto debido a que en estos países su consumo estimado se encuentra entre el 25-33% del total requerido diario (Pettifor, 2008), basado en el requerimiento mínimo recomendado por persona de 1g/día (García-Casal *et al.*, 2013).

En la actualidad existen estudios que demuestran el mejoramiento de la calidad nutricional de las frutas, cuando son fortificadas con calcio, aumentando su valor nutricional (Anino *et al.*, 2006). Además, fortificar las frutas con calcio puede prevenir el ablandamiento de la matriz durante el procesamiento, debido a la formación de puentes de calcio entre el ácido carboxílico urónico y la pectina del fruto (Vicente *et al.*, 2007). A favor de estos beneficios se han desarrollado varias técnicas cuya finalidad radica en la fortificación y/o conservación de los alimentos, entre las cuales se encuentra la impregnación a vacío (Faicán *et al.*, 2018).

Actualmente, el mercado de frutas endémicas abarca un 36% del total del mercado, cuyo valor en el último año fue de US\$4.483M (Ministerio de Agricultura Colombia, 2020). El carambolo (*Averrhoa carambola* L.) es un fruto llamativo debido a su aroma y forma de estrella (Gonzales *et al.*, 2001). Además, presenta un contenido de calcio promedio de 33.95mg/100g de pulpa (Cubillos & Isaza, 1999). La pitahaya se caracteriza por su alta capacidad antioxidante y alto contenido en fibra (Luu, 2021). Además, contiene proteína (10.0 – 12.1 g/100g), fibra (7.8– 8.1 g /100g), potasio, calcio (6.72 mg/100 g), magnesio, sodio, hierro y zinc. Por último, la manzana se encuentra entre las 10 frutas más consumidas en Colombia, con un total de 2.27 kg per cápita anual (Ministerio de Salud. 2018). Su porosidad y baja tasa de deformación bajo condiciones de vacío, la hacen ideal para ser sometida a impregnación (Carciofit *et al.*, 2012). Además, es considerada como una buena fuente de minerales esenciales: sodio (54.5 mg/100g), potasio (936 mg/100g), calcio (15.74 mg/100g), magnesio (17.37 mg/100g) (Pushendra *et al.*, 2018).

Pese a que el mercado agropecuario en Colombia se encuentra en continuo crecimiento, no se ha documentado la existencia de estudios que evalúen la biodisponibilidad de micronutrientes en frutas endémicas. Por este motivo, el objetivo de esta investigación fue desarrollar y caracterizar snacks de carambolo, pitahaya y manzana fortificadas con calcio mediante impregnación a vacío.

## MATERIALES Y MÉTODOS

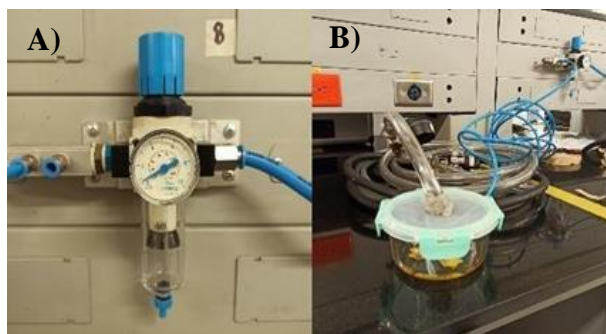
### 1. Materiales

Para la formulación de los snacks se adquirieron carambolo, pitahaya y manzana en estado de maduración fisiológica en un supermercado local (Bogotá, Colombia). La fruta se lavó, peló manualmente y se cortó en tajadas de 2 mm. Para la fortificación, se empleó cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ , Merck, 99.5%) a una concentración de 20 g/L de acuerdo con la metodología descrita por Mateus *et al.* (2016).

### 2. Métodos

#### 2.1 Acondicionamiento de las frutas e impregnación a vacío.

Previo a la impregnación a vacío, las frutas se deshidrataron en un horno de convección (ISOCIDE™-Esco Isotherm) a 60°C durante 6 horas. A continuación, se tomaron 40 g de fruta deshidratada, se colocaron en una trampa de vacío creada manualmente haciendo uso de refractarias circulares con cierre hermético de 600 mL de capacidad y conectadas a una bomba Festo® (Fig 1A y 1B). Se tomaron 50 mL de solución isotónica y se aplicó una presión de vacío de 88kPa (0.1 bar) por 15 min. Se restauró la presión y se dejó reposar el sistema por 10 min. Las muestras se almacenaron en refrigeración (4°C) hasta su análisis.



**Figura 1.** Trampa de vacío. A) Indicador de presión de vacío, B) Montaje completo

## 2.2 Análisis fisicoquímico

La ganancia de peso de los snacks se evaluó por diferencia de peso, antes y después de la impregnación. La humedad se determinó haciendo uso de una termobalanza (Precisa, XM 60). El pH se midió en los snacks licuados después de la impregnación haciendo uso de un multiparámetro (Mettler Toledo, Seven Multi). Los °Brix de los snacks, se midieron haciendo uso de un refractómetro (Atago®, PAL-BX/RI). Todas las mediciones se hicieron por duplicado a temperatura ambiente (23°C).

### 2.2.1. Análisis de las propiedades organolépticas

Para el análisis de la textura se utilizó un texturómetro (TA.HD *plus C* texture Analyser). Para la prueba de punción se utilizó una sonda P/2N de 2 mm de diámetro a una velocidad de 0.5 mm/seg y una profundidad de penetración del 10% respecto al grosor del snack. Para la medición de la resistencia de cizalla se utilizó una sonda HDP/BS a una velocidad de 0.5 mm/seg y una distancia de 65 mm.

Se analizó el color de los snacks haciendo uso de un colorímetro (CR-20) utilizando un observador a 10° e iluminante estándar D65. Se utilizaron las coordenadas CIELAB para la determinación de los parámetros L\*, a\* y b\*. El croma (C<sub>ab</sub>\*), tono (h<sub>ab</sub>) y diferencia global de color ( $\Delta E$ ), respecto al fruto fresco, se calcularon de acuerdo con la metodología descrita por Rao *et al.* (2005).

### 2.2.2. Determinación de biodisponibilidad

El modelo de digestión *in vitro* se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Amaya *et al.* (2021). La concentración de calcio presente en cada uno de los snacks después del proceso de impregnación se evaluó haciendo uso de un espectrofotómetro (Thermo scientific, Genesys 10S UV-Vis) a una longitud de onda de 575 nm (Barrera *et al.* 2009). Para la obtención de la recta de calibrado ( $y = 0.3092x - 0.2984$ ;  $R^2 = 0.9227$ ), se emplearon diferentes disoluciones de calcio (0.5 M – 3M). La biodisponibilidad del calcio asociado a los snacks formulados, se calculó mediante la comparación de su concentración antes y después del proceso de impregnación.

### 2.2.3. Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados utilizando el software Minitab®. Cada propiedad se midió por duplicado para cada fruto antes y después de la impregnación. El análisis de varianza de un factor (ANOVA) y la prueba de Tukey se utilizaron para determinar la existencia de diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las medias.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Análisis fisicoquímico

#### 1.1 Análisis Físico

De acuerdo con los valores expuestos en la Tabla 1, se observó un aumento generalizado en el peso de las muestras una vez llevado a cabo el proceso de impregnación. Se encontró que la ganancia de peso para el carambolo (81.9%) y la manzana (184.0%) fue mayor que aquella evidenciada en la pitahaya (23.5%) siendo la pitahaya la que presentó un peso significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) al carambolo y la manzana. No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en la humedad de los frutos posterior al proceso de impregnación, lo cual sugiere un factor de absorción del agente de impregnación independiente al contenido de humedad inicial del fruto. Dicho resultado es favorable ya que la humedad promedio del snack, independientemente del fruto, siguió un estándar replicable.

Teniendo en cuenta que la porosidad es un factor que influye de manera directa en los porcentajes de humedad de las frutas y con base en los distintos estudios realizados para determinar la porosidad de los frutos, se reporta, para los niveles de humedad expuestos en la tabla 1, una porosidad de 50.3% para el carambolo, 60.0% para pitahaya y 40.0% para manzana (Aremua & Akinoso, 2014; Senero *et al.*, 2007; Shafiee, 2009). Lo anterior demuestra que el porcentaje de porosidad presenta de manera generalizada una correlación positiva con el contenido de humedad del fruto, en donde a mayor porosidad se evidencia un mayor nivel de humedad. Sin embargo, este comportamiento es independiente para cada fruto ya que dos frutas pueden presentar distintos niveles de humedad teniendo el mismo porcentaje de porosidad.

## 1.2 Análisis Químico

Los resultados expuestos en la Tabla I muestran un pH de carácter ácido y la presencia importante de sólidos en disolución en cada uno de los snacks. Basados en los estudios llevados a cabo por Kaddumukasa *et al.* (2017) la proliferación de microorganismos mesófilos se favorece en ambientes con pH cercano al neutro, mientras que a pH ácidos su proliferación es limitada a organismos cuyo hábitat natural difiere de los frutos (Tupikina *et al.*, 2013). Por otra parte, valores elevados de °Brix demuestran la ausencia de microorganismos cuya actividad metabólica incurre en la degradación de los compuestos presentes en la fruta, logrando así degradarla (Kaddumukasa *et al.*, 2017). Lo anterior corrobora la favorabilidad en la vida útil del snack posterior a su procesamiento.

**Tabla I.** Propiedades físicas de los frutos antes y después del proceso de impregnación

Propiedad	Estado	Carambolo	Pitahaya	Manzana
Peso	Seco	8.36 <sup>b</sup> ± 1.30	18.31 <sup>a</sup> ± 0.28	5.48 <sup>b</sup> ± 0.63
	Fortificado	15.21 <sup>b</sup> ± 1.21	22.63 <sup>a</sup> ± 0.35	15.60 <sup>b</sup> ± 1.60
Humedad	Seco	26.45 <sup>b</sup> ± 0.01	29.24 <sup>a</sup> ± 0.03	38.14 <sup>c</sup> ± 0.01
	Fortificado	74.39 <sup>a</sup> ± 0.03	68.05 <sup>a</sup> ± 0.03	77.86 <sup>a</sup> ± 0.03
pH	Fortificado	3.17 <sup>a, b</sup> ± 0.00	3.68 <sup>a</sup> ± 0.31	2.85 <sup>b</sup> ± 0.03
° Brix	Fortificado	12.85 <sup>a</sup> ± 0.35	17.85 <sup>a</sup> ± 0.31	13.25 <sup>a</sup> ± 0.03

Para una misma fila, valores que no contienen la misma letra presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) en sus medias, de acuerdo con el test de Tukey.

## 2. Análisis organoléptico

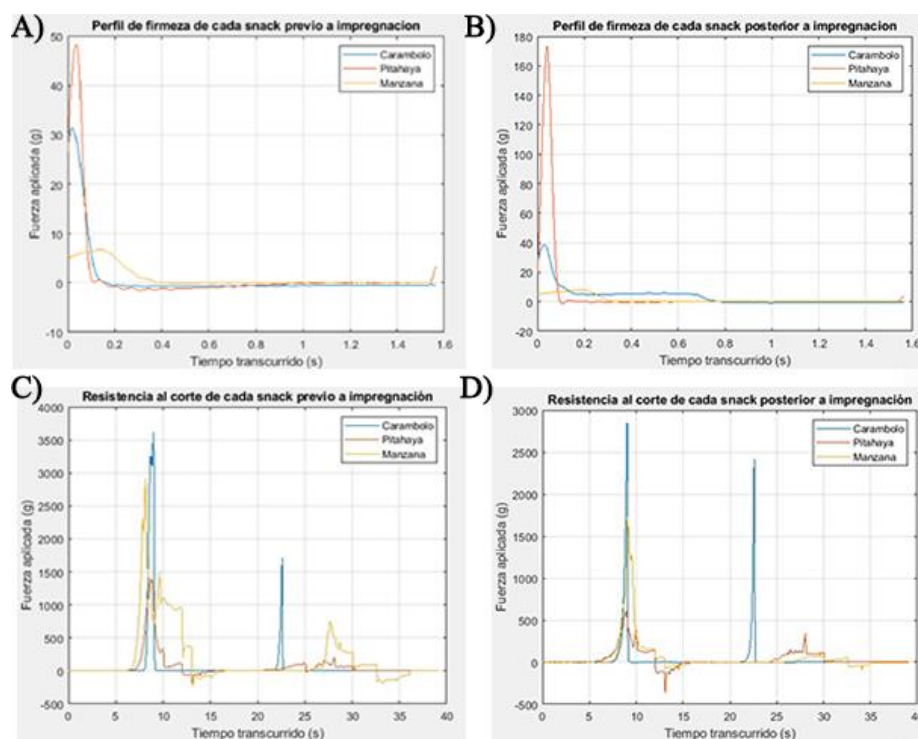
### 2.1 Firmeza

La firmeza aumentó tras el proceso de impregnación (Fig 2A, 2B) para todos los frutos. El carambolo aumentó su firmeza promedio en un 23% pasando de 31.32 g a 38.64 g. La pitahaya presentó un aumento en su firmeza del 259%, pasando de un valor promedio de 48.26 g a 173.20 g, siendo este el valor más alto. Finalmente, la manzana aumentó su firmeza media pasando de 6.77 g a 8.05 g, presentando un crecimiento del 19%. Siendo la firmeza un

factor que va disminuyendo durante la maduración o almacenamiento en frío (Valero *et al.*, 2007), se comprueba el resultado de Vicente *et al.* (2007), referente a la prevención del ablandamiento de la matriz debido a la interacción del calcio con el ácido carboxílico urónico presente en el fruto.

## 2.2 Resistencia al corte

Una vez llevado a cabo el proceso de secado y antes de la impregnación, el snack sufre de una disminución de su volumen debido a la contracción de los poros presentes en su matriz, consecuencia de la pérdida generalizada de agua. Debido a esto, se produce un aumento en la rigidez de las muestras (Contreras, 2006), el cual se evidencia en los perfiles de resistencia al corte (Fig. 2C) previo al proceso de impregnación. Este alto nivel de rigidez requiere que se ejerza una mayor fuerza cortante al momento de atravesar el snack.



**Figura 2.** Perfiles de firmeza (A, B) y resistencia al corte (C, D) antes (A, C) y después de la impregnación (B, D) de los frutos

Por otra parte, las muestras impregnadas (Fig. 2D) muestran una disminución en su rigidez debido a la ganancia de agua derivando en un aumento en el tamaño de sus poros (Barat *et al.*, 2001), comparada con las muestras sin impregnar. Como consecuencia, el snack adquiere una textura más maleable requiriendo así una menor fuerza cortante. Lo anterior coincide con los resultados obtenidos para los snacks para los cuales se presentó una variación en el valor medio de resistencia al corte de 3619.7 g a 2846.8 g para el carambolo (disminución de 21%), de 1388.9 g a 606.2 g para la pitahaya (disminución de 56%) y de 2906.8 g a 1729.7 g para la manzana (disminución de 40%). El comportamiento evidenciado para la firmeza y la resistencia al corte es acorde a los resultados documentados por Shen (2017) en su estudio sobre la influencia de la impregnación al vacío de pectinmetilesterasa en las propiedades organolépticas del mango en el cual el fruto, después de ser impregnado, presentó un aumento en la firmeza y una disminución en la resistencia al corte sin perder la calidad de sus propiedades organolépticas.

## 2.3 Colorimetría

### 2.3.1 Croma y tono

Se evaluaron las coordenadas L\* (luminosidad), a\* (variación color rojo-verde) y b\* (variación color amarillo-azul), previo y posterior al proceso de impregnación. En la Tabla II se evidencia como para el carambolo los parámetros L\* y b\* presentaron una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) derivando en un aumento de su luminosidad y un incremento hacia la tonalidad amarilla tras el proceso de impregnación. Por otro lado, la pitahaya presentó diferencias significativas tras la impregnación solamente en el parámetro b\*, lo que representa una disminución de la tonalidad amarilla. Finalmente, la manzana presentó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) tras la impregnación en L\* y a\* con tendencias a aumentar su luminosidad y disminuir la tonalidad amarilla. En contraparte, el parámetro b\* indicó un aumento despreciable de la tonalidad rojiza.

Respecto al croma, el carambolo y la manzana registraron los valores significativamente más altos mientras que la pitahaya presentó los significativamente más bajos ( $p < 0.05$ ). Por otro lado, el proceso de impregnación no afectó significativamente a este parámetro lo que indica una tendencia a mantener la naturaleza viva de los colores de estos frutos (Padrón *et al.* 2012). De acuerdo con los valores de  $h_{ab}$ , los cuales indican el ángulo en el círculo cromático, respecto al eje que describe la coordenada a\*, se confirma la naturaleza de la tonalidad de cada color, previamente descrito siendo la pitahaya la única fruta con una tonalidad significativamente diferente a las demás.

### 2.3.2 Variación global del color

Los resultados mostrados en la Tabla II permiten afirmar que el proceso completo de fortificación no generó cambios de color en el snack obvios para al ojo humano ( $1 < \Delta E^* < 4$ ) (Rao *et al.*, 2015). Teniendo en cuenta que para fortificar el fruto este es sometido a un secado y posteriormente rehidratado a través de la impregnación a vacío, se puede afirmar que el color del snack no se vio afectado por el proceso ya que no presentó diferencias apreciables con respecto a las frutas frescas. Pese a que no se evidencian diferencias significativas en las medidas de los valores de cambio de color en los tres snacks ( $p > 0.05$ ), la manzana presentó el menor cambio entre los tres; mientras que el carambolo fue el que presentó la variación de color más alta.

**Tabla 2.** Coordenadas CIELAB y propiedades colorimetría, según estado, por fruto.

	Estado	Carambolo	Pitahaya	Manzana
L*	Seco	31.98 <sup>b</sup> $\emptyset$ $\pm$ 5.40	31.71 <sup>b</sup> $\pm$ 10.09	58.22 <sup>a</sup> $\emptyset$ $\pm$ 5.90
	Fortificado	42.35 <sup>b</sup> $\pm$ 3.01	23.40 <sup>c</sup> $\pm$ 5.67	68.21 <sup>a</sup> $\pm$ 4.02
a*	Seco	9.62 <sup>a</sup> $\pm$ 0.99	-0.03 <sup>b</sup> $\pm$ 0.75	8.76 <sup>a</sup> $\emptyset$ $\pm$ 0.91
	Fortificado	8.52 <sup>a</sup> $\pm$ 0.72	0.23 <sup>c</sup> $\pm$ 2.28	5.15 <sup>b</sup> $\pm$ 1.67
b*	Seco	19.36 <sup>c</sup> $\emptyset$ $\pm$ 3.22	3.53 <sup>c</sup> $\emptyset$ $\pm$ 2.37	26.51 <sup>a</sup> $\pm$ 0.78
	Fortificado	31.25 <sup>a</sup> $\pm$ 2.32	0.47 <sup>b</sup> $\pm$ 0.64	28.7 <sup>a</sup> $\pm$ 4.66
C <sub>ab</sub> *	Seco	21.70 <sup>b</sup> $\pm$ 2.62	3.60 <sup>c</sup> $\pm$ 2.35	27.93 <sup>a</sup> $\pm$ 0.62
	Fortificado	31.89 <sup>a</sup> $\pm$ 3.05	2.07 <sup>b</sup> $\pm$ 1.91	29.17 <sup>a</sup> $\pm$ 4.87
h <sub>ab</sub> (°)	Seco	63.06 <sup>b</sup> $\pm$ 5.70	97.52 <sup>a</sup> $\pm$ 14.60	71.70 <sup>b</sup> $\pm$ 2.09
	Fortificado	73.67 <sup>b</sup> $\pm$ 1.10	135.50 <sup>a</sup> $\pm$ 29.4	80.07 <sup>b</sup> $\pm$ 1.93
$\Delta E$	Fortificado	4.38 <sup>a</sup> $\pm$ 1.34	3.36 <sup>a</sup> $\pm$ 0.96	2.88 <sup>a</sup> $\pm$ 1.00

Para una misma fila, valores que no contienen la misma letra presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) en sus medias, de acuerdo con el test de Tukey. Aquellos valores con el símbolo  $\emptyset$  presentan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en sus medias, previo y posterior a impregnación, de acuerdo con la prueba de múltiple rango de Tukey.

### 3. Biodisponibilidad de calcio (Ca<sup>2+</sup>)

Los resultados del proceso de digestión *in vitro* de cada uno de los snacks muestran que el índice de biodisponibilidad del calcio para el snack de carambolo fue de 35.27%, para la pitahaya de 60.89% y para la

manzana de 36.84%. No se presentaron diferencias significativas entre los índices de biodisponibilidad del calcio para el carambolo y la manzana, sin embargo, la pitahaya presentó un índice de biodisponibilidad significativamente mayor. Los resultados muestran un elevado potencial de desarrollo de snacks fortificados, con las frutas evaluadas, ya que posterior al proceso de impregnación se logra obtener una biodisponibilidad de calcio entre el 35% y 61% del valor máximo diario de ingesta recomendado. Lo anterior unido al hecho de que el proceso de impregnación no requiere de un alto costo económico permitiría la obtención de un producto accesible para las poblaciones vulnerables.

### CONCLUSIONES

La implementación del proceso de impregnación a vacío en los frutos estudiados permitió desarrollar snacks cuyo valor nutricional favorece el aumento de la biodisponibilidad del calcio. De acuerdo con los índices de biodisponibilidad, se concluye que el snack que cumple mejor la función de contrarrestar la barrera nutricional es la pitahaya, el cual aporta 0.63 gramos de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) por porción. Los valores de humedad final de los snacks mostraron un comportamiento estándar, independiente del fruto, lo que favorecería a futuro aplicaciones generalizadas para su conservación. Lo anterior unido a los valores de pH inferiores a 3.7 y valores elevados de °Brix garantizan la prolongación de la vida útil del snack. Adicional, siendo las características organolépticas del snack muy similares a las presentes en el fruto fresco, se puede afirmar que los snacks desarrollados tienen una textura adecuada y un color agradable para el consumidor.

### BIBLIOGRAFÍA

- Amaya, S. Pacheco, S. *et al.* (2021). Formulation of a responsive in vitro digestion wall material, sensory and market analyses for chia seed oil capsules. *Journal of Food Engineering*. 296, 1-10.
- Aremua, A. Akinoso, R. (2014). Effect of Storage Condition and Duration on Selected Physical and Mechanical Properties of Star Apple Fruit Effect of Storage Condition and Duration on Selected Physical and Mechanical Properties of Star Apple Fruit (*Chrysophyllum* spp). *Journal of the Association of Professional Engineers of Trinidad and Tobago*. 42 (1), 33-39.
- Barat, J. Fito, P. *et al.* (2001). Modeling of simultaneous mass transfer and structural changes in fruit tissues. *Journal of Food Engineering*. 49 (2-3), 77-85.
- Barrera, C. Betoret, N. *et al.* (2009). Effect of osmotic dehydration on the stabilization of calcium-fortified apple slices (var. Granny smith): influence of operating variables on process kinetics and compositional changes. *Journal of food Engineering*. (92), 416-424.
- Carciofit, B. Prat, M. *et al.* (2012) Dynamics of vacuum impregnation of apples: Experimental data and simulation results using a VOF model. *Journal of Food Engineering*. 113 (2), 337-343
- Contreras, C. (2006). Influencia del método de secado en parámetros de calidad relacionados con la estructura y el color de la manzana y fresa deshidratadas. Universidad Politécnica de Valencia. Departamento de tecnología de alimentos. Pp 169.
- Cubillos, C. Isaza, H. (1999). Obtención de un producto glaseado y un producto osmodeshidratado de carambola (*Averrhoa Carambola* L.) en el piedemonte Caquetense. Tesis (pregrado). Facultad de ingeniería de alimentos, Universidad de la Salle. Instituto amazónico de Investigaciones Científicas 'Sinchi'. Bogotá. Pp. 1-12, 30-34 y 54-60.
- García, C. Nieves, M. *et al.* (2013). Valores de referencia de hierro, yodo, zinc, selenio, cobre, molibdeno, vitamina C, vitamina E, vitamina K, carotenoides y polifenoles para la población venezolana. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 63(4), 338-361.
- Gonzales, D. Hernández, M. *et al.* (2001). Desarrollo del fruto e índices de cosecha de la carambola (*Averrhoa carambola* L.) producida en el piedemonte amazonico colombiano. *Agronomía Colombiana*. 18 (1-2), 7-13.



## Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

- Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. (2019). Plataformas de monitoreo de la biodiversidad, primer paso para salvar el bosque de los mil colores. Colombia. Recuperado de <http://www.humboldt.org.co/es/noticias/parlotiando-humboldt/item/1505-plataformas-de-monitoreo-de-la-biodiversidad-primer-paso-para-salvar-el-bosque-de-los-mil-colores?highlight=YToxOntpOjA7czozMDoiZW5kw6ltaWNhcyI7fQ>
- Kaddumukasa, P., Imathiu, S., *et al.* (2017). Influence of physicochemical parameters on storage stability: Microbiological quality of fresh unpauperized fruit juices. *Food Science and Nutrition Journal*. 5(6), 1098-1105.
- Luu T.T.H., Le, T.L., *et al.* (2021). Dragon fruit: A review of health benefits and nutrients and its sustainable development under climate conditions changes in Vietnam. *Czech J. Food Sci.* 39, 71-94.
- Mateus, M., Giustino, T., *et al.* (2016). Vacuum impregnation and drying of calcium-fortified pineapple snacks, *LWT - Food Science and Technology*. 72, 501-509
- Ministerio de Agricultura de Colombia. (2020). Las exportaciones agropecuarias totalizaron us\$4.483 millones y crecieron 2,9% entre enero y julio de 2020. Red de comunicaciones agropecuarias. Recuperado de: [https://www.minagricultura.gov.co/noticias/Paginas/LAS-EXPORTACIONES-AGROPECUARIAS-TOTALIZARON-US\\$4-483-MILLONES-Y-CRECIERON-2,9-ENTRE-ENERO-Y-JULIO-DE-2020.aspx](https://www.minagricultura.gov.co/noticias/Paginas/LAS-EXPORTACIONES-AGROPECUARIAS-TOTALIZARON-US$4-483-MILLONES-Y-CRECIERON-2,9-ENTRE-ENERO-Y-JULIO-DE-2020.aspx)
- Ministerio de Salud. (2018). Perfil Nacional Consumo de Frutas y Verduras Colombia. Colombia. Recuperado de: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/SNA/perfil-nacional-consumo-frutas-y-verduras-colombia-2013.pdf>
- Padrón, A., Padrón, M., *et al.* (2012). Determinación de color en epicarpio de tomates (*Lycopersicon esculentum*) con sistema de visión computarizada durante su maduración. *Agronomía Costarricense*. 36(1), 97-111.
- Pettifor, J. (2008). Vitamin D &/or calcium deficiency rickets in infants & children: a global perspective. *Indian J Med Res* 127(3). 245-249.
- Pushpendra, K. Shruti, S. *et al.* (2018). Nutritional characterization of apple as a function of genotype. *Journal of Food Science and Technology*. 55(7). 2729-2738.
- Rangel, J. O. (2005). La biodiversidad de Colombia. *Palimpsestvs*, (5). Recuperado a partir de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/palimpsestvs/article/view/8083>
- Rao, M. Syed, S. *et al.* (2005). Colorimetric Properties of Foods En Engineering properties of food, editado por: Rao, M., Rizvi, S., Datta, A., Ahmed, J., CRC Press, 703-726
- Sereno, A., Silva, M., *et al.* (2007). Determination of Particle Density and Porosity in Foods and Porous Materials with High Moisture Content. *International Journal of Food Properties*. 10 (3). Pp. 455-469.
- Shafiee, S. Minaee, S., *et al.* (2009). Moisture Dependent Physical Properties of Dragon's Head Seeds (*Lallemantia ibérica*). *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*. 11, 1-10.
- Shen, Y. (2017). Effect of vacuum impregnation and High pressure in Osmotic Dehydration and Air Drying on Physicochemical properties of Mango (*Mangifera indica*) Cubes- Maturity Stage 1. Wageningen University and Research. Food Quality and Design Department.
- Serpa, A. Vélez, L. *et al.* (2016). Compuestos de hierro para la fortificación de alimentos: El desarrollo de una estrategia nutricional indispensable para países en vía de desarrollo. *Acta Agronómica*, 65 (4). P 340- 353
- Tupikina, O. Minaar, S., *et al.* (2013). Determining the effect of acid stress on the persistence and growth of thermophilic microbial species after mesophilic colonisation of low-grade ore in a heap leach environment. *Minerals Engineering*. 53. Pp 152-150
- Valero, C. Crisosto, C. *et al.* (2007). Relationship between nondestructive firmness measurements and commercially important ripening fruit stages for peaches, nectarines and plums. *Postharvest Biology and Technology Journal*. 44 (3). Pp. 248-253.
- Vicente, A. Saladié, M. *et al.* (2007). The linkage between cell wall metabolism and fruit softening: looking to the future. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. (87). Pp. 1435-14

## Desarrollo de encapsulados de aceite de semilla de Sacha Inchi para la formulación de alimentos funcionales

J.A. Meneses-Gelves<sup>1\*</sup>, D.F. Mendoza-Gamboa<sup>1</sup>, A. Rodríguez-Cortina<sup>1</sup> y M. Hernández-Carrión M<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidad de los Andes, Departamento de Ingeniería Química y de Alimentos, Grupo de Diseño de Productos y Procesos (GDPP), Carrera 1 #18a-12, C.P. 111711, Bogotá D.C., Cundinamarca, Colombia.

\*[ja.meneses@uniandes.edu.co](mailto:ja.meneses@uniandes.edu.co)

### RESUMEN:

El Sacha Inchi es un alimento cuyo aceite cuenta con un alto contenido de ácidos grasos insaturados (AGI), pero que son susceptibles a procesos de degradación oxidativa. Este estudio tuvo como objetivo la encapsulación del aceite de semilla de Sacha Inchi (ASI) por ultrasonidos de potencia y su posterior sellado mediante secado por aspersión y liofilización. Se evaluó el efecto de la concentración de ASI (5 y 7,5%, p/p) y el efecto de la relación de los materiales de pared: maltodextrina/caseinato sódico [M:C] (80:20 y 75:25, p/p) sobre las propiedades fisicoquímicas de las emulsiones y los encapsulados. Se encontró que, independientemente de la relación de los materiales de pared, las emulsiones con una concentración de aceite del 7.5% p/p fueron más estables y adecuadas para el sellado. Asimismo, se determinó que la proporción de los materiales de pared que maximizó la eficiencia de encapsulación fue para las emulsiones preparadas con 75:25 [M:C], obteniendo rendimientos superiores para el secado por aspersión en comparación a la liofilización, con valores de 80,97% y 66,28%, respectivamente. Este trabajo destaca el uso de tecnologías de secado innovadoras para encapsular compuestos bioactivos, lo que representa una oportunidad para el desarrollo de nuevos alimentos funcionales.

**Palabras clave:** Ácidos grasos insaturados, encapsulación, materiales de pared, ultrasonidos de potencia, secado por aspersión, liofilización.

### ABSTRACT:

Sacha Inchi is a food whose oil has a significant content of polyunsaturated fatty acids (PUFAs), which are susceptible to oxidative degradation processes. However, these compounds are susceptible to oxidative degradation processes. The purpose of this study was the encapsulation of Sacha Inchi seed oil by implementing sonication, spray drying, and freeze-drying techniques. The effect of Sacha Inchi seed oil concentration (5 y 7,5%, p/p) and the impact of the wall materials ratio: maltodextrin/sodium caseinate [M: C] (80:20 y 75:25, p/p) were evaluated on the physicochemical properties of the emulsions and encapsulates. It was found that, regardless of the wall material ratio, emulsions made with an oil concentration of 7.5% w/w were most stable and suitable for the drying phase. Likewise, the wall material ratio that enhanced the encapsulation efficiency was for emulsions prepared with 75:25 [M: C], obtaining higher yields for spray drying compared to freeze-drying, with values of 80.97% and 66.28%, respectively. This work highlights the use of innovative drying technologies to ensure the encapsulation of bioactive compounds, which denotes an opportunity for the development of new functional foods.

**Keywords:** PUFAs, encapsulation, wall materials, power ultrasound, spray drying, freeze-drying.

## INTRODUCCIÓN

A pesar de que Colombia se clasifica como uno de los territorios con mayor biodiversidad en el planeta, décadas de conflicto armado, infraestructura limitada y falta de recursos financieros acordes con dicha concentración sustancial de biodiversidad, han dejado los ecosistemas del país comparativamente inaccesibles, intactos y poco estudiados (Alho, 2008; Huddart *et al.*, 2021). En este sentido, existen grandes oportunidades de investigación y desarrollo para la obtención de productos sostenibles de valor agregado que contribuyan en el progreso de la sociedad. El Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.), es una planta oleaginosa que se encuentra ampliamente distribuida a lo largo del noroccidente del Amazonas y cuyo aceite es considerado de gran valor nutricional por su elevada cantidad de ácidos grasos insaturados (78.0%-84.2%), especialmente ácidos grasos esenciales  $\alpha$ -linolénico (ALA) u  $\omega$ -3 y ácido linoleico (LA) u  $\omega$ -6 (Goyal *et al.*, 2021). La dominante composición de ácidos grasos esenciales en el aceite de Sacha Inchi y su proporción bien equilibrada (1.41:1), también ha generado un creciente interés de investigadores, puesto que su consumo puede traer numerosos beneficios para la salud como funciones antiinflamatorias y la prevención de enfermedades, entre las que destacan: hipercolesterolemia, cáncer, diabetes tipo II, hipertensión, desórdenes neurológicos y reducción de riesgo de enfermedades cardiovasculares (Punia *et al.*, 2019; Calder *et al.*, 2021; Goyal *et al.*, 2021). No obstante, este hecho también limita sus aplicaciones alimentarias debido a la susceptibilidad de sus ácidos grasos a procesos oxidativos (Da Silva Soares, 2022), presencia de altas temperaturas, luz, metales o humedad (El Ghazzaqui *et al.*, 2021).

En este contexto, las técnicas de encapsulación emergen como alternativas innovadoras que pueden solucionar estas limitaciones al encerrar y transportar los compuestos bioactivos del aceite dentro de un material polimérico que protege al alimento de los factores adversos que promueven su degradación, inhibe interacciones con otros componentes y controla su liberación en el cuerpo, aumentando la biodisponibilidad del constituyente encapsulado (Cerqueira *et al.*, 2018; El Ghazzaqui *et al.*, 2021; Marques *et al.*, 2021). El secado por aspersión es la técnica más común de encapsulación debido a que es más económica, posee mayor accesibilidad de equipos, tiene costos de operación bajos, la estabilidad final del producto es buena y su eficiencia de encapsulación es relativamente alta (Parra Huertas, 2011; Pérez *et al.*, 2013; El-Kader *et al.*, 2020). Por otro lado, la liofilización se considera como el método más efectivo para retener la mayor cantidad de compuestos bioactivos, obtener productos de mayor calidad y evitar la degradación causada por las altas temperaturas de operación. No obstante, su aplicación incurre en altos costos de operación, considerables gastos energéticos y requiere de mucho tiempo debido a sus lentas velocidades de secado (Razola Díaz *et al.*, 2021).

A pesar de que hasta la fecha existen algunos estudios asociados con la encapsulación de aceite de semilla de Sacha Inchi (Fadini *et al.*, 2018; Fidelis *et al.*, 2019; El Ghazzaqui *et al.*, 2021; Da Silva Soares, 2022; Juárez *et al.*, 2022), todavía es necesario profundizar más en este tema. Por ello, este estudio tuvo como objetivo evaluar el proceso de encapsulación de aceite de semilla de Sacha Inchi a partir de ultrasonidos de potencia para la etapa de emulsificación y sellar el proceso implementando novedosas tecnologías de secado. Se realizó un diseño experimental que evaluó el efecto de la concentración de aceite de semilla de Sacha Inchi (5% y 7,5%, p/p) y el impacto de la relación de los materiales de pared: maltodextrina/caseinato sódico [M:C] (80:20 y 75:25, p/p) sobre las propiedades fisicoquímicas de las emulsiones y se eligieron las dos opciones más prometedoras para sellar la encapsulación por secado por aspersión y liofilización. Finalmente, se evaluó la eficiencia de la encapsulación y las propiedades de los polvos obtenidos para valorar su posible implementación en el desarrollo de nuevos alimentos funcionales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Materiales

Se utilizó aceite de semilla de Sacha Inchi (ASI; *Plukenetia volubilis L.*) premium virgen extra (Sachacol S.A.S, Bucaramanga, Colombia), caseinato de sodio (Food systems, Ingredientes y Productos Funcionales S.A.S, Bogotá, Colombia), maltodextrina (LIHUA, Cimpa S.A.S, Bogotá, Colombia) y los tensoactivos Tween 20 y Span 80 (Croda ©, Bogotá, Colombia).

### 2. Métodos

#### 2.1. Elaboración de las emulsiones a partir de ultrasonidos de potencia

Las emulsiones fueron realizadas siguiendo la metodología implementada por Rodríguez-Cortina & Hernández-Carrión (2021). Se prepararon 300 g de emulsión mediante una sonda ultrasónica (Sonics Materials VCX 750) empleando una amplitud del 35% durante 30 min.

#### 2.2. Caracterización de las emulsiones

##### 2.2.1. Tamaño de gota

Se determinó con un analizador de tamaño de partículas Mastersizer 3000 (Malvern). Las mediciones se hicieron por duplicado.

##### 2.2.2. Comportamiento al flujo

Se analizó en un reómetro rotacional ARG2 (TA Instruments) con una geometría de cilindro concéntrico cónico (997616) a temperatura ambiente (20°C) y con un gap de 5920 µm. Los resultados se trataron según lo establecido en Rodríguez-Cortina & Hernández-Carrión (2021). Las mediciones se hicieron por duplicado.

##### 2.2.3. Índice de estabilidad Turbiscan

Se evaluó en las emulsiones recién elaboradas a través de la medición del Índice de Estabilidad Turbiscan (TSI) en un Analizador Óptico Turbiscan LAB durante 30 minutos. Las mediciones se hicieron por duplicado.

#### 2.3. Sellado del proceso de encapsulación mediante secado por aspersión y liofilización

El proceso de secado por aspersión se realizó en el equipo Mini Spray B-290 (Büchi) haciendo uso de aire a una temperatura de entrada de 150°C, temperaturas de salida de 125°C, tasa de aspiración nominal del 90% y una tasa de bombeo peristáltico del 10% con un dispositivo atomizador de boquilla. Para la liofilización, las emulsiones se congelaron a -80°C en un ultracongelador (Undercounter ULT Freezer, Haier) se introdujeron al liofilizador (FreeZone 6, Labconco) durante 144 h a una temperatura de -40°C y una presión de 0,160 mbar.

#### 2.4. Caracterización de los encapsulados de aceite de semilla de Sacha Inchi

##### 2.4.1. Humedad

Se analizó en una termobalanza (Precisa Gravimetrics, Master Serie 330 Mx). Los resultados se expresaron en base húmeda. Las mediciones se realizaron por duplicado.

#### 2.4.2. Rendimiento y eficiencia de encapsulación

El rendimiento de secado (EY) se calculó mediante la Ec. (1), mientras que la eficiencia de encapsulación (EX) se obtuvo aplicando la metodología de Bae & Lee (2008) mediante la ecuación presentada por El Ghazzaqui *et al.* (2021).

$$Y (\%) = \frac{\text{Peso de sólidos tras el secado (g)}}{\text{Peso de sólidos en la emulsión (g)}} \cdot 100 \quad [1]$$

#### 2.4.3. Estabilidad de los encapsulados

Se evaluó a partir de un análisis termogravimétrico (TGA) en un equipo SDTQ600 (TA Instruments). Se varió la temperatura desde 25°C hasta 600°C con un aumento de temperatura de 10°C/min y un flujo constante de nitrógeno UAP de 100 mL/min. Las mediciones se realizaron por duplicado.

#### 2.5. Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva calculando la media y la desviación estándar para cada variable de respuesta. Se empleó el programa estadístico Minitab® (versión 18.1) para realizar un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 5% haciendo uso del test de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Caracterización de las emulsiones

Los resultados obtenidos de la caracterización de las emulsiones se muestran en la tabla I. El tamaño de gota y su distribución son factores críticos en la estabilidad y el comportamiento reológico de sistemas coloidales. Tamaños de gota uniformes y pequeños están asociados con sistemas de mayor estabilidad, y conforme incrementa su valor, se fomenta la inestabilidad termodinámica de la emulsión (Saifullah *et al.*, 2016). Según los resultados obtenidos en el análisis estadístico ANOVA, se concluye que la concentración de aceite y su interacción con la relación de los materiales de pared tuvieron un efecto significativo sobre el tamaño de gota, expresados por la variable D [4,3] y cuyos valores oscilaron entre 0,358 y 0,499 μm (Tabla I). Los resultados muestran que los ultrasonidos de potencia permiten la obtención de tamaños de gota menores en comparación con otras metodologías de homogenización (Rodríguez-Cortina & Hernández-Carrión, 2021). Estos resultados coinciden con lo establecido por Modarres-Gheisari *et al.* (2018), quien afirma que los ultrasonidos fomentan la obtención de nanoemulsiones con tamaños de gota pequeños y gran área superficial, en comparación con procesos convencionales debido a los grandes fenómenos de cavitación ejercidos.

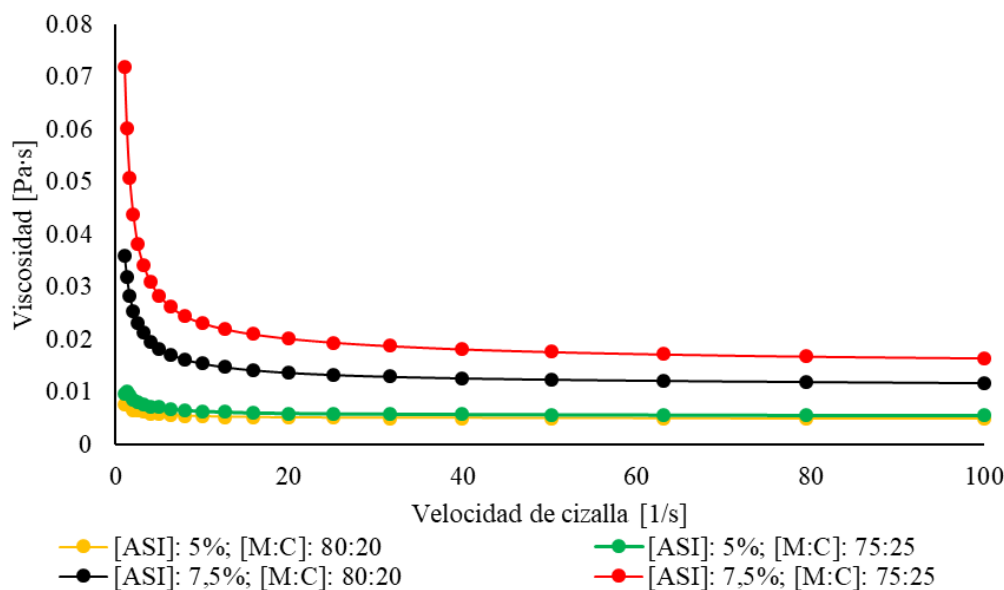
**Tabla I.** Resultados de las propiedades fisicoquímicas de las emulsiones de ASI; Tamaño de gota, viscosidad a una velocidad de cizalla de 50 s<sup>-1</sup> y TSI.

Corrida	Concentración ASI (%p/p)	[M:C] (%p/p)	Tamaño de gota (μm)	Viscosidad (10 <sup>3</sup> ·Pa·s)	TSI
---------	-----------------------------	-----------------	------------------------	---------------------------------------	-----

1	5,0	80:20	0,448 <sup>ab</sup> (<0,01)	5,01 <sup>d</sup> (0,24)	7,872 <sup>a</sup> (0,676)
2	5,0	75:25	0,358 <sup>b</sup> (<0,01)	5,72 <sup>c</sup> (0,01)	6,016 <sup>b</sup> (0,402)
3	7,5	80:20	0,416 <sup>ab</sup> (<0,01)	12,43 <sup>b</sup> (0,01)	1,674 <sup>c</sup> (0,172)
4	7,5	75:25	0,499 <sup>a</sup> (0,050)	17,66 <sup>a</sup> (0,08)	0,976 <sup>c</sup> (0,021)

Para una misma columna, letras diferentes indican la presencia de diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con el test de Tukey ( $p < 0.05$ ). Los valores en paréntesis corresponden a las desviaciones estándar.

El comportamiento al flujo es una variable importante en el estudio de emulsiones, puesto que permite conocer las propiedades reológicas del sistema con el objetivo de descifrar el éxito de la metodología a partir de la estabilidad de las emulsiones. Es importante resaltar que esto último está especialmente ligado a la viscosidad de la muestra, quien es determinante en el tamaño de gota de la emulsión, razón por la cual, puede ocurrir que, debido a una disminución de la viscosidad de la película interfacial, se rompan con mayor facilidad las gotas de aceite al aumentar la solubilidad de la emulsión (Kosegarten-Conde & Jiménez-Munguía, 2012). A partir del análisis estadístico, fue posible concluir que la concentración de aceite, las proporciones de los materiales de pared y su interacción influyeron sobre la variable de respuesta. En la Tabla I, es posible observar que la viscosidad obtenida para una velocidad de cizalla de  $50 \text{ s}^{-1}$  estuvo comprendida entre 5,01 y 17,66 cP, en las cuales, la viscosidad de las emulsiones aumentó proporcionalmente con el incremento en la concentración de aceite de semilla de Sacha Inchi (McClements, 2012) y con la cantidad de caseinato sódico. Este incremento en el caseinato sódico genera mayor fricción entre las partículas suspendidas de aceite debido a su carácter proteico (Kosegarten-Conde & Jiménez-Munguía, 2012). En la Fig. 1 se puede apreciar que las emulsiones preparadas con una concentración de aceite de 7,5 % p/p presentaron viscosidades significativamente mayores. Asimismo, en esta figura se puede observar que el comportamiento de las emulsiones fue de carácter pseudoplástico (Rao, 2014).



**Figura 1.** Comportamiento al flujo de las emulsiones de aceite de semilla de Sacha Inchi.

Por otro lado, el Índice de estabilidad Turbiscan (TSI) permite cuantificar la probabilidad de que en una emulsión ocurran fenómenos de inestabilidad coloidal con variación de tamaño de partícula (agregación, floculación, coalescencia, coagulación, maduración de Oswald) o de migración de partículas de una emulsión (sedimentación, cremado, clarificación, separación de fases). En él, los valores entre 0 y 1 indican que la muestra es visualmente estable o que su desestabilización se encuentra en una fase muy temprana, y a medida que incrementa este parámetro aumenta el nivel de inestabilidad de la emulsión (Formulation, 2022). El análisis estadístico indicó que tanto la concentración de aceite como la relación de los materiales de pared tuvieron un efecto significativo en la variable de respuesta. Asimismo, los valores de TSI de las emulsiones evaluadas variaron desde 0,976 a 7,872 (Tabla I). Los resultados muestran que el factor que mayor impacto tuvo en el TSI fue la concentración de aceite, el cual es el principal responsable de someter a la emulsión a mecanismos de desestabilización debido a la repulsión natural presente entre el agua y este componente. Asimismo, según los resultados obtenidos de la Tabla I, es posible afirmar que las emulsiones con mayor estabilidad corresponden a las formulaciones realizadas con una concentración de aceite del 7,5% p/p, puesto que, sus valores de TSI fueron significativamente menores.

### 2. Selección de las dos mejores emulsiones

Una vez caracterizadas las emulsiones, se seleccionaron las dos que permitieran garantizar la estabilidad oxidativa de los AGI. Lo anterior debido a que la degradación de los ingredientes encapsulados incrementa considerablemente en emulsiones inestables cuando se exponen a estrés ambiental como tratamientos térmicos, congelación/descongelación, condiciones extremas de pH y altas concentraciones de minerales (Barrow *et al.*, 2013). Asimismo, la estabilidad de la emulsión es un factor de gran importancia para obtener mayores eficiencias de encapsulación (Li *et al.*, 2017). En este sentido, se determinó que las formulaciones óptimas para continuar con el proceso de sellado en la encapsulación de aceite de semilla de Sacha Inchi fueron las dos emulsiones preparadas con una concentración de aceite de 7,5% p/p, ya que presentaron los menores valores de TSI y su viscosidad indicó una menor probabilidad de que se rompan las gotas de aceite.

### 3. Caracterización de los encapsulados de aceite de semilla de Sacha Inchi

La humedad es una propiedad física que depende principalmente de la porosidad del material, composición, los sólidos que contenga inicialmente y variables de proceso según el método de secado. Para la elaboración de polvos que no contienen conservantes ni aditivos, entre más contenido de humedad tiene el producto, más corta es la vida útil de este. Es por lo anterior, que se recomienda que este valor sea inferior a 3% (Ceballos-Peñaloza, 2008). Asimismo, según Karthik & Anandharamakrishna (2013), la humedad depende de la temperatura a la que se realiza el secado y de la tecnología empleada, lo cual soporta el hecho de que el factor de la proporción de maltodextrina y caseinato sódico presente en el material de pared no fuese significativo. Los valores de humedad expresados en base húmeda variaron entre 1,31% - 1,77% (Tabla II) lo cual cumple con la recomendación de mantener la humedad por debajo del 3% (Ceballos, 2008). Los resultados estadísticos muestran que tanto el tipo de tecnología de secado como la interacción entre esta y la proporción de materiales de pared tuvieron efecto significativo sobre la variable de respuesta.

**Tabla II.** Resultados de las propiedades de los encapsulados obtenidos por secado por aspersión y liofilización: humedad, rendimiento de secado (EY) y eficiencia de encapsulación (EX).

Corrida	Concentración ASI (%p/p)	[M:C] (%p/p)	Tecnología de secado	Humedad (%)	EY (%)	EX (%)
1	7,5	80:20	Liofilizador	1,65 <sup>a,b</sup> (0,17)	83,82	62,35
2	7,5	75:25	Liofilizador	1,31 <sup>b</sup> (0,04)	83,13	66,28
3	7,5	80:20	Secado por aspersión	1,60 <sup>a,b</sup> (0,08)	54,29	72,18
4	7,5	75:25	Secado por aspersión	1,77 <sup>a</sup> (0,02)	63,73	80,97

Para una misma columna, letras diferentes indican la presencia de diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con el test de Tukey ( $p < 0.05$ ). Los valores en paréntesis son las desviaciones estándar.

El rendimiento del secado se define como la relación entre la masa de materia seca de polvo recolectada después del secado y el peso de los sólidos totales de la muestra durante su preparación. Este es un indicador de gran importancia en la industria, puesto que, un mayor rendimiento está directamente asociado con un incremento en ganancias (Tontul & Topuz, 2017). Como se puede observar en la tabla II, los valores de este parámetro oscilaron entre un 54,29% y 83,82%. Dado que la totalidad de experimentos tuvo un valor mayor al 50 % se puede concluir que el proceso se realizó de manera exitosa (Bhandari *et al.*, 1997). Asimismo, al comparar los resultados para las dos tecnologías implementadas, es posible notar que el proceso de liofilización maximizó el rendimiento de secado. Este hecho pudo deberse a que, las altas temperaturas del secado por aspersión aumentaron la pegajosidad del polvo al influir directamente sobre los azúcares (maltodextrina) y, como consecuencia, se recuperó una menor cantidad de materia seca (Bhandari *et al.*, 1997).

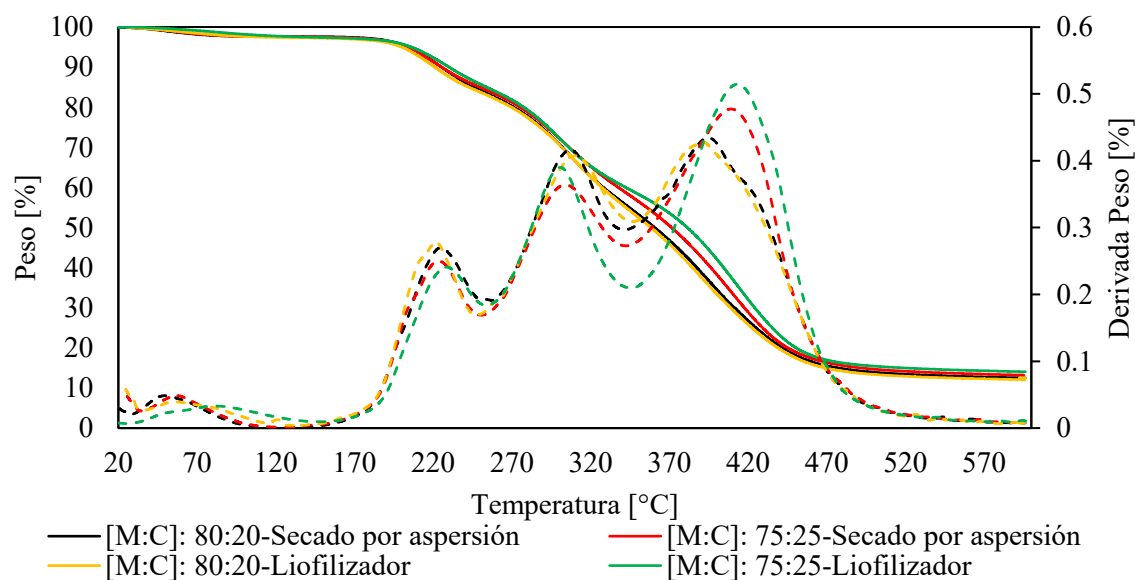
La eficiencia de encapsulación es definida como el porcentaje de aceite de semilla de Sacha Inchi encapsulado con éxito y su valor representa el nivel de eficacia del proceso realizado. Los resultados presentes en la Tabla II muestran que los valores calculados para este parámetro se encontraron entre un 62,35% y un 80,97%, en donde, el proceso de secado por aspersión proporcionó una mayor eficiencia de encapsulación en comparación con la liofilización, similar a lo encontrado por El-Messery *et al.* (2020) y Elik *et al.* (2021). Este resultado pudo deberse a que, durante la liofilización, existe una tendencia de las partículas a aglomerarse debido a la mayor energía superficial en la etapa de congelación (Anandharamakrishnan & Ishwarya, 2015). De igual manera, es importante mencionar que existe una tendencia en la cual el rendimiento de la encapsulación aumenta conforme crece la cantidad de caseinato de sodio en las muestras (Li *et al.*, 2017; Amaya *et al.*, 2021). Este fenómeno se puede atribuir a las propiedades surfactantes de este material de pared, que permiten un mejor desempeño en emulsiones O/W, y por ende, un mayor efecto encapsulante (Augustin & Oliver, 2014). Los resultados obtenidos concuerdan con lo propuesto por Li *et al.* (2017), quienes indican que a medida que incrementa la estabilidad de la emulsión se aumenta el rendimiento de la encapsulación. Este comportamiento se puede corroborar analizando los resultados de la Tabla I, en los cuales, la corrida que menor TSI obtuvo fue aquella que logró mayor rendimiento de encapsulación en cada tecnología.

En cuanto al análisis termogravimétrico (TGA), permite conocer el comportamiento de los componentes puros de las cápsulas, los cuales se van degradando a medida que aumenta la temperatura. Esto se puede observar a través de los picos de la curva que relacionan la derivada del peso con respecto a la temperatura. Es así como en la Fig. 2 es posible identificar la degradación de



cada componente. En la gráfica se puede visualizar que el primer rango entre 50-90°C está asociado a la pérdida de peso de los residuos de agua que pudieron quedar en la muestra o por la rehidratación de la cápsula posterior al secado (França *et al.*, 2018). El segundo y tercer componente se encuentran en el rango de 200-240°C y 270-320°C, los cuales hacen referencia a la maltodextrina y caseinato de sodio, respectivamente. Estos resultados concuerdan con la literatura, donde se ha reportado que la degradación de la maltodextrina ocurre en el rango de 200-350°C, mientras que en el caseinato de sodio sucede a una temperatura de 300°C (Alizadeh-Sani *et al.*, 2019). Finalmente, el último rango hace referencia a la volatilización del aceite de semilla de Sacha Inchi, el cual está entre 380-440°C. Adicionalmente, se observa que para temperaturas superiores a 500°C no ocurre una variación significativa del peso perdido del aceite, lo cual coincide con lo reportado por Amaya *et al.* (2021) donde a partir de esta temperatura no encontraron remanentes de aceite de semilla de chía.

Así mismo, en la Fig. 2 es posible comprobar los resultados de la eficiencia de encapsulación que se discutieron en la sección anterior. Esto se logra al relacionar el peso y la temperatura, ya que, entre mayor sea el peso para una temperatura aproximada de 600°C, más cantidad de polvo encapsulado logró superar la degradación asociada al incremento de la temperatura. Es así como, la curva en color rojo y verde, las cuales tienen una relación de [M:C] de 75:25, corresponden al polvo con mejores resultados de eficiencia para cada tecnología, debido a que esta posee el mayor valor del porcentaje de peso, siendo coherente con lo reportado en la Tabla II.



**Figura 2.** TGA de cápsulas de aceite de semilla de Sacha Inchi elaboradas por ultrasonido de potencia y secadas por liofilización y secado por aspersión. (—) Pérdida de peso. (- -) Derivada de pérdida de peso.

## CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que fue posible la encapsulación de aceite de semilla de Sacha Inchi mediante la aplicación de ultrasonidos de potencia y el posterior sellado por secado por aspersión y liofilización. Las emulsiones presentaron un tamaño de gota pequeño debido a la

aplicación de ultrasonidos de potencia. Asimismo, las formulaciones elaboradas con una concentración de aceite de 7,5% p/p fueron más estables y, por ende, más apropiadas para el proceso de secado al minimizar la degradación de los ácidos grasos insaturados y permitir mayores rendimientos de encapsulación. Tras el secado por aspersión y liofilización, se encontró que los encapsulados obtenidos haciendo uso de una relación de material de pared 75:25 [M:C] presentaron las mejores eficiencias de encapsulación, resultado que fue posible corroborar mediante el análisis termogravimétrico (TGA), siendo el secado por aspersión el que logró obtener rendimientos de hasta el 80,97%. En este orden de ideas, la tecnología de secado por aspersión garantiza altas eficiencias de encapsulación sin la necesidad de incurrir en los altos costos de operación presentes en el proceso de liofilización. En definitiva, el proceso de encapsulación de aceite de semilla de Sacha Inchi emerge como una alternativa novedosa para proteger los ácidos grasos insaturados del alimento y así, desarrollar nuevos alimentos funcionales que aporten numerosos beneficios al consumidor.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alho, C.J., 2008, *The value of biodiversity*, Braz J Biol, (4 Suppl):1115-8.
- Alizadeh-Sani, M., Rhim, J., Azizi-Lalabadi, M., Hemmati-Dinarvand, M., & Ehsani, A., 2020, *Preparation and characterization of functional sodium caseinate/guar gum/TiO<sub>2</sub>/cumin essential oil composite film*, Int. J. Biol. Macromol., Vol. 145, pp. 835–844.
- Amaya Cano, J., Segura Pacheco, S., Galán, F., Arenas Bustos, I., Rincón Durán, C., & Hernández Carrión, M., 2021, *Formulation of a responsive in vitro digestion wall material, sensory and market analyses for chia seed oil capsules*, Journal of Food Engineering, Vol. 296, 110460.
- Anandharamakrishnan, C., & Ishwarya, S., 2015. *Spray drying techniques for food ingredient encapsulation*. Wiley, ISBN: 978-1-118-86419-7.
- Augustin, M., & Oliver, C., 2014, *Use of Milk Proteins for Encapsulation of Food Ingredients*, Microencapsulation in the Food Industry, Vol. 19, pp. 211-226.
- Bae, E.K., & Lee, S.J., 2008, *Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin*, Journal of microencapsulation, Vol. 25, pp. 549-560.
- Bai, X., Chuanxin, L., Yu, L., Jiang, Y., Wang, M., Lang, S., & Liu, D., 2019, *Development and characterization of soybean oil microcapsules employing kafirin and sodium caseinate as wall materials*, LWT, Vol. 111, pp. 235-241.
- Barrow, C., Wang, B., Adhikari, B., & Liu, H., 2013, *Chapter 6. Spray drying and encapsulation of omega-3 oils*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, pp. 194-225.
- Bhandari, B., Datta, N., & Howes, T., 1997, *Problems associated With Spray Drying Of Sugar-Rich Foods*, Drying Technology, Vol. 15:2, pp. 671-684.
- Calder, P., 2021, *Chapter 2 - Health benefits of omega-3 fatty acids*, Production, Physical Characterization and Oxidative Stability, pp. 25-53.
- Ceballos Peñaloza, A., 2008, *Estudio comparativo de tres sistemas de secado para la producción de un polvo deshidratado de fruta*, Universidad Nacional de Colombia.
- Cerqueira e Silva, K., da Silva Carvalho, A., Santos Rabelo, R., & Dupas Hubinger, M., 2019, *Sacha Inchi oil encapsulation: Emulsion and alginate beads characterization*, Food and Bioproducts Processing, Vol. 116, pp. 118-129.
- Da Silva Soares, B., Pinto Siqueira, R., de Carvalho, M., Juarez, V., & García-Rojas, E., 2022, *Microencapsulation of Sacha Inchi oil (Plukenetia Volubilis L.) using complex coacervation: Formation and structural characterization*, Food Chemistry, Vol. 15, 125045.

- Elik, A., Yanik, D. K., & Göğüş, F., 2021, *A comparative study of encapsulation of carotenoid enriched-flaxseed oil and flaxseed oil by spray freeze-drying and spray drying techniques*, LWT, Vol. 143, 111153.
- El-Ghazzaqui Barbosa, A., Tomé Constantino, A., Heckert Bastos, L., & Garcia-Rojas, E., 2021, *Encapsulation of Sacha Inchi oil in complex coacervates formed by carboxymethylcellulose and lactoferrin for controlled release of  $\beta$ -carotene*, Foods Hydrocolloids for Health, Vol. 2, 100047.
- El-Kader, A., & Abu Hashish, H., 2020, *Encapsulation Techniques of Food Bioproduct*, Egyptian Journal of Chemistry, Vol. 63, pp. 1881-1909.
- El-Messery, T. M., Altuntas, U., Altin, G., & Özçelik, B., 2020, *The effect of spray-drying and freeze-drying on encapsulation efficiency, in vitro bioaccessibility and oxidative stability of krill oil nanoemulsion system*, Food Hydrocolloids, Vol. 106, 105890.
- Fadini, A., Alvim, I., Porto Ribeiro, I., Geraldini Ruzene, L., Bataglia da Silva, L., & Queiroz, M., 2018, *Innovative strategy based on combined microencapsulation technologies for food application and the influence of wall material composition*, LWT, Vol. 91, pp. 345-352.
- Fidelis Cerqueira Silva, K., da Silva Carvalho, A., Santos Rabelo, R., & Hubinger, M., 2019, *Sacha inchi oil encapsulation: Emulsion and alginate beads characterization*, Foods and Bioproducts processing, Vol. 116, pp. 118-129.
- Formulation - Smart scientific analysis. (2022). *Turbiscan Stability Index*. Formulation.com. Retrieved 21 March 2022, from <https://www.formulation.com/en/knowledge-center/turbiscan-stability-index>.
- França, D., Medina, L., Messa, S.C., & Faez, R., 2018, *Chitosan spray-dried microcapsule and microsphere as fertilizer host for swellable -controlled release*, Carbohydr. Polym, Vol. 196, pp. 47–55.
- Goyal, A., Tanwar, B., Kumar Sihag, M., & Sharma, V., 2021, *Sacha inchi (Plukenetia Volubilis L.): An emerging source of nutrients, omega-3 fatty acid and phytochemicals*, Food Chemistry, Vol. 373, Part B, 131459.
- Huddart, J., Crawford, A.J., Luna-Tapia, A.L., Restrepo, S., & Di Palma, F., 2021, *EBP-Colombia, and the bioeconomy: Genomics in the service of biodiversity conservation and sustainable development. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 119 (4), 35042804.
- Juárez, V., de Souza Cezarino, T., Barreto Pereira, L., Pinto da Rocha, E., Raymundo Sá, G., & Domingues Gamallo, O., 2022, *Microencapsulation of sachá inchi oil using emulsion-based delivery systems*, Food Research International, Vol. 99 Part 1, pp. 612-622.
- Karthik, P., & Anandharamakrishnan, C., 2013, *Microencapsulation of Docosahexaenoic Acid by Spray-Freeze-Drying Method and Comparison of its Stability with Spray-Drying and Freeze-Drying Methods*, Food Bioprocess Technol, Vol. 6, pp. 2780–2790.
- Kosegarten-Conde, C. E., & Jiménez-Munguía, M. T., 2012, *Factores principales que intervienen en la estabilidad de una emulsión doble*, Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos, Vol. 6, no. 2, pp. 1–18.
- Li, K., Wai-Woo, M., Patel, H. and Selomulya, C., 2017, *Enhancing the stability of protein-polysaccharides emulsions via Maillard reaction for better oil encapsulation in spray-dried powders by pH adjustment*, Food Hydrocolloids, Vol. 69, pp. 121-131.
- Marques Mandaji, C., da Silva Pena, R., & Campos Chisté, R., 2021, *Encapsulation of bioactive compounds extracted from plants of genus Hibiscus: A review of selected techniques and applications*, Food Research International, Vol. 151, 110820.
- McClements, D., 2011, “*Food Emulsion Principle, Practices, and Techniques*”. Materials Science and Engineering C, Vol 31(2), pp. 486–493.

- Mohsen Modarres-Gheisari, S., Gavagsaz-Ghoachani, R., Malaki, M., Safarpour, P., & Zandi, M., 2018, *Ultrasonic nano-emulsification – A review*, Ultrasonics Sonochemistry, Vol. 52, pp. 88-105.
- Oliver, C., Augustin, M., & Sanguansri, L., 2009, *Maillard-based casein-carbohydrate microcapsules for the delivery of fish oil: emulsion stability during in vitro digestion*, Australian Journal of Dairy Technology, Vol. 64, pp. 80-83.
- Parra Huertas, R., 2011, *Revisión: Microencapsulación de Alimentos*. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, Vol. 63 no 2, 0304-2847.
- Pérez, H., Bueno, G., Brizuela, M., Tortoló, K., & Gastón, C., 2013, *Microencapsulación: una vía de protección para microorganismos probióticos*. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar, Vol. 47, pp. 14-25.
- Punia, S., Singh Sandhu, K., Kumar Siroha, A., & Bala Dhull, S., 2019, *Omega 3-metabolism, absorption, bioavailability and health benefits—A review*, PharmaNutrition, Vol. 10, 100162.
- Rao, M., 2014, *Flow and functional models for rheological properties of fluid foods*, Springer, (pp. 27-61).
- Razola Díaz, M., Guerra Hernández, E., García Villanova, B., & Verardo, V., 2021, *Recent developments in extraction and encapsulation techniques of orange essential oil*, Food Chemistry, Vol. 354, 129575.
- Rodríguez Cortina, A., & Hernández Carrión, M., 2021, *Caracterización fisicoquímica y obtención de emulsiones a partir del aceite de semilla de Sacha Inchi*, Desarrollo en Innovación en Ingeniería, Vol. 1 ed 6, ISBN: 978-958-53278-5-6.
- Roos, Y., & Livney, Y., 2017, *Engineering Foods for Bioactives Stability and Delivery*, Springer, (pp. 1-423).
- Saifullah, M., Amimul, A., Rezaul, M., & Shishir, I., 2016, *Production, stability and application of micro- and nanoemulsion in food production and the food processing industry*, Innovative Food Science & Emerging Technologies, Vol. 76, pp. 405-442.
- Sánchez-Reinoso, Z., & Gutiérrez, L.F., 2017, *Effects of the Emulsion Composition on the Physical Properties and Oxidative Stability of Sacha Inchi (Plukenetia Volubilis L.) Oil Microcapsules Produced by Spray Drying*. Food Chemistry, Vol. 387, pp. 1354-1366.
- Tontul, I., & Topuz, A., 2017, *Spray-drying of fruit and vegetable juices: Effect of drying conditions on the product yield and physical properties*, Trends in Food Science & Technology, Vol. 63, pp. 91-102.

## Análisis de la estabilidad fisicoquímica de una bebida de cacahuete con jengibre

D. Díaz-Cruz<sup>1</sup>, D.M. Hernández-Martínez<sup>1\*</sup> y T. Gallardo-Velázquez<sup>1</sup>

Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Biofísica, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomás, C.P. 11340, Ciudad de México, México.  
[\\*dhernandezmar@ipn.mx](mailto:dhernandezmar@ipn.mx)

### RESUMEN

Las bebidas vegetales son una opción saludable, amigable con el planeta y se ajustan al estilo de vida de consumidores que buscan bebidas funcionales de origen no animal, pero con características organolépticas similares a la leche de vaca. El presente trabajo tuvo como objetivo elaborar una bebida vegetal a base de cacahuete (*Arachis hypogaea*) adicionada con jengibre (*Zingiber officinale*). Se elaboraron 13 bebidas con diferentes formulaciones, variando contenido de cacahuete (C), lecitina de soya (L) y goma gelana (G), pero manteniendo fija la cantidad de jengibre. Se analizó el potencial zeta y tamaño de partícula (diámetro de Sauter y diámetro de Brouckere) en un inicio y después de dos meses de almacenamiento a 4°C. Después de dos meses, el potencial zeta varió entre -18 y -32 mV; el diámetro de Sauter entre 11.46 y 27.33 µm; y el diámetro de Brouckere entre 49.17 y 99.38 µm. De acuerdo al diseño de superficie de respuesta, la formulación óptima fue 5.64 % C, 1.50% L y 0.30% G. Los resultados sugieren que la combinación de lecitina de soya y goma gelana tiene un efecto positivo en la estabilidad coloidal.

**Palabras clave:** Bebida vegetal, cacahuete, *Arachis hypogaea*, estabilidad coloidal, diámetro de Sauter, diámetro de Brouckere

### ABSTRACT

Vegetable beverages are a healthy option, friendly to the planet, and fit the lifestyle of consumers desiring functional beverages of non-animal origin but with organoleptic characteristics similar to cow's milk. The objective of this study was to elaborate a vegetable beverage based on peanut (*Arachis hypogaea*) added with ginger (*Zingiber officinale*). Thirteen beverages were prepared with different formulations, varying the content of peanut (C), soy lecithin (L), and gellan gum (G) but keeping the amount of ginger fixed. Zeta potential, and particle size (Sauter's diameter and Brouckere's diameter) were analyzed initially and after two months of storage at 4°C. After two months of storage, the zeta potential ranged from -18 to -32 mV; Sauter diameter ranged from 11.46 to 27.33 µm; Brouckere diameter ranged from 49.17 to 99.38 µm. According to the design surface response, the optimum formulation was 5.64 % C, 1.50% L, and 0.30% G. The results suggest that soy lecithin and gellan gum positively affect colloidal stability.

**Key words:** Vegetable beverage, peanut, *Arachis hypogaea*, colloidal stability, Sauter's diameter, Brouckere's diameter

## INTRODUCCIÓN

La leche ha sido parte de la dieta del ser humano, producción alimentaria y cultura por más de 8000 años, sin embargo, hoy en día, el consumidor moderno busca opciones que considera más saludables, amigables con el planeta o que concuerdan más con sus estilos de vida; prefiriendo cada vez más las bebidas vegetales.

Una opción para preparar bebidas vegetales es el cacahuete (*Arachis hypogaea*). Este es un alimento muy completo, al ser una leguminosa tiene un buen contenido de proteína (25 %), también tiene un alto contenido de grasas (50 %) que son principalmente monoinsaturadas (54 %) y poliinsaturadas (27 %) (Bonku & Yu, 2020). También contiene fibra, minerales como el selenio y el zinc, vitaminas, incluyendo las del complejo B y vitamina E, además de antioxidantes (Bonku & Yu, 2020). Una especie que también es un prometedor nutraceutico y aditivo en la industria alimentaria es el jengibre (*Zingiber officinale*), por ser rico en antioxidantes, vitaminas, minerales y con propiedades curativas (Singh *et al.*, 2022), por lo que puede ser añadida a las bebidas ya que tiene un sabor atractivo.

Las bebidas a base de plantas consisten, en general, en soluciones coloidales de grasas y/o proteínas dentro de una solución acuosa contenedora de sales y azúcares (Do *et al.*, 2018). Son sistemas inestables, ya que las gotitas de aceite en una dispersión coloidal tienen una densidad menor al agua que las rodea por lo que ascienden a la superficie (cremado), en tanto que cualquier otra partícula de fragmentos vegetales son típicamente más densas que el agua y sus movimientos son descendentes (floculación o coalescencia) (McClements, 2020).

Una bebida vegetal debe al menos tener una vida de anaquel parecida a la de la leche, así como permanecer estables durante los usos típicos que se le den a ésta, por ejemplo, al añadirlas al café o té; de ahí la importancia de conocer los factores más importantes que afectan la estabilidad de estos sistemas coloidales. De esta manera, el objetivo del trabajo fue encontrar una formulación que permita obtener la estabilidad fisicoquímica de una bebida vegetal a base de cacahuete (*Arachis hypogaea*) con jengibre (*Zingiber officinale*).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materias primas

Cacahuete descascarado (*Arachis hypogaea*) adquirido a granel en la empresa Ecoksa, en la Ciudad de México, lecitina de soya en polvo marca G-EX®, goma gelana marca Ingredion®, jengibre deshidratado molido en cápsulas marca ZB Naturafilia®.

### Formulación

El diseño de mezcla de 13 corridas experimentales se propuso con el programa Minitab® versión 17, se consideró una mezcla de vértices extremos con tres componentes: cacahuete (4 % - 6 %), lecitina de soya (0.1 % - 1.5 %) y goma gelana (0.02 % - 0.30 %). Adicionalmente se añadió jengibre en polvo a la concentración de 0.085 % en las 13 formulaciones.

### **Preparación de las bebidas**

El cacahuete descascarado se pulverizó en una licuadora Oster® Xpert Series® a la velocidad 3. De acuerdo con la formulación propuesta, se mezcló el cacahuete molido, el jengibre en polvo, la lecitina de soya, la goma gelana, y agua caliente (70°C) utilizando la licuadora Oster® Xpert Series® a la velocidad 3 durante 6 min. Se envasaron las bebidas en recipientes de vidrio y se refrigeraron a 4°C.

### **Tamaño de partícula**

La distribución del tamaño de partícula se estudió a través de los parámetros diámetro de Sauter (D[3,2]) y diámetro de Brouckere (D[4,3]) medidos con un analizador de tamaño de partícula Malvern IM 026, series 2600 (Worcestershire, UK) usando un lente de 300 µm.

### **Potencial zeta**

El potencial zeta o potencial electrocinético se midió con un zetómetro ZetaPlus 21471 (Brookhaven Instruments, Holtsville, USA). Las bebidas se diluyeron con agua desionizada a la concentración de 0.125 mg/mL y se analizaron 4.5 mL de la dilución.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Tabla I se observa el diámetro de Sauter D[3,2] para las bebidas en el primer día de almacenamiento, el menor y mayor valor se obtuvieron para la formulación 11 y 3, respectivamente. Durante el almacenamiento aumentó el diámetro de Sauter, el menor y mayor valor se obtuvieron para la formulación 4 y 10, respectivamente. A los 60 días se observa mayor estabilidad en las bebidas con mayor contenido de lecitina de soya.

Tabla I. Diámetro de Sauter en bebidas de cacahuete durante el almacenamiento.

Formulación	% Cacahuete	% Lecitina de Soya	% Goma Gelana	Día 1 [µm]	Día 60 [µm]
1	5	0.8	0.16	11.23±0.22	22.45±0.43
2	5	0.1	0.02	5.28±0.63	17.71±2.63
3	4	0.8	0.3	15.99±0.14	23.51±0.35
4	6	0.8	0.3	8.87±0.28	11.46±0.54
5	4	0.1	0.16	9.05±0.11	18.64±0.16
6	5	0.1	0.3	5.49±0.08	26.89±0.65
7	6	1.5	0.16	11.17±0.82	14.85±0.40
8	6	0.8	0.02	8.21±0.40	21.40±0.44
9	5	1.5	0.02	6.78±0.27	11.77±1.18
10	4	0.8	0.02	10.52±0.07	27.33±0.30
11	6	0.1	0.16	4.60±0.04	16.10±0.50
12	5	1.5	0.3	4.89±0.52	17.76±0.07
13	4	1.5	0.16	9.10±0.24	23.16±0.82

Los valores de diámetro de Sauter del presente estudio fueron mayores a los reportados por Jeske *et al.* (2017), quienes obtuvieron datos de este parámetro en distintas bebidas vegetales comerciales de distinta materia prima, pero ninguna de ellas tenía al cacahuete en su formulación.

En la Tabla II se presenta el diámetro de Brouckere D[4,3] de las bebidas en el día 1 y 60 de almacenamiento. En el primer día, el menor y mayor valor del diámetro de Brouckere se obtuvieron para la formulación 11 y 7, respectivamente. En el día 60, el menor y mayor valor se obtuvieron para la formulación 4 y 13. Jeske *et al.* (2017) obtuvieron para el caso del diámetro de Brouckere valores menores a 5 µm para algunas bebidas vegetales comerciales, cifra por debajo del valor obtenido para todas las bebidas de cacahuete, aunque los autores reportaron un valor promedio de 81.47 µm para una bebida de quinoa, este valor es comparable con los obtenidos en el presente trabajo.



Tabla II. Diámetro de Brouckere en bebidas de cacahuete durante el almacenamiento.

Formulación	% Cacahuete	% Lecitina de Soya	% Goma Gelana	Día 1 [µm]	Día 60 [µm]
1	5	0.8	0.16	51.54±2.69	81.26±7.47
2	5	0.1	0.02	29.52±13.14	52.39±6.51
3	4	0.8	0.3	69.01±0.53	71.76±0.78
4	6	0.8	0.3	74.45±5.71	49.17±2.20
5	4	0.1	0.16	61.14±1.24	54.25±0.26
6	5	0.1	0.3	30.24±2.28	86.85±2.70
7	6	1.5	0.16	89.10±3.76	75.76±2.71
8	6	0.8	0.02	45.48±2.52	69.03±3.39
9	5	1.5	0.02	36.88±2.67	52.70±3.67
10	4	0.8	0.02	69.64±1.05	81.94±1.10
11	6	0.1	0.16	9.88±0.16	60.42±4.78
12	5	1.5	0.3	30.91±14.19	76.09±2.02
13	4	1.5	0.16	54.06±2.62	99.38±6.93

El potencial zeta es uno de los parámetros más útiles en el estudio de las interacciones eléctricas en los sistemas alimentarios, ya que este se relaciona con la estabilidad de los sistemas dispersos (Hunter, 2013). Un valor más alto (positivo o negativo) suele asociarse con mayor estabilidad.

En la Tabla III se muestra la potencial zeta de las bebidas en el día 1 y 60 de almacenamiento. Se observan valores entre -23 y -29.8 mV para el día 1 y entre -18 y -32 mV para el día 60. Los valores obtenidos para la bebida de cacahuete son comparables con los reportados por Bernat *et al.* (2015) quienes obtuvieron para una bebida de avellana valores de  $-23.8 \pm 1.2$  mV. El potencial zeta disminuyó en la mayoría de las bebidas después del almacenamiento, aunque aumentó en 4 formulaciones.

Tabla III. Potencial zeta en bebidas de cacahuete durante el almacenamiento.

Formulación	% Cacahuete	% Lecitina de Soya	% Goma Gelana	Día 1 [mV]	Día 60 [mV]
1	5	0.8	0.16	-29.78±0.85	-27.39±4.17
2	5	0.1	0.02	-26.79±3.73	-18.03±2.00
3	4	0.8	0.3	-27.98±2.77	-26.40±2.30
4	6	0.8	0.3	-28.79±2.33	-31.54±1.28
5	4	0.1	0.16	-27.37±3.70	-27.38±0.52
6	5	0.1	0.3	-28.15±2.84	-23.36±3.67
7	6	1.5	0.16	-24.77±3.31	-27.52±1.97
8	6	0.8	0.02	-23.55±2.90	-19.32±2.19
9	5	1.5	0.02	-22.98±4.22	-21.60±2.22
10	4	0.8	0.02	-25.57±3.06	-25.65±0.45
11	6	0.1	0.16	-22.99±3.54	-20.06±2.47
12	5	1.5	0.3	-24.36±4.28	-31.88±0.94
13	4	1.5	0.16	-25.30±2.51	-29.32±0.99

En análisis de superficie de respuesta realizado en el programa Minitab ® versión 17 mostró que la formulación óptima fue cacahuete 5.64 %, lecitina de soya 1.50% y goma gelana 0.30%. También se obtuvieron las ecuaciones cuadráticas y lineales de predicción de la Tabla IV después de analizar los efectos más significativos de los ingredientes cacahuete (C), lecitina de soya (L) y goma gelana (G) sobre las variables de respuesta: diámetro de Sauter (D[3,2]), diámetro de Brouckere (D[4,3]) y potencial zeta.

Tabla IV. Ecuaciones de predicción de los parámetros estudiados al día 1 y al día 60.

Parámetro	Día 1	Día 60
<b>D[3,2]</b>	$D[3,2] = 11.49 - 1.477 A + 14.39 B + 3.97 C - 8.15 B^2$	$D[3,2] = 39.36 - 3.6 A - 211 B + 1.2 C$
<b>D[4,3]</b>	$D[4,3] = 640 - 216.9 A - 139.8 B + 20.6 C + 18.79 A^2 + 30.8 A*B$	$D[4,3] = 93.5 - 6.62 A - 8.93 B + 24.8 C$
<b>Potencial zeta</b>	$\text{Potencial zeta} = -28.03 + 0.765 A - 6.92 B - 9.27 C + 5.21 B^2$	$\text{Potencial zeta} = -24.91 + 1.29 A - 3.84 B - 25.52 C$

A=Cacahuete, B=Lecitina de Soya y C=Goma gelana

## CONCLUSIÓN

La adición de lecitina de soya y goma gelana en las bebidas de cacahuete con jengibre tuvo un efecto positivo en la estabilidad coloidal. Porcentajes de lecitina de soya altos permiten la mayor estabilidad

de las bebidas. De las bebidas analizadas, la formulación 4 es la que presentó mejores características de estabilidad después de 2 meses de almacenamiento, esto es, bajos tamaños de partícula y altos valores de potencial zeta, la formulación óptima también contiene un alto contenido de lecitina de soya y goma gelana.

### BIBLIOGRAFÍA

- Bernat, N., Cháfer, M., Rodríguez-García, J., Chiralt, A., y González-Martínez, C. (2015). Effect of high pressure homogenisation and heat treatment on physical properties and stability of almond and hazelnut milks. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 488–496.
- Bonku, R., & Yu, J. (2020). Health aspects of peanuts as an outcome of its chemical composition. *Food Science and Human Wellness*, 9(1), 21–30.
- Do, D.T., Singh, J., Oey, I., & Singh, H. (2018). Biomimetic plant foods: Structural design and functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 82, 46-59.
- Hunter, R.J. (2013). Zeta potential in colloid science: principles and applications. London: Academic Press
- Jeske, S., Zannini, E., & Arendt, E.K. (2017). Evaluation of Physicochemical and Glycaemic Properties of Commercial Plant-Based Milk Substitutes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72, 26–33.
- McClements, D.J. (2020). Development of next-generation nutritionally fortified plant-based milk substitutes: Structural design principles. *Foods*, 9(4), 421.
- Singh, P., Mishra, G., Pottou, F. H., Singh, B., & Zeleke, M. M. (2022). Zingiber officinale: Its Ethanobotanical Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. In *Edible Plants in Health and Diseases* (pp. 1-42). Singapore: Springer.

## Elaboración de una bebida de nuez de macadamia

J.L. Serrano Zavala<sup>1</sup>, D.M. Hernández-Martínez<sup>1\*</sup> y G. Osorio-Revilla<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Biofísica, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomás, C.P. 11340, Ciudad de México, México.

<sup>2</sup>Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Ingeniería Bioquímica, Av. Wilfrido Massieu s/n, Col. Zacatenco, C.P. 07738, Ciudad de México, México.

\*[dhernandezmar@ipn.mx](mailto:dhernandezmar@ipn.mx)

### RESUMEN

El consumo de bebidas vegetales ha aumentado en los últimos años, debido a la necesidad de los consumidores por contar con bebidas alternativas a la leche de vaca, las cuales sean de origen más sostenibles, con nuevos sabores o con propiedades funcionales. Respondiendo a esa necesidad, el presente trabajo tuvo como objetivo elaborar una bebida a base de nuez de macadamia y estudiar su estabilidad fisicoquímica. Se elaboraron 15 bebidas con diferentes formulaciones, variando contenido de nuez de macadamia (M), lecitina de soya (L) y goma gelana (G). Se analizó el potencial zeta y tamaño de partícula (diámetro de Sauter y diámetro de Brouckere) en el día 1 y después de dos meses de almacenamiento en refrigeración a 4°C. Después de dos meses, el diámetro de Sauter varió entre 14.5 y 31.4 µm; el diámetro de Brouckere entre 55 y 81.7 µm y el potencial zeta entre -26.2 y -32.4 mV. De acuerdo a los resultados, la formulación más estable fue la 3 con 4 % M, 0.8 % L y 0.3% G. La combinación de goma gelana y lecitina de soya proporcionó buena estabilidad a la bebida.

**Palabras clave:** Nuez de macadamia, *Macadamia integrifolia*, diámetro de Sauter, diámetro de Brouckere, potencial zeta

### ABSTRACT

The consumption of vegetable beverages has increased in recent years due to the need of consumers for alternative beverages to cow's milk that could be of more sustainable origin, with new flavors or functional properties. In response to this need, the objective of this study was to elaborate on a macadamia nut-based beverage and study its physicochemical stability. Fifteen beverages were prepared with different formulations, varying macadamia nut (M), soy lecithin (L), and gellan gum (G) contents. The zeta potential and particle size (Sauter's diameter and Brouckere's diameter) were analyzed on day one and after two months of refrigerated storage at 4°C. After two months, Sauter's diameter ranged from 14.5 to 31.4 m; Brouckere diameter ranged from 55 to 81.7 m, and zeta potential ranged from -26.2 to -32.4 mV. According to the results, the most stable formulation was formulation 3 with 4 % M, 0.8 % L, and 0.3 % G. The combination of gellan gum and soy lecithin provided good stability to the beverage.

**Key words:** Macadamia nut, *Macadamia integrifolia*, Sauter's diameter, Brouckere's diameter, zeta potential

## INTRODUCCIÓN

Existe la necesidad de contar con bebidas alternativas al consumo de productos lácteos, ya que en los últimos años ha aumentado el consumo de estos productos en México de acuerdo con un estudio realizado por la consultora Euromonitor Internacional (Echeverría, 2020). Esta tendencia también ocurre a nivel global, el consumo de bebidas vegetales ha ido en aumento (Alcántar, 2017), ya que son una alternativa a la leche para un sector de la población que desea una dieta sin productos animales o más sostenibles, con nuevos sabores o productos con propiedades funcionales.

Las bebidas vegetales son atractivas debido a sus propiedades nutricionales y a las ventajas que éstas pueden aportar para la salud. Estas bebidas son una propuesta para llevar una alimentación equilibrada y saludable. Están preparadas con cereales (como la avena, el arroz o la quinoa), con frutos secos (como las almendras, avellanas y anacardos), con legumbres (como la soja y las chufas) o con semillas (como los cañamones o el sésamo) (Eroski Consumer, 2015).

La nuez de macadamia (*Macadamia integrifolia*) es una opción para la producción de bebidas vegetales, se destaca entre otras nueces por su elevado contenido de lípidos (71 %), que en su mayoría son ácido graso oleico y palmitoleico, que representan el 75% y el 25 % del total de los lípidos, respectivamente (Rodríguez-Millan, 2011; Sol, 2011). La nuez de macadamia tiene una composición de 1.7 % de humedad, 8.2 % de proteína, 1.2% de ceniza, 13.8% de carbohidratos, 3% de azúcares y 8.6% de fibra (USDA, 2020).

Uno de los principales retos de las bebidas de origen vegetal es mantener su estabilidad y recrear la consistencia de los productos lácteos. Las bebidas vegetales se componen principalmente del extracto vegetal y agua, obteniéndose consigo una emulsión, que consiste en una dispersión termodinámicamente inestable de dos líquidos inmiscibles, normalmente de naturaleza apolar y polar, en la que uno de ellos forma gotas de pequeño tamaño que se denomina fase dispersa o interna y el otro fase continua o externa (Muñoz, 2007). La estabilidad del producto final dependerá de la naturaleza de la materia prima, los estabilizantes utilizados, el método de extracción y las condiciones de almacenamiento (Cruz, 2007). Es por ello que el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la lecitina de soja y la goma gelana sobre la estabilidad de una bebida a base de nuez de macadamia durante 2 meses de almacenamiento en refrigeración.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materias primas

Nuez de macadamia (*Macadamia integrifolia*) adquirido a granel, lecitina de soja en polvo marca G-EX® y goma gelana marca Ingredion®

### Formulación

Para la formulación de la bebida de nuez de macadamia se utilizó un diseño de mezcla de vértices extremos con tres componentes utilizando el programa Minitab ® versión 17. Se obtuvieron 15 corridas experimentales variando las cantidades de nuez de macadamia (4 % - 6 %), lecitina de soja (0.1 % - 1.5 %) y goma gelana (0.02 % - 0.30 %) (Tabla I).

Tabla I. Formulaciones sugeridas con el diseño de mezcla.

Formulación	% Cacahuete	% Lecitina de Soya	% Goma Gelana
1	5	0.8	0.16
2	5	0.1	0.02
3	4	0.8	0.3
4	6	0.8	0.3
5	4	0.1	0.16
6	5	0.1	0.3
7	6	1.5	0.16
8	6	0.8	0.02
9	5	0.8	0.16
10	5	1.5	0.02
11	4	0.8	0.02
12	5	0.8	0.16
13	6	0.1	0.16
14	5	1.5	0.3
15	4	1.5	0.16

### Preparación de las bebidas

Se pulverizó la almendra de la nuez de macadamia en una licuadora Oster® Xpert Series® a la velocidad 3. De acuerdo con la formulación propuesta, se mezcló la nuez, la lecitina de soya, la goma gelana, y agua caliente (70°C) utilizando la licuadora Oster® Xpert Series® a la velocidad 3 durante 6 min. Se envasaron las bebidas en recipientes de vidrio y se refrigeraron a 4°C.

### Tamaño de partícula

La distribución del tamaño de partícula se estudió a través de los parámetros diámetro de Sauter (D[3,2]) y diámetro de Brouckere (D[4,3]) medidos con un analizador de tamaño de partícula Malvern IM 026, series 2600 (Worcestershire, UK) usando un lente de 300 µm.

### Potencial zeta

El potencial zeta o potencial electrocinético se midió con un zetómetro ZetaPlus 21471 (Brookhaven Instruments, Holtsville, USA). Las bebidas se diluyeron con agua desionizada a la concentración de 0.125 mg/mL y se analizaron 4.5 mL de la dilución en una celda de poliestireno. Se reportaron los valores de potencial zeta en unidades de milivolts.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla II se observa los parámetros de estabilidad al primer día de almacenamiento, y la Tabla III los parámetros de la bebida de nuez de macadamia después de 2 meses de almacenamiento.

Al día 1 el diámetro de Sauter D[3,2], o diámetro medio ponderal en superficie, varió de 6 a 30  $\mu\text{m}$ , y después de 2 meses varió de 14.5 a 31.4  $\mu\text{m}$ . Las bebidas con el menor valor de diámetro de Sauter a través del tiempo fueron la 3, 5 y 6.

Respecto al diámetro de Brouckere, o diámetro medio ponderal en volumen, los valores variaron de 38.3 a 125.6  $\mu\text{m}$  en el primer día de almacenamiento, y después de 2 meses varió de 55 a 81.7  $\mu\text{m}$ . Las bebidas el menor valor de diámetro de Brouckere a través del tiempo fueron la 3, 4 y 5.

De acuerdo con McClements (2020), la disminución del tamaño de partícula en las materias primas puede mejorar las características de mezcla al reducir la segregación con otros ingredientes en la mezcla, por lo que se espera que con un menor tamaño de partícula se obtendrá una mayor estabilidad en la bebida, ya que se reducirían los efectos de floculación o coalescencia entre partículas. Considerando lo anterior, la bebida que presenta bajos valores de diámetro de Sauter y Brouckere, la bebida 5, podría ser la más estable.

Tabla II. Tamaño de partícula y potencial zeta de bebidas de nuez de macadamia en el 1er día de almacenamiento a 4°C.

Formulación	Diámetro de Sauter D[3,2] [ $\mu\text{m}$ ]	Diámetro de Brouckere D[4,3] [ $\mu\text{m}$ ]	Potencial zeta [mV]
1	10.67±0.56	71.38±1.70	-29.85±1.71
2	6.88±0.16	53.36±0.78	-31.55±1.84
3	9.69±0.08	73.67±0.80	-33.05 ±1.53
4	7.56±0.13	43.7±1.40	-29.78 ±1.80
5	6.2±0.13	38.31±1.72	-29.98±1.98
6	6.79±0.30	59.88±4.63	-32.14±2.51
7	11.42±0.11	75.94±0.67	-33.04±1.69
8	11.55±0.02	87.61±0.20	-30.83±2.11
9	11.87±0.33	80.01±0.01	-31.24±1.98
10	15.94±0.08	98.9±0.45	-30.26±4.08
11	7.26±0.04	49.91±0.53	-31.13±2.94
12	11.47±0.08	91.7±1.46	-31.06±3.14
13	6.03±0.08	49.58±2.82	-31.42±2.11
14	13.36±0.10	99.12±0.88	-36.34±1.74
15	30.13±0.21	125.57±0.67	-34.71±1.53

Tabla III. Tamaño de partícula y potencial zeta de bebidas de nuez de macadamia a los 2 meses de almacenamiento a 4°C.

Formulación	Diámetro de Sauter D[3,2] [μm]	Diámetro de Brouckere D[4,3] [μm]	Potencial zeta [mV]
1	22.85±0.48	72.39±2.49	-29.25±3.23
2	16.86±0.42	72.49±2.03	-26.17±2.42
3	15.14±1.12	54.95±1.98	-32.39±0.99
4	21.03±2.72	69.5±0.28	-31.51±0.68
5	14.69±0.26	62.97±2.49	-31.45±0.29
6	14.53±0.48	61.81±6.21	-31.33±2.32
7	26.09±0.04	65.43±1.10	-31.98±1.03
8	21.97±0.15	77.76±0.86	-27.77±2.12
9	27.41±0.99	81.65±3.37	-29.92±0.68
10	28.71±2.24	81.15±3.96	-31.56±1.20
11	31.37±2.42	80.79±2.16	-29.57±3.07
12	31.25±3.40	105.54±2.28	-30.69±1.79
13	17.91±0.49	71.94±3.43	-29.98±1.85
14	21.99±0.33	72.85±0.28	-31.44±0.79
15	21.24±5.68	71.3±7.21	-32.24±3.12

El potencial zeta proporciona información sobre las fuerzas electrostáticas repulsivas entre partículas, considerando cada una de estas como una carga, por lo que se espera que en la emulsión se evite la floculación o coalescencia entre partículas y estas tengan mayor potencial zeta, se considera un sistema con valores  $\pm 30$  mV una dispersión estable (Cano, 2018). De acuerdo a lo anterior, las formulaciones tienen valores cercanos a -30 mV por lo que se consideran estables.

Durante el almacenamiento, en general, el potencial zeta disminuyó. En el primer día de almacenamiento se reportaron valores entre -29.8 y -36.3 mV y después de 2 meses valores entre -26.2 y -32.4 mV. La formulación 5 también presentó uno de los valores más altos y negativos de potencial zeta después de 2 meses de almacenamiento.

### CONCLUSIÓN

La combinación de lecitina de soya y goma gelana en las bebidas de nuez de macadamia fue favorable para mantener la estabilidad de la bebida. Altos porcentajes de goma gelana permitieron la mayor estabilidad de las bebidas. De las bebidas analizadas, la formulación 3 es la que presentó bajos valores de diámetro de Brouckere y diámetro de Sauter, así como altos valores de potencial zeta, por lo que se considera una formulación que proporciona la mayor estabilidad.

### BIBLIOGRAFÍA

Echeverria, M. (13 de noviembre 2020). Estas son algunas características de las bebidas vegetales.



- The Food Tech. Recuperado de: <https://thefoodtech.com/tendencias-de-consumo/estas-son-algunas-caracteristicas-de-las-bebidas-vegetales/>
- Alcantar, A. (11 de diciembre 2017). 'Leches' vegetales le quieren comer el mandado a la de vaca. El financiero. Recuperado de: <https://www.elfinanciero.com.mx/empresas/leches-vegetales-le-quieren-comer-el-mandado-a-la-de-vaca/>
- Eroski Consumer. (2015). Guía de compra: Bebidas vegetales. Bebidas vegetales: sucedáneos milenarios. Revista del consumidor Eroski Consumer, 200:13-21.
- Rodriguez-Millán P., Silva Ramírez, A. and Carrillo Inungaray M. (2011). Caracterización fisicoquímica del aceite de nuez de Macadamia (*Macadamia integrifolia*). CyTA-Journal of Food, 9 (1), 58-64.
- Cano-Sarmiento, C., Téllez-Medina, D. I., Viveros-Contreras, R., Cornejo-Mazón, M., Figueroa-Hernández, C. Y., García-Armenta, E., Alamilla-Beltrán, L. & Gutiérrez-López, G. F. (2018). Zeta potential of food matrices. Food Engineering Reviews, 10(3), 113-138.
- Sol, Q.G. (2011). Manual técnico para productores de nuez de macadamia. Guía de siembra, manejo y procesamiento. México: Asociación Mexicana de Productores, Procesadores y Exportadores de Nuez de Macadamia, A.C.
- U.S. Department of Agriculture (USDA) (30 de Noviembre de 2020). Macadamia Nut. FoodData Central. Recuperado de: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/1100525/nutrients>
- Muñoz, J., Alfaro, M.C., Zapata, I. (2007). Avances en la formulación de emulsiones. Grasas y Aceites, 58, 1, 64-73.
- Cruz, N., Capellas, M., Hernández, M., Trujillo, A. J., Guamis, B., & Ferragut, V. (2007). Ultra high pressure homogenization of soymilk: Microbiological, physicochemical and microstructural characteristics. Food Research International, 40(6), 725–732.
- McClements, D.J. (2020). Development of next-generation nutritionally fortified plant-based milk substitutes: Structural design principles. Foods, 9(4), 421.

## Uso de goma guar para el desarrollo de un bizcocho para personas con sensibilidad al gluten.

M. Palacios del Río<sup>1</sup>, F. Coronel Flores<sup>1</sup>, O.X. López-Méndez<sup>1</sup> y M.C. Calvo – Carrillo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Anáhuac México, Facultad de Turismo y Gastronomía, Av. De las Torres 131, Olivar de los Padres, Alcaldía Álvaro Obregón, C.P. 01780, Ciudad de México, México.

<sup>2</sup> Dirección de Nutrición, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Vasco de Quiroga 15, Colonia. Belisario Domínguez Sección XVI, Alcaldía Tlalpan, C.P. 14080, Ciudad de México, México. miguel.palacios@anahuac.mx.

### RESUMEN:

En la actualidad, debido al aumento de personas con sensibilidad al gluten no celiaca, ha surgido la necesidad de diseñar, formular y desarrollar productos libres de gluten; que tengan características muy similares a los elaborados con harina de trigo. El objetivo de esta investigación fue la elaboración de un bizcocho para pastel elaborado a partir de una mezcla de goma guar, albumina en polvo y harinas sin gluten para obtener un producto para personas con sensibilidad al gluten no celiaca. Se realizó una investigación de tipo experimental. Los resultados muestran que 7 de los 12 catadores no identificaron la muestra diferente, se puede afirmar que no existe una diferencia significativa. 10 de los 12 catadores indicó que las muestras codificadas con el número 628 y 149 fueron las que más les agradaron, siendo ambas muestras las que se tomaron del bizcocho modificado con goma guar, albumina en polvo y mezcla de harinas sin gluten. La función de la goma guar fue ayudar a aglutinar el batido del bizcocho y retener las burbujas de aire producidas por el royal. Se sugiere para continuar en un futuro con la investigación. Realizar el análisis químico proximal y calcular valor nutrimental del bizcocho modificado.

**Palabras clave:** sensibilidad, gluten, aditivo – alimentario, goma – guar

### Abstract

Currently, due to the increase in people with non-celiac gluten sensitivity, the need to design, formulate and develop gluten-free products has arisen; that have very similar characteristics to those made with wheat flour. The objective of this research was the elaboration of a cake biscuit made from a mixture of guar gum, albumin powder and gluten-free flours to obtain a product for people with non-celiac gluten sensitivity. An experimental type investigation was carried out. The results show that 7 of the 12 tasters did not identify the different sample, it can be affirmed that there is no significant difference. 10 of the 12 tasters indicated that the samples coded with the number 628 and 149 were the ones that they liked the most, both samples being those that were taken from the sponge cake modified with guar gum, powdered albumin and gluten-free flour mix. The function of the guar gum was to help bind the batter of the cake and retain the air bubbles produced by the royal. It is suggested to continue in the future with the investigation. Carry out the proximal chemical analysis and calculate the nutritional value of the modified sponge cake.

**Key words:** sensitivity, gluten, additive- food, gum guar

## INTRODUCCIÓN

De acuerdo con Molina *et al* (2014) “A lo largo de la última década, ha surgido de manera emergente la sensibilidad al gluten como una nueva entidad patológica” (p.363).

Según un estudio realizado en 2011 por el profesor Alessio Fasano, el cual fue aplicado a tres grupos de personas: grupo uno; con síntomas relacionados con la sensibilidad al gluten, grupo dos; celíacos y grupo tres; denominado el grupo control conformado por personas con dificultades digestivas (no intestinales), los resultados sugieren que “la enfermedad celíaca y la sensibilidad al gluten son dos entidades clínicas distintas, causadas por una respuesta diferente del sistema inmune al gluten y caracterizadas por diferentes grados de inflamación y lesión en la mucosa intestinal” (Targhetta, 2021, p.18). Posterior a este estudio en este mismo año en Londres se reunieron un grupo de expertos que por consenso definieron que “las afecciones producidas por el gluten son: alergia al gluten, enfermedad celíaca, la sensibilidad al gluten no celíaca y concluyeron que las manifestaciones clínicas intestinales de la SGNC son similares al síndrome de intestino irritable y la enfermedad celíaca” (Castañeda, 2019, p. 3)

Targhetta (2021) explica que:

Una de las principales causas de la sensibilidad al gluten, es una mala digestión de una proteína, la gliadina, en particular la alfa gliadina del trigo, la secalina del centeno y la hordeína para la cebada. Estas gliadinas son parte de la familia de las prolaminas, bien representadas en el gluten de trigo (p.19)

Sin duda alguna uno de los ingredientes más utilizados en la repostería y panadería es la harina de trigo, las personas con sensibilidad al gluten deben evitar el consumo de harina y sus derivados, y por lo tanto deben consumir productos con harinas o almidones sin gluten, por ejemplo; harina de arroz, harina de papa, harina de tapioca, las cuales son mezcladas con gomas como lo son; goma guar, goma xantana, cuya función es conferir a estos productos de panificación o repostería una relativa elasticidad, también se mezclan con algún tipo de emulgente; que estabiliza las burbujas de gas y ralentizan la difusión del dióxido de carbono durante el horneado (McGee, 2017).

Uno de los aditivos alimentario más utilizados en preparaciones para personas celíacas o con sensibilidad al gluten no celíaca es; la goma guar. Koppmann (2019) explica que “su poder espesante es mucho mayor que el de la goma xantana, por lo que sus aplicaciones en la industria derivan de su gran habilidad para retener el agua y dar estabilidad a la textura de los alimentos industrializados” (p. 92) en muchas formulaciones alimentarias podemos encontrar que la goma guar se mezcla con goma xantana para potenciar el efecto espesante en los productos. Por su parte Kohajdová & Karovicová explican que “la mezcla de la goma guar y la goma xantana disminuyen la pérdida de peso y la entalpía de retrogradación en los pasteles de arroz sin gluten” (como se citó en Castañeda *et al.*, 2020).

La albumina en polvo es una proteína que se utiliza en la industria de alimentos sobre todo en repostería y panificación; por su gran capacidad de batido, brinda estabilidad espumante, alta fuerza de gel y brinda homogeneidad a preparaciones como lo son; merengues, panes, bizcochos y bebidas proteicas (Figueroa y Gaucheta, 2021).

Por esta razón surgió la idea de desarrollar un bizcocho para pastel a base de harinas sin gluten, mezcladas con albumina en polvo y goma guar para obtener un producto con las características físicas de un bizcocho para pastel tradicional elaborado con harina de trigo.

## MATERIALES

Molde de acero inoxidable de 20 cm, horno convencional, batidor de globo de acero inoxidable, bowl de acero inoxidable con capacidad de 2 lts, Colador de acero inoxidable de doble malla, rejilla de acero inoxidable.

### Métodos:

- a) Selección y adquisición de la materia prima
- b) Diseño de las formulaciones para el bizcocho de pastel tradicional, así como el bizcocho para pastel con goma guar y mezcla de harinas sin gluten.
- c) Elaboración de ambos bizcochos.
- d) Selección, diseño y aplicación de evaluación sensorial.
- e) Conclusión

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La selección y adquisición de la materia prima se llevó a cabo de acuerdo con la NOM- 093-SSA1-1994.

En la tabla I se muestra la formulación del bizcocho para pastel tradicional y del bizcocho con goma guar y mezclada de harinas sin gluten.

**Tabla I.**

Formulaciones de bizcocho para pastel (referencia) y bizcocho para pastel (gomar guar, albumina en polvo y la mezcla de harinas sin gluten)

<b>Ingredientes</b>	<b>Bizcocho para pastel (referencia) (g)</b>	<b>%</b>	<b>Ingredientes</b>	<b>Bizcocho para pastel (modificado) (g)</b>	<b>%</b>
Azúcar refinada	190	25.96	Azúcar refinada	190	25.96
Aceite vegetal	95	12.98	Aceite vegetal	95	12.98
Leche entera	95	12.98	Leche entera	95	12.98
Huevo	150	20.49	Huevo	150	20.49
Esencia de vainilla	6	0.82	Esencia de vainilla	6	0.82
Harina de trigo	145	19.81	Mezcla de harinas sin gluten	145	19.81
Cocoa	45	6.15	Cocoa	45	6.15
Royal	6	0.82	Royal	6	0.82
<b>Total</b>	<b>732 (g)</b>	<b>100 %</b>	<b>Total</b>	<b>732 (g)</b>	<b>100 %</b>

**Nota:** elaboración propia.

En la tabla II se presenta la formulación de la mezcla de goma guar, albumina en polvo y la mezcla de harinas sin gluten.

**Tabla II.**

Formulaciones de la mezcla de goma guar, albumina en polvo y harinas sin gluten.

<b>Ingredientes</b>	<b>Mezcla de harinas sin gluten (g)</b>	<b>%</b>
Harina de arroz	42	28.97
Harina de papa	70	48.28
Harina de tapioca	17	11.72
Goma guar	4	2.76
Albumina en polvo	12	8.28
<b>Total</b>	<b>145 (g)</b>	<b>100 %</b>

**Nota:** elaboración propia.

**Proceso de elaboración del bizcocho para pastel con goma guar, albumina en polvo y harinas sin gluten:**

Se muestra el proceso general de la elaboración del bizcocho para pastel con goma guar, albumina en polvo y harinas sin gluten (Figura 1).

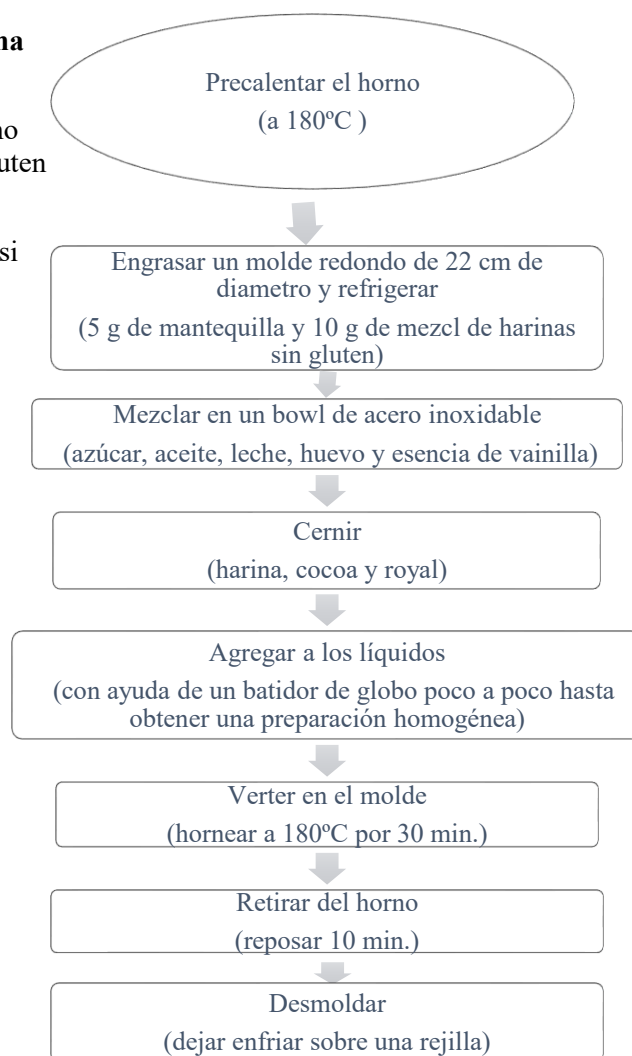
Finalmente se realizó una prueba discriminatoria para saber si hay diferencia o no entre ambos bizcochos para pastel.

La prueba empleada fue una prueba triangular, la cual se aplicó a 12 jueces entrenados.

Cada muestra fue cortada de la misma forma, en cuadros de 2 cm x 2 cm y colocados en capacillos blancos, a cada una se le asignó un código proveniente de una tabla de números aleatorios (Figura 2).

Los doce catadores probaron el bizcocho para pastel, elaborado con harina de trigo que denominaremos referencia, y también probaron el bizcocho para pastel que denominaremos como modificado. Bizcocho referencia (R) y bizcocho modificado (M).

Los tríos que se prepararon quedaron de la siguiente forma; RMM, RRM, RMR, MMR, MRR, MRM.



**Figura 1.** Proceso de elaboración del bizcocho para pastel con goma guar, albumina en polvo y mezcla de harinas sin gluten

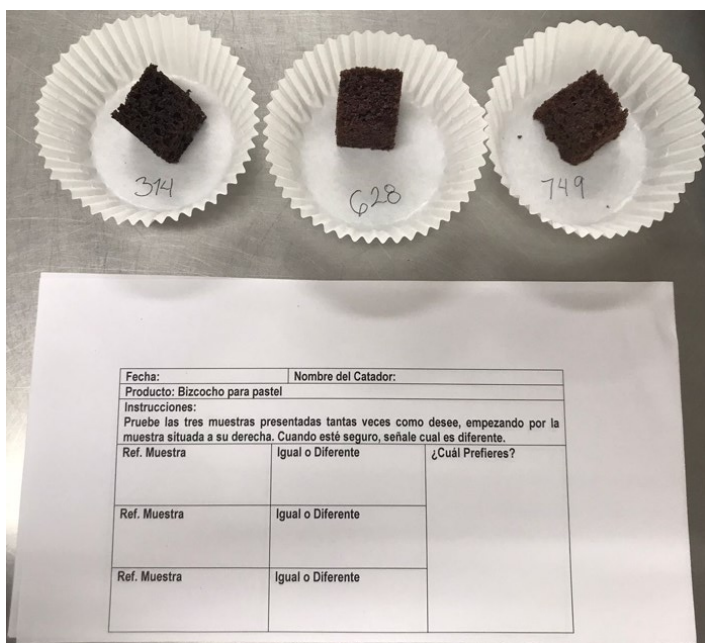


Figura 2. Muestras codificadas

Si a la muestra R la denominamos 314; a la segunda muestra R, 542, a la muestra M, 628 y a la segunda muestra M, 149, se prepararon 12 muestras con el 314, 12 muestras con el 628 y seis muestras del 542 y otras seis del 149. Con todo ello nos resultaron los siguientes tríos:

314- 628- 149 (Diferente – Igual – Igual)

314-542-628 (Igual – Igual – Diferente)

314- 628- 542 (Igual – Diferente – Igual)

628-314-149 (Igual – Diferente – Igual)

628-149-314 (Igual – Igual – Diferente)

628-314-542 (Diferente – Igual – Igual)

Y como fueron doce catadores se repitió la misma distribución para cada uno de la docena.

La interpretación de las respuestas se llevó a cabo mediante tablas para la interpretación de resultados de la prueba triangular (Anzadúa, 1994).

### Conclusión:

Debido a sus características físicas y químicas; la goma guar es uno de los aditivos alimentarios con un amplio uso en la industria de desarrollo de alimentos sobre todo en aquellos donde se sustituye el uso de la harina de trigo.

Los resultados obtenidos en la cata dieron que 7 de los 12 catadores no identificaron la muestra diferente, se puede afirmar que no existe una diferencia significativa.

A pesar de que no existe una diferencia significativa con relación a ambos bizcochos tanto el de referencia como el modificado, 10 de los 12 catadores indicó que las muestras codificadas con el número 628 y 149 fueron las que más les agradaron, siendo ambas muestras las que se tomaron del bizcocho modificado con goma guar, albumina en polvo y mezcla de harinas sin gluten.

Se logra observar que al final de la cocción el volumen del bizcocho modificado (Fig. 3). es superior al



Figura 3. Bizcocho elaborado con goma guar, albumina en polvo y mezcla de harinas sin gluten

bizcocho referencia (Fig. 4). En el caso del bizcocho referencia (Fig. 5 y 6). se obtuvo al final de la cocción una miga más compacta en comparación con el bizcocho modificado (Fig. 7 y 8).

Debido a que el bizcocho modificado no contiene harina de trigo que es la que al mezclarse con agua desarrollan una malla de gluten que es lo que aporta plasticidad y elasticidad a los productos de panificación y repostería como en este caso es el bizcocho; la goma guar ayudo a aglutinar la mezcla del bizcocho y retuvo las burbujas de aire producidas por el royal. La función de la harina de arroz fue dar una consistencia fina en el bizcocho modificado debido a que absorbe poca agua. La harina de papa funciono como mejorador de sabor y color, su función en el bizcocho modificado es de espesante.



**Figura 4.** Bizcocho referencia

Se sugiere para continuar en un futuro con la investigación.

Realizar el análisis químico proximal y calcular valor nutrimental del bizcocho modificado.



**Figura 5 y 6.** Bizcocho referencia





Figura 7 y 8. Bizcocho elaborado con goma guar, albumina en polvo y mezcla de harinas sin gluten

## BIBLIOGRAFÍA

- Anzaldúa, A. (1994). La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Zaragoza: Acribia.
- Castañeda Guillot, Carlos. (2019). Sensibilidad al gluten no celiaca. *Revista Cubana de Pediatría*, 91 (2). e820. Recuperado en 20 de mayo de 2022, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75312019000200013&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312019000200013&lng=es&tlng=es)
- Castañeda-Ovando, A., González-Aguilar, L.A., Granados-Delgadillo, M.A., & Chávez-Gómez, U.J. (2020). Goma guar. Un aliado en la industria alimentaria. *Pädi Boletín Científico De Ciencias Básicas E Ingenierías Del ICBI*, 7(14), 107-111. <https://doi.org/10.29057/icbi.v7i14.4988>
- Figueroa Vargas, M.N., & Gaucheta Ávila, M.A. (2021). Caracterización de la Albumina en polvo para su aprovechamiento en la industria de alimentos. [https://ciencia.lasalle.edu.co/ing\\_alimentos/732](https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/732)
- Koppmann, M. (2019). *Manual de Gastronomía Molecular: El encuentro entre la ciencia y la cocina*. Siglo XXI Editores.
- McGee, H. (2017). *La cocina y los alimentos: enciclopedia de la ciencia y la cultura de la comida*. Debate.
- Molina-Infante, J., Santolaria, S., Montoro, M., Esteve, M., & Fernández-Bañares, F. (2013). Sensibilidad al gluten no celiaca: una revisión crítica de la evidencia actual. *Gastroenterología y Hepatología*, 37(6), 362-371. <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2014.01.005>
- NOM-093-SSA1-1994. Bienes y servicio. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. *Diario Oficial de la Federación*. [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4882432&fecha=04/10/1995#gsc.tab=0](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4882432&fecha=04/10/1995#gsc.tab=0) (consultado el 10 de mayo de 2022)
- Targhetta, A. (2021). Sensibilidad al gluten. Nuevos conocimientos y posibilidades de tratamiento. Ediciones Obelisco.

## Caracterización proximal, sensorial y microbiológica de un chorizo elaborado en el Instituto Tecnológico Superior Zacatecas Norte y un Chorizo comercial, para su comparación.

\*J. Morales Cruz, M.A. González Arellano, F.J. Cruz Guillen, V.M. Esparza García y E. Santos Agüero

Instituto Tecnológico Superior Zacatecas Norte. Km 3 Carretera a González Ortega, C.P. 98400 Río Grande, Zacatecas, México. División de Ingeniería en Industrias Alimentarias.

[juanmor2004@yahoo.com.mx](mailto:juanmor2004@yahoo.com.mx)

### RESUMEN

Se elaboró un chorizo Tecnológico, al cual se le realizaron las determinaciones proximales, nutricionales, sensoriales y microbiológicas, se comparó nutricionalmente, sensorialmente y microbiológicamente con un chorizo comercial. Los resultados obtenidos fueron: Ch T: Proteína 14.9 %, Grasa 5.1 %, Humedad 67.4 %, Fibra 1.3 %, Cenizas 2.6 % y Extracto libre de Nitrógeno 8.6 %. Ch C: Proteína 7.9 %, Grasa 21.6 %, Humedad 57.6 %, Fibra 2.3 %, Cenizas 2.3 % y Extracto libre de Nitrógeno 8.2 %. El chorizo Tecnológico obtuvo mayor porcentaje de proteínas y menor de grasa, por tanto tiene características más saludables y nutricionales que el comercial, ya que tiene mucha grasa y pocas proteínas. Los resultados sensoriales fueron muy buenos en el chorizo Tecnológico y menores en el comercial, según los 12 jueces no entrenados que realizaron la evaluación. Los resultados microbiológicos de *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*, del chorizo Tecnológico están dentro de la Norma (NOM-213-SSA1-2017), y solamente resultó positivo de *Salmonella* en el comercial.

De manera general el Chorizo Tecnológico tiene mejores resultados proximales, sensoriales y microbiológicos, por tanto se considera de mejor calidad.

**Palabras Clave:** Chorizo, Caracterización, Sensorial.

**Área:** Cárnicos

### ABSTRACT

A Technological sausage was elaborated, to which the proximal, nutritional, sensory and microbiological determinations were made, it was compared nutritionally, sensory and microbiologically with a commercial sausage. The results obtained were: Ch T: Protein 14.9%, Fat 5.1%, Moisture 67.4%, Fiber 1.3%, Ash 2.6% and Nitrogen Free Extract 8.6%. Ch C: Protein 7.9%, Fat 21.6%, Moisture 57.6%, Fiber 2.3%, Ash 2.3% and Nitrogen Free Extract 8.2%. The Technological chorizo obtained a higher percentage of protein and less fat, therefore it has healthier and more nutritional characteristics than the commercial one, since it has a lot of fat and little protein. The sensory results were very good in the Technological chorizo and lower in the commercial one, according to the 12 untrained judges who carried out the evaluation. The microbiological results of *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Staphylococcus aureus*, of the Technological chorizo are within the Standard (NOM-213-SSA1-2017), and the only result was positive for *Salmonella* in the commercial one.

In general, Technological Chorizo has better Proximal, Sensory and microbiological results and is therefore considered to be of better quality.

**Key words:** Sausage, Characterization, Sensory.

## INTRODUCCIÓN

Los seres humanos demandamos cada día de alimentos sanos, seguros, nutritivos y económicos, estas condicionantes deben ser objeto de análisis para conservar y almacenar los alimentos bajo control de calidad, sobre todo cuando la globalización de la economía demanda mayor competitividad de todos los sectores económicos; de acuerdo a esta realidad, la industria alimentaria y con mayor razón la cárnica por la composición de su materia prima, debe cumplir con estas exigencias nutricionales y saludables para el consumidor final de estos productos.

Diversos artículos señalan el beneficio de la carne de cerdo incorporada a una alimentación saludable y equilibrada como factor de prevención de distintas enfermedades como obesidad, dislipemias, hipertensión y anemia, además de su gran aporte nutricional.

Es por eso que en el presente proyecto se tomaron en cuenta las necesidades de los consumidores, que a lo largo han estado pidiendo a las empresas nacionales o a gran escala como conocemos, otorgarles un producto con características organolépticas y fisicoquímicas correctas y acordes a las normativas implantadas por las principales secretarías, buscar la posibilidad de tener un producto sano y que sea beneficioso para el consumidor.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El chorizo se va a elaborar en el taller de productos cárnicos del Tecnológico, por triplicado, en ristas de tres kilogramos, empleando el procedimiento correcto, cabe señalar que la elaboración del chorizo criollo de cerdo, será en base a la bibliografía consultada y a la experiencia que se tiene, en la producción de productos cárnicos.

Al producto elaborado se le van a realizar los análisis siguientes: proximal, nutricional, sensorial y microbiológico, con el objetivo de determinar la calidad total del producto.

Se procederá a comprar un chorizo elaborado en la región, con la finalidad de realizar una comparación de las características bromatológicas, nutricionales y sensoriales, con el elaborado en el Tecnológico.

Dentro del análisis proximal, se determinará el contenido de humedad, proteína, grasa, carbohidratos, fibra, y cenizas, por los métodos descritos por la AOAC (1990). La evaluación sensorial que se va a realizar a los chorizos va a ser mediante un análisis descriptivo cuantitativo, con el apoyo de 15 jueces no entrenados, mediante una escala de 5 puntos, donde los atributos a medir son: sabor, color, olor y textura.

Los análisis microbiológicos realizados a los chorizos fueron los siguientes: Mesófilos aerobios, Coliformes totales, Escherichia Coli y los patógenos: *Salmonella* y *Listeria monocitogenes*,

La evaluación sensorial de los dos tipos de chorizos (Comercial y Tecnológico), se realizó con el apoyo de 12 jueces no entrenados, a través de un análisis descriptivo cuantitativo de 5 puntos, donde se evaluaron los siguientes atributos: Color, sabor, olor y textura.

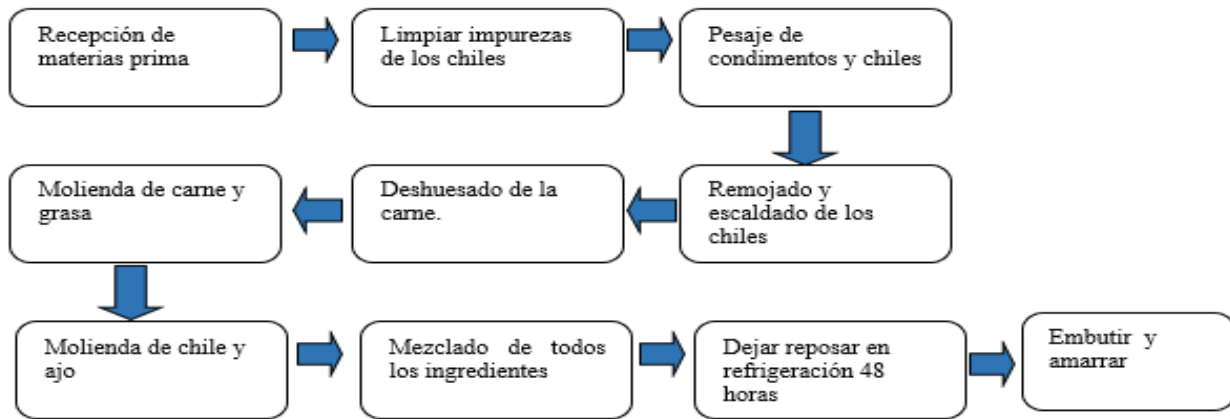


Figura 1 Diagrama de flujo del proceso de elaboración del chorizo

## RESULTADOS

### Análisis Proximal

#### Chorizo Comercial

Los resultados de análisis proximal del chorizo Juárez, son: Proteína 7.9%, Grasa 21.6%, Humedad 67.4% Fibra 1.3%, Cenizas 2.6% y Extracto libre de Nitrógeno 8.6%.

#### Chorizo Tecnológico

Los resultados del chorizo Tecnológico fueron: Proteína 14.9 %, Grasa 5.1 %, Humedad 67.4 %, Fibra 1.3 %, Cenizas 2.6 % y Extracto libre de Nitrógeno 8.6 %.

Tabla I Resultados análisis proximales de los dos chorizos

Parámetros	Resultado% (Ch C)	Resultado% (Ch T)
<i>Humedad</i>	57.6	67.4
<i>Grasa</i>	21.6	5.1
<i>Proteína Cruda</i>	7.9	14.9
<i>Fibra Cruda</i>	2.3	1.3
<i>Cenizas</i>	2.3	2.6
<i>Extracto Libre de Nitrógeno</i>	8.2	8.6

Según (Fernández F, Composición y valor nutricional del chorizo, 2008), el porcentaje de humedad es de 43.68 %, sin embargo, estos resultados obtenidos presentan una tendencia hacia la variación de la formulación del alimento.

En cuanto la proteína, varío entre 7.9 % (Ch C) Y 14.9 % (Ch T), estableciendo un valor superior debido a lo ya antes mencionado (porción de carne origen animal), comparado con lo que dice (Fernández F, Composición y valor nutricional del chorizo, 2008) un chorizo proporciona alrededor un 20 % de proteína, esto permite conocer que el producto (Ch T) presenta mejores propiedades nutricionales que el (Ch C).

Como se observa en la tabla anterior, el chorizo Tecnológico, muestra valores promedio de humedad, proteína, fibra, cenizas, grasa y extractos libre de hidrogeno: el contenido de humedad varío entre 57.6 (Ch C) y 67.4 (Ch T),

Presentando el chorizo Tecnológico un valor superior al del chorizo comercial, esto puede ser atribuido a la mayor proporción de carne de origen animal.

**Resultados evaluación sensorial**

Los resultados de la evaluación sensorial con ayuda de 12 panelistas no entrenados los cuales describen en promedio siguientes características: Olor, color, sabor y textura.

Promediando los cuatro atributos juntos, se obtiene un resultado favorable para nuestro proyecto, ya que esto indica que el chorizo Tecnológico sensorialmente tiene una buena calidad sensorial. Considerando estos parámetros sensoriales basándonos en la experiencia de los jueces se definieron los atributos considerando en rango del 1 al 5. Promediando los cuatro atributos, se obtienen un resultado favorable, indicando que el chorizo Tecnológico sensorialmente tiene una buena calidad.

Tabla II Evaluación sensorial (Resultados) chorizo comercial

M CHC	Evaluadores												Impresión General (Promedio)
Atributo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Color	4	4	4	4	3	4	4	5	4	4	4	4	4
Olor	3	2	2	2	2	4	2	2	2	2	2	4	2.4
Sabor	4	3	3	4	4	4	4	4	3	3	2	2	3.3
Textura	3	3	3	4	4	3	3	2	4	3	3	1	3
Total													3.19

Tabla III Evaluación sensorial (Resultados) chorizo tecnológico

M CHT	Evaluadores												Impresión General (Promedio)
Atributo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Color	2	3	2	2	4	3	2	2	3	2	3	3	2.6
Olor	4	2	2	1	4	2	4	1	4	4	1	3	2.7
Sabor	2	3	2	4	4	4	2	3	5	2	3	3	3.7
Textura	4	2	3	3	4	3	4	3	3	4	3	2	3.2
Total													4.0

**Resultado análisis microbiológico**

Tabla IV Resultados análisis microbiológico

Determinaciones	Parámetros según NOM-213-SSA1-2017		Resultados (Ch C)	Resultados (Ch T)
	m	M		
<i>Mesófilos aerobios*</i>	100 UFC/g	10000 UFC/g	780 UFC/g	560 UFC/g
<i>Coliformes Totales</i>	120 UFC/g	10000 UFC/g	40 NMP/g	0 NMP/g
<i>Escherichia coli</i>	<3 NMP/g	<10 NMP/g	0 NMP/g	0 NMP/g
<i>Salmonella spp</i>	Ausente en 25g	Negativo	Positivo	negativo
<i>Staphylococcus aureus</i>	10,000 UFC/g	100,000 UFC/g	25,000 UFC/g	70,000 UFC/g

De acuerdo con Martínez 2005 el *Staphylococcus aureus* es un microorganismo capaz de producir componentes superficiales llamados toxinas y producir enzimas extracelulares. En general, estos componentes son capaces de provocar severas intoxicaciones alimentarias en función de la cantidad ingerida de alimento.

De manera general la calidad microbiológica del chorizo comercial, se considera mala, ya que presenta altos niveles de *Salmonella* y por tanto no cumple con lo que exige la normatividad, que debe ser cero microorganismos patógenos en 25 g de muestra. Por otro lado, el chorizo tecnológico garantiza un producto apto para el consumo humano, debido a que se obtuvieron muy buenos resultados en todas las determinaciones efectuadas, incluyendo a los microorganismos patógenos.

## CONCLUSIÓN

En esta Investigación se determinaron las características proximales, nutrimentales y microbiológicas de dos tipos de Chorizo, en donde el elaborado en el Tecnológico, obtuvo un porcentaje más bajo de grasa y más alto de proteínas, comparado con el comercial. En cuanto a la calidad organoléptica el chorizo Tecnológico resulto con mejores resultados. En las determinaciones microbiológicas el comercial resulto contaminado con *Salmonella*. Por tanto se concluye que el Chorizo Tecnológico es de mejor calidad proximal, sensorial y microbiológica.

## BIBLIOGRAFÍA

- USDA, Chorizo y productos cárnicos, 2006,
- Fernández, M., 2010. Distribución geográfica, producción y comercialización del chorizo verde en el Valle de Toluca. Tesis (Licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de México.,
- Llana, J. 1996, Embutidos crudos y curados, 1ra ed. Zaragoza-España. Edit Acribia pp 8-23.
- Kirk, R. 1999, Composición y análisis de alimentos de Pearson CECSA, 2da ed México-Mexico edit Continental pp 10-15.,
- Prince, J. 1986, Ciencia de la carne y de los productos cárnicos. 1ra ed. Zaragoza-España. Edit Acribia, p 6.
- Forrest, J. 1989. Fundamentos de la ciencia de la carne, 2da ed. Zaragoza-España. Edit, Acribia, p 2.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2018, Productos y servicios. Productos cárnicos procesados y los establecimientos dedicados a su proceso. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- Rivera, 2010. Calidad de los alimentos vinculada al origen y las tradiciones en América Latina: estudios de casos. Italia: FAO-IICA.
- Mira, M 1998, Historia de los embutidos, UAED.
- CODEX, 2014 “Productos embutidos”.
- Fernández F. 2008 Composición y valor nutricional en el chorizo.
- Lawrie, R. 1987. Ciencia de la carne, 1ra ed Zaragoza-España, Edit Acribia. p 4.
- Escartín y col, 1999, Calidad microbiológica y riesgo sanitario en chorizos.

## Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

- Flores, J, 2000. Parametrós de calidad utilizados para la normalización o tipificación de los productos cárnicos, Rev Agroup Aliment, 1ra ed México-México Edit Continental, p 6.
- Wirth, F. 1981. Valores normativos de la tecnología de la carne, 2da Ed Zaragoza-España, Edit Acribia. p 2.
- Sanz, C. 1986. Enciclopedia de la carne 1ra ed Zaragoza-España Edit Espasa-Calpe S.A. p 1.
- CIAP. 2017 “Manual de propiedades y características del chorizo”.
- ESCARTIN, E.F., CASTILLO, A., HINOJOSA-PUGA, A., SALDAÑA-LOZANO, J. (1999). Prevalence of Salmonella in chorizo and its survival under different storage temperatures. Food Microbiology 16: 479-486.
- Jiménez F, 2010. “Principios básicos de elaboración de embutidos”, Ministerio de agricultura pesca y alimentación.
- Becerril, S. y col 2022, Calidad sanitaria del chorizo rojo tradicional que se comercializa en la ciudad de Toluca, Estado de -México, 2022.
- Bavera, G. A, 2006. Cursos de Producción Bovina de Carne, FAV UNRC.
- FAO, 2006,” Características de productos embutidos curados y cocidos”.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (Colombia). Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para el recuento de estafilococos coagulasa positiva (*Staphylococcus aureus* y otras especies).
- W. Pezacki, 1981. Algunos conocimientos básicos en la elaboración de embutidos secos (crudos). Fki~hwirtschaft-EPPiioI No 2, 40-45.
- Romero M y Col, 2013. Nutritional value and fatty acid composition of some traditional Argentinean meat sausages. Food Sci. Techn.

## Potencial del nopal (*Opuntia ficus-indica*) para su incursión en la industria de la confitería: Una breve revisión

A. Ponce-Luna<sup>1</sup>, E. Pérez-Escalante<sup>1</sup>, L. García-Curiel<sup>2</sup>, A. A. Hernández-Hernández<sup>1</sup>, E. Contreras-López<sup>1</sup> y J. G. Pérez-Flores<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Área Académica de Química, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Carretera Pachuca-Tulancingo, km 4.5 C.P. 42184. Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

[jesus\\_perez@uaeh.edu.mx](mailto:jesus_perez@uaeh.edu.mx)

<sup>2</sup>Área Académica de Enfermería, Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Circuito Ex Hacienda La Concepción S/N Carretera Pachuca Actopan, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo, México, C.P. 42060.

### RESUMEN

El nopal es una fuente de diversos componentes bioactivos y tecno-funcionales que pueden ser aprovechados para el desarrollo de nuevos productos. Dentro de estos compuestos, destaca el alto contenido de polifenoles o polisacáridos relacionados con actividades antioxidantes, antidiabéticas y anticancerígenas. Además, el nopal cuenta con polisacáridos estructurales útiles para fines tecnológicos, como el mucílago empleado en la elaboración de mermeladas o como reemplazante de agentes gelificantes en formulaciones de malvaviscos o dulces de cacao. En este sentido, la industria de la confitería presenta un gran nicho de oportunidad para generar productos a base de nopal, una vez que son escasos los avances en la utilización de esta especie botánica en dicha industria. Una propuesta interesante es la obtención de confitados suaves o duros a partir del uso de partes comestibles del nopal, materiales de recubrimiento y bombos industriales, cuyo proceso no requiere de la aplicación de altas temperaturas, permitiendo mantener un mayor contenido de componentes biológicamente activos comparado con productos provenientes de la industria de panificación. De esta manera es posible cumplir con uno de los factores primordiales para el consumo de productos de nopal, el cual está asociado con la obtención de beneficios hacia la salud.

**Palabras clave:** Nopal; Confitería; Viabilidad de mercado

### Abstract

Nopal is a source of a broad diversity of bioactive and techno-functional compounds, which could be used for novel product development. Within those components stands out the high content of polyphenols and polysaccharides related to antioxidant, antidiabetic, and anticancerogenic properties. In addition, nopal has structural polysaccharides like mucilage, which has been applied in jelly, marshmallows, and cocoa candies formulations. In this sense, the confectionery industry shows a great target for nopal-based development products because the advances for this industry are very scarce so far. An interesting proposal is the production of soft or hard sugar panning candies using different coating materials and edible nopal parts. A higher concentration of bioactive compounds can be achieved in this process because this does not require high temperatures, compared to products from the baking industry. In this way it is possible to comply with one of the main factors for the consumption of nopal products, obtaining health benefits.

**Keywords:** *Opuntia*; Confectionery; Market viability



## INTRODUCCIÓN

El nopal se encuentra dentro del género *Opuntia*, cuya principal característica es la presencia de espinas, mismas que se encuentran alrededor de la penca. Estas espinas, que por lo general son de tamaño pequeño, se encuentran agrupadas en gran número y son conocidas como ahuates (Peña-Valdivia *et al.*, 2008; Pilligua Piguave, 2017). México es el principal productor de nopal en el mundo, con un 36% de la producción total, mientras que el estado de Hidalgo ocupa el sexto lugar como productor de esta especie en el país. Adicionalmente, la región centro de México demanda el 50% del consumo total de nopal del país, por lo que el empleo de este recurso repercutiría directamente en la activación económica de dicha región (Torres Salcido & Cornejo Oviedo, 2018; Ciriminna *et al.*, 2019; Roldán Cruz, 2019).

Morfológicamente, el nopal es una planta arbustiva con un tronco leñoso y ramas que forman cladodios, conocidos comúnmente como nopalitos si éstos son frescos, o pencas si son adultos (Espinoza Sánchez *et al.*, 2014; Pilligua Piguave, 2017). Su composición química puede llegar a variar dependiendo de la edad del nopal, teniendo un contenido proteico, de grasa, cenizas, fibra cruda y extracto no nitrogenado de 3.7-9.4%, 1.0-1.4%, 13.2-21.0%, 8.0-17.0% y 60.6-66.7% en base seca, respectivamente (Sáenz & Berger, 2006). Por otro lado, el nopal es fuente de diversos fitoquímicos con potencial nutraceutico y bioactivo (Angulo-Bejarano *et al.*, 2014; El-Mostafa *et al.*, 2014; Slimen *et al.*, 2016; Rochetti *et al.*, 2018; Barba *et al.*, 2020; de Albuquerque *et al.*, 2021), los cuales pueden ser aprovechados para ofertar un vehículo de consumo distinto al convencional. Dentro de los componentes con efecto positivo hacia a la salud destacan, por ejemplo: polifenoles, carotenoides, betalaínas, ácido ascórbico y tocoferoles con capacidad antioxidante, así como esteroides y ácidos grasos.

En lo que respecta al mercado para productos a base de nopal, un estudio realizado por de Albuquerque *et al.* (2019) demostró una alta potencialidad para dicho mercado ya que dentro de los hallazgos encontrados se reveló que tanto la población brasileña como mexicana está dispuesta a aceptar este tipo de productos, incluso a pesar de que el nopal no se encuentra dentro de la cultura alimentaria de Brasil. No obstante, la pulpa de nopal ha tenido un escaso avance como ingrediente bioactivo y/o tecnofuncional para la industria de la confitería, teniendo como únicos ejemplos la aplicación de nopal en productos como malvaviscos (du Toit, 2018) y caramelos macizos o gomitas (Corrales-García, 2007), donde el mucílago presente en el nopal es utilizado como reemplazante de alguno de los ingredientes de la formulación.

Dado lo anterior, la presente revisión tiene el objetivo de plantear un esquema general de las propiedades morfológicas, fisicoquímicas y funcionales del nopal, así como brindar un panorama general de los productos donde se ha incluido a esta especie para finalmente establecer sus posibles aplicaciones en la industria de la confitería.

### **Generalidades del nopal: Morfología y composición química**

El nopal se encuentra dentro del género *Opuntia* es una planta arbustiva donde las ramas forman cladodios (Figura I). Dentro del nopal se encuentran dos capas, la capa externa llamada clorénquima y una capa interna que se encuentra formada por células blancas (parénquima), donde es posible encontrar un reservorio de mucílago.

Las flores del nopal son hermafroditas, presentan forma redonda con una longitud de entre 6 y 7 cm, los principales tonos que estas flores llegan a presentar son tonos rojizos, amarillentos y blanquecinos. Los

frutos por su parte se producen a través de la florescencia, son comúnmente conocidas como tunas y son una especie de baya falsa en forma ovoide, carnosa y con gran número de semillas. La forma y el tamaño de estos frutos varía de acuerdo a la especie, pero todas presentan una morfología similar con abundantes espinas pequeñas durante la maduración (Muñoz-Urias *et al.*, 2008; Pilligua Piguave, 2017; Vela, 2022).



**Figura I.** Descripción botánica del nopal. Adaptado de <https://arqueologiamexicana.mx/mexico-antiguo/las-partes-del-nopal>

La composición química del nopal puede llegar a variar dependiendo de la edad de éste, en la Tabla I se muestra la variabilidad composicional de acuerdo con la maduración de la especie. Así mismo, se considera a la especie *Opuntia ficus indica* como un alimento nutricional, ya que, al ser de origen vegetal, aporta grandes cantidades de minerales, fibra y compuestos fitoquímicos capaces de proporcionar en gran medida valores nutricionales altos. El nopal es capaz de aportar vitaminas A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, C y en gran medida minerales como el calcio y el potasio (Guzmán Loayza & Chávez, 2007; Torres-Ponce *et al.*, 2015; Magro & Pérez, 2017).

**Tabla I.** Composición del nopal como porcentaje respecto a materia seca. Obtenido de Sáenz & Berger, 2006.

**Propiedades bioactivas del nopal**

Edad (años)	Descripción	Proteína	Grasa	Ceniza	Fibra cruda	Extracto no nitrogenado
0.5	Brotos	9.4	1.00	21.0	8.0	60.6
1	Nopal	5.4	1.29	18.2	12.0	63.1
2	Nopal	4.2	1.40	13.2	14.5	66.7
3	Nopal	3.7	1.33	14.2	17.0	63.7

La principal propiedad bioactiva que presenta el nopal es su capacidad antioxidante, misma que ha sido demostrada de forma *in vitro* a través de análisis como DPPH y FRAP. Rochetti *et al.* (2018) encontraron que los cladodios mantuvieron concentraciones equivalentes de ácido gálico de entre 1040 y 1638 mg por kilogramo de materia fresca. Además, encontraron una concentración de compuestos polifenólicos equivalente a 2 g/kg en extractos hidro-alcohólicos, asociando la alta capacidad antioxidante con esta concentración de polifenoles. Así también, Barba *et al.* (2020) destacan la alta cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides, con concentraciones de 2.48 g equivalentes de ácido gálico/100 g de materia seca y 1.06 g de quercetina equivalente/ 100 g de materia seca, respectivamente.

Otras bioactividades atribuidas al nopal han sido por ejemplo su asociación con efectos antidiabéticos, donde en conjunto con algunas plantas medicinales se han controlado los niveles sanguíneos de glucosa, atribuyéndose este efecto al contenido de polisacáridos presente en el nopal. Adicionalmente, se ha relacionado una potencial actividad anticancerígena por parte del nopal derivado de su capacidad antioxidante, teniendo efectos positivos sobre algunas líneas ováricas celulares (Angulo-Bejarano *et al.*, 2014; Slimen *et al.*, 2016; Tahir *et al.*, 2019).

**Viabilidad de mercado y algunos ejemplos de desarrollo de productos a base de nopal.**

Basado en un estudio de aceptación de productos de nopal realizado recientemente por de Albuquerque *et al.* (2019) donde participaron 200 personas tanto de México como de Brasil es posible determinar que dichas poblaciones mantienen una alta probabilidad de consumo de este tipo de productos. Dentro de los resultados más sobresalientes se encontró que la aceptación está basada principalmente en las propiedades funcionales y nutraceuticas que ofrece el nopal, así como por el beneficio económico que puede ser alcanzado en zonas áridas y semiáridas, donde la abundancia de nopal es mucho mayor.

Por otro lado, algunos ejemplos de productos a base de nopal desarrollados han sido snacks de tercera generación con harinas de nopal y arroz (Anchondo-Trejo *et al.*, 2021), galletas de harina proveniente de cladodios (Nabil *et al.*, 2020), galletas a base de harina de nopal, el hongo *Pleurotus ostreatus* y amaranto (Uriarte-Frías *et al.*, 2021), gelatina y fruta confitada (da Silva Júnior *et al.*, 2013), mermeladas a partir de pulpa de nopal (Barba *et al.*, 2020) y aplicación de la pulpa como agente colorante en yogur (Carmona, *et al.*, 2021).

**Aplicación del nopal en la industria de la confitería**

Como se ha descrito con anterioridad, los productos que han sido desarrollados adicionando alguna parte comestible del nopal han estado orientados principalmente en la industria de la panificación o de

mermeladas. No obstante, existen algunos ejemplos de desarrollos en la industria confitera, donde pueden destacarse los siguientes ejemplos.

Peña Custodio (2019) propuso la elaboración de un dulce confitado a base de mango, tratándose de aprovechar el mango en estado de maduración temprana. Una vez confitado el producto final fue un dulce con un 70% de sólidos solubles y con un tiempo de 60 días de conservación. du Toit (2018) sustituyó gelatina como ingrediente en la elaboración de malvaviscos, encontrando que la mejor formulación de reemplazo consistió en la mezcla de 75% de mucílago de nopal, 12.5% de goma xantana y 12.5% de agar. Así también, Pilligua Piguave (2017) utilizó la pectina de nopal para la generación de una jalea de cacao, encontrando una buena aceptación por parte de los panelistas encargados de realizar el análisis sensorial, pero con ligeros defectos texturales que se plantea mejorar. Por último, en la región de Jocotitlán perteneciente al Estado de México, se elabora un dulce artesanal a base de nopal, el cual es hervido con azúcar o piloncillo y ofertado a la población local. Según un análisis mercadológico realizado por Santamaria-Mendoza (2018), este dulce tiene un alto potencial de venta, lo que permitiría introducirlo a otros puntos de adquisición como tiendas de abarrotes o mercados locales.

### **Propuesta de productos de confitería donde puede ser introducido el nopal**

Basado en los avances existentes en la elaboración de productos de confitería a base de nopal, es posible determinar que un área de oportunidad para el desarrollo de este tipo de productos se encuentra en la generación de dulces confitados con azúcar.

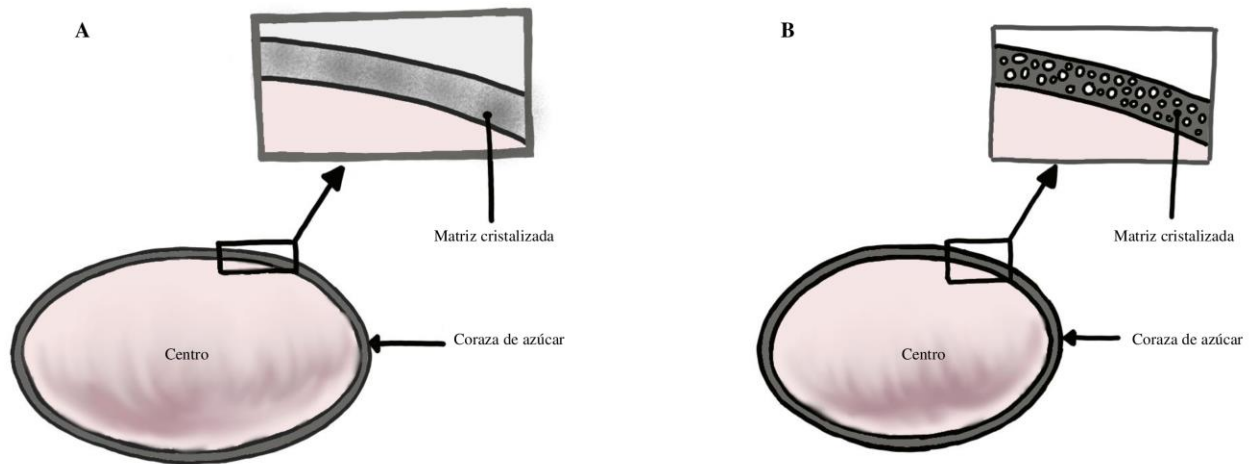
Este tipo de dulces pueden ser definidos como caramelos azucarados a los que se les realiza un proceso específico para la adición de una capa de azúcar al núcleo base y, a medida que se le añaden más capas por medio de la asistencia de un bombo (Figura II), las corazas obtenidas comienzan a poseer texturas diferentes, desde duras y quebradizas hasta suaves (Figura III). Un elemento importante que llega a influir en las corazas es la composición de los jarabes y la propia naturaleza del azúcar al formar cristales que ayudan a crear la cubierta (Herrero, 1991; Cedeño Briones, 2010; Hartel, *et al.*, 2018).



**Figura II.** Bombo industrial. Adaptado de <http://www.bombosymaquinaria.com/serviciosyproductos.htm>

El proceso general para la elaboración de productos confitados suaves consiste en que, una vez recubierto los centros, se procede a la generación de una cáscara de azúcar a través de la adición consecutiva de jarabe y polvo seco. La composición típica de un moldeado suave va del 50 al 60% en composición del núcleo, 30 a 35% de azúcar o polvo seco, 10 a 12% de jarabe absorbente y un aproximado de 2% de ingrediente menores tales como, la pre-capa, saborizantes, agentes acidulantes y colorantes.

En el caso del moldeado duro, una vez que el centro se encuentra pre-recubierto se procede a recubrir con jarabe de manera homogénea; un factor crucial en este procesamiento es la viscosidad del jarabe, debido a que, si éste es muy viscoso, provoca que otras piezas se adhieran entre sí, mientras que si la viscosidad es muy baja la concentración de agua es mayor y como consecuencia se necesita un secado más prolongado para dar paso a la formación de los cristales. Aunado a lo anterior, las temperaturas para promover la cristalización están íntimamente relacionadas con la sensibilidad térmica del centro, si se utilizan centros con una baja tolerancia a altas temperaturas, es recomendable que la cristalización se lleve a cabo por debajo del punto de ablandamiento. Por el contrario, si el centro resiste altas temperaturas, es posible aplicar calor de manera directa para acelerar el proceso de secado y cristalización (Boutin *et al.*, 2004; Adele, 2005; Hartel & Hartel, 2014; Hartel *et al.*, 2018).



**Figura III.** Cristalización de coraza dura (A) y suave (B). Adaptado de Hartel *et al.* (2018).

## CONCLUSIONES

El nopal es una especie botánica que puede ser ampliamente aprovechada para potencializar la economía de las regiones donde es cultivado a partir del desarrollo de nuevos productos. Éstos, deben permitir la ingesta de sus diferentes componentes biológicamente activos sin comprometer su estabilidad, por lo que la generación de formulaciones adecuadas y sobre todo con una alta aceptación por parte de consumidores potenciales, debe ser el punto crucial del desarrollo. Así también, aunque el mercado de productos a base de nopal ha exhibido una mayor demanda, es cierto que no existe una amplia gama de productos de consumo que oferten una propiedad funcional y que a la vez produzcan una respuesta hedónica positiva. En este sentido, la industria de la confitería tiene un nicho de oportunidad, debido a que los productos de esta industria provocan comúnmente placer al consumidor, por lo que desarrollar productos con esta respuesta y que además puedan tener un beneficio sobre la salud, implicaría un gran avance en la tecnología de alimentos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adele, F. (2005). Automated panning technology. *Manufacturing Confectioner*, 85(11), 31.
- Anchondo-Trejo, C., Loya-Carrasco, J. A., Galicia-García, T., Estrada-Moreno, I., Mendoza-Duarte, M., Castellanos-Gallo, L., Márquez-Meléndez, R., Portillo-Arroyo, B., & Soto-Figueroa, C. (2020). Development of a third generation snack of rice starch enriched with Nopal flour (*Opuntia ficus indica*). *Molecules*, 26(1), 54.
- Angulo-Bejarano, P. I., Martínez-Cruz, O., & Paredes-López, O. (2014). Phytochemical content, nutraceutical potential and biotechnological applications of an ancient Mexican plant: nopal (*Opuntia ficus-indica*). *Current Nutrition & Food Science*, 10(3), 196-217.
- Arqueología Mexicana. <https://arqueologiamexicana.mx/mexico-antiguo/las-partes-del-nopal>.
- Barba, F. J., Garcia, C., Fessard, A., Munekata, P. E., Lorenzo, J. M., Aboudia, A., Ouadia, A., & Remize, F. (2020). *Opuntia ficus indica* edible parts: A food and nutritional security perspective. *Food Reviews International*, 1-23.
- Bombos y maquinaria. <http://www.bombosymaquinaria.com/serviciosyproductos.htm>
- Boutin, R., Kannan, A. T., & Warner, J. (2004). Sugarless Hard Panning. *Manufacturing Confectioner*, 84(11), 35-42.
- Carmona, J. C., Robert, P., Vergara, C., & Sáenz, C. (2021). Microparticles of yellow-orange cactus pear pulp (*Opuntia ficus-indica*) with cladode mucilage and maltodextrin as a food coloring in yogurt. *LWT*, 138, 110672.
- Cedeño Briones, M. D. L. A. (2010). *Determinación de la temperatura vitreo de transición en caramelos duros* [Tesis de licenciatura, Ingeniería de Alimentos, Escuela Superior Politécnica del Litoral].
- Ciriminna, R., Chavarría-Hernández, N., Rodríguez-Hernández, A. I., & Pagliaro, M. (2019). Toward unfolding the bioeconomy of nopal (*Opuntia* spp.). *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 13(6), 1417-1427.
- Corrales-García, J. (2007, octubre). *Industrialization of cactus pads and fruit in Mexico: challenges and perspectives* [Conferencia]. VI International Congress on Cactus Pear and Cochineal, Paraiba, Brasil.
- da Silva Júnior, J. J., Cardoso, R. L., de Oliveira Fonseca, A. A., & Machado, E. S. (2013). Elaboration and sensorial evaluation of jelly and fruit crystallized cactus pear (*Opuntia ficus indica* Mill.). *IDESIA (Chile)*, 31(3), 59-64.
- de Albuquerque, J. G., de Souza Aquino, J., de Albuquerque, J. G., de Farias, T. G. S., Escalona-Buendía, H. B., Bosquez-Molina, E., & Azoubel, P. M. (2019). Consumer perception and use of nopal (*Opuntia ficus-indica*): A cross-cultural study between Mexico and Brazil. *Food Research International*, 124, 101-108.
- de Albuquerque, J. G., Escalona-Buendía, H. B., de Magalhães Cordeiro, A. M. T., dos Santos Lima, M., de Souza Aquino, J., & da Silva Vasconcelos, M. A. (2021). Ultrasound treatment for improving the bioactive compounds and quality properties of a Brazilian nopal (*Opuntia ficus-indica*) beverage during shelf-life. *LWT*, 149, 111814.

- du Toit, L. (2018). *Celling properties of cactus pear mucilage-hydrocolloid combinations in a sugar-based confectionery* [Tesis de maestría, Facultad de Ciencias Naturales y Agrícolas, Universidad Pública de Bloemfontein].
- El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M. H. S., Latruffe, N., Lizard, G., Nasser, B., & Cherkaoui-Malki, M. (2014). Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules*, *19*(9), 14879-14901.
- Espinoza Sánchez, E. A., Silos Espino, H., Flores Benitez, S., Valera Montero, L. L., Rodríguez Salazar, E., Gallegos Vázquez, C., Guevara Lara, F., González Chavira, M., & Guzmán Maldonado, H. S. (2014). Agrupamiento de genotipos de nopal (*Opuntia* spp.) de México por medio de la técnica de AFLPs y características del fruto. *Phyton: Revista Internacional de Botánica Experimental*, *83*(2), 299-306.
- Guzmán Loayza, D., & Chávez, J. (2007). Estudio bromatológico del cladodio del nopal (*Opuntia ficus-indica*) para el consumo humano. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, *73*(1), 41-45.
- Hartel, R. W., & Hartel, A. (2014). Panning Patience. En *Candy Bites* (pp. 179-182). Copernicus.
- Hartel, R. W., Elbe, J. H. V., & Hofberger, R. (2018). Sugar and Sugar-Free Panned Confections. En *Confectionery Science and Technology* (pp. 361-391). Springer.
- Herrero, E. C. (1991). Dulces confites. *Revista de Dialectología y Tradiciones Populares*, *46*, 209-229.
- Magro, S., & Pérez Maurice, M. B. (2017). *Evaluación de nopales (opuntia ficus indica) como fuente de calcio* [Monografía, Ingeniería en Alimentos, Universidad Argentina de la Empresa].
- Muñoz-Urias, A., Palomino-Hasbach, G., Terrazas, T., García-Velázquez, A., & Pimienta-Barrios, E. (2008). Variación anatómica y morfológica en especies y entre poblaciones de *Opuntia* en la porción sur del Desierto Chihuahuense. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, *(83)*, 1-11.
- Nabil, B., Ouaabou, R., Ouhammou, M., Essaadouni, L., & Mahrouz, M. (2020). Functional Properties, Antioxidant Activity, and Organoleptic Quality of Novel Biscuit Produced by Moroccan Cladode Flour “*Opuntia ficus-indica*”. *Journal of Food Quality*, 2020.
- Peña Custodio, J. A. (2019). Obtención de parámetros óptimos en la elaboración de fruta confitada a partir del mango verde (*Mangifera Indica*) [Tesis de licenciatura, Ingeniería Agroindustrial e Industrias Alimentarias, Universidad Nacional de Piura].
- Peña-Valdivia, C. B., Luna-Cavazos, M., Carranza-Sabas, J. A., Reyes-Agüero, J. A., & Flores, A. (2008). Morphological characterization of *Opuntia* spp.: a multivariate analysis. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, *10*, 1-21.
- Pilligua Piguave, F. M. (2017). *Extracción de la pectina del nopal (opuntia ficus indica) y su aplicación en un dulce de cacao* [Tesis de licenciatura, Química y Farmacia, Universidad de Guayaquil].
- Rocchetti, G., Pellizzoni, M., Montesano, D., & Lucini, L. (2018). Italian *Opuntia ficus-indica* cladodes as rich source of bioactive compounds with health-promoting properties. *Foods*, *7*(2), 24.



- Roldán Cruz, E. I. (2019). Proximidad geográfica y organizativa en la producción de la *Opuntia* spp en Hidalgo. *Estudios sociales. Revista de alimentación contemporánea y desarrollo regional*, 29(53), e19699.
- Sáenz, C., & Berger, H. (2006). *Utilización agroindustrial del nopal* (Vol. 162). Organización Mundial para la Agricultura y la Alimentación [FAO].
- Santamaria Mendoza, E. A., González Miranda, G., Gutiérrez Alva, E. E., & Bernal Ramos, O. (2018). Oportunidad competitiva del dulce de nopal elaborado en Jocotitlán para su consumo en el Valle de Toluca, 2017. *VinculaTégica, EFAN*, 3(2), 86-95.
- Slimen, I. B., Najar, T., & Abderrabba, M. (2016). *Opuntia ficus-indica* as a source of bioactive and nutritional phytochemicals. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 4(6), 162-169.
- Tahir, H. E., Xiaobo, Z., Komla, M. G., & Adam Mariod, A. (2019). Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) as a source of bioactive compounds. En A. Mariod (Ed.), *Wild Fruits: Composition, Nutritional Value and Products* (pp. 333-358). Springer.
- Torres Salcido, J. G., & Cornejo Oviedo, F. M. (2018). Organización y liderazgo en la construcción de un Sistema Agroalimentario Localizado. Un estudio de caso sobre el nopal en Hidalgo, México. *Estudios sociales (Hermosillo, Son.)*, 28(51).
- Torres-Ponce, R. L., Morales-Corral, D., Ballinas-Casarrubias, M. D. L., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2015). El nopal: planta del semidesierto con aplicaciones en farmacia, alimentos y nutrición animal. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(5), 1129-1142.
- Uriarte-Frías, G., Hernández-Ortega, M. M., Gutiérrez-Salmeán, G., Santiago-Ortiz, M. M., Morris-Quevedo, H. J., & Meneses-Mayo, M. (2021). Pre-Hispanic Foods Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*), Nopal (*Opuntia ficus-indica*) and Amaranth (*Amaranthus* sp.) as New Alternative Ingredients for Developing Functional Cookies. *Journal of Fungi*, 7(11), 911.

## **Análisis de mercado y sensorial de pasta con harina de amaranto fortificada con suero de leche.**

Mata Ramírez Andrea Natasha<sup>\*</sup>, Balandrán Guardado Fernanda Nayeli, Juárez Magno Dulce Liliana, Lozano Pedraza Blanca Patricia, Martínez Solís Saby Arely, Trejo Nava Elianne Paola, Sosa Morales María Elena.

<sup>1</sup> Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. Ex-Hacienda El Copal, Carretera Irapuato-Silao km 9, Irapuato, Gto., México, C.P. 36500  
[\\*an.mataramirez@ugto.mx](mailto:an.mataramirez@ugto.mx)

### **RESUMEN**

**Resumen:** El amaranto es una fuente importante de proteína, calcio, hierro y otros compuestos, elementos necesarios para la alimentación humana. El suero de leche es el líquido que se obtiene tras la coagulación de la leche en la elaboración de queso, este contiene un alto valor proteico. El objetivo de este trabajo fue elaborar una pasta con el mayor porcentaje de harina de amaranto fortificada con suero de leche. Se realizaron tres formulaciones con diferentes composiciones: control (100 % harina de trigo), formulación 1 (30% de harina de trigo y 70% de harina de amaranto) y formulación 2 (100% harina de amaranto). Estas se sometieron a un análisis sensorial con 15 jueces no entrenados, evaluando sabor, color y textura. Los datos obtenidos fueron analizados con una prueba de ranking. La pasta con harina de amaranto y suero de leche fue distinguida como diferente respecto al control. Sin embargo, en el mercado existen productos similares, por lo que la pasta desarrollada tiene potencial para un mercado preocupado por productos más saludables.

**Palabras clave:** Pasta, amaranto, trigo, suero, Ranking.

### **ABSTRACT**

**Abstract:** Amaranth is an important source of protein, calcium, iron and other compounds, elements necessary for human nutrition. Whey is a liquid obtained after the coagulation of milk in cheese making, it contains a high protein value. The objective of this study was to develop a pasta with the highest percentage of amaranth flour fortified with whey. Three formulations were made with different composition: control (100% wheat flour), formulation 1 (30% wheat flour and 70% amaranth flour) and formulation 2 (100% amaranth flour), which were subjected to a sensory analysis with 15 non-trained judges, evaluating flavor, color and texture. The obtained data were analyzed by ranking test. The pasta with amaranth flour and whey was distinguished as different in comparison with the control by the panel. However, in the market there are similar products making that the developed pasta has a potential chance in a market interested in healthier products.

**Key words:** Pasta, amaranth, wheat, whey, Ranking.

### **INTRODUCCIÓN**

Las pastas son un alimento tradicional en la dieta mediterránea, a base de cereales, generalmente recomendadas por su comodidad, palatabilidad y calidad nutricional y caracterizadas por un índice glucémico bajo que se atribuye a los cambios sucesivos en la estructura y a las interacciones entre los dos componentes principales: almidón y proteínas (Bustos, Pérez & León, 2015). Actualmente se consumen en todo el mundo.

El trigo es el cereal más adecuado para la elaboración de pastas, sus proteínas tienen la capacidad de

interactuar entre ellas y con otros componentes como los lípidos, para formar complejos de lipoproteínas viscoelásticas (gluten) que contribuyen al desarrollo de la masa y previenen la disgregación de la pasta durante la cocción en agua caliente. Por tanto, la sémola de trigo es la materia prima ideal para la fabricación de pasta. Sin embargo, la pasta de trigo es un alimento nutricionalmente no balanceado, debido a su bajo contenido de grasa y fibra dietética y al bajo valor biológico de su proteína originado por las dificultades de lisina (Astaíza, 2010).

México es un país con altos índices de enfermedades cardiovasculares, tanto en adultos como en niños, debido a una mala alimentación y malos hábitos, lo cual ha derivado en problemas de salud pública graves, como la hipertensión arterial. La hipertensión se considera por encima de valores de 140/90 mmHg, sin embargo, es importante acudir al médico para que se haga este diagnóstico (Fernández, 2016).

El amaranto es una fuente importante de proteína, calcio, hierro y otros compuestos, elementos necesarios para la alimentación humana. Puede ser utilizado en gran diversidad de productos, por ejemplo: sopas, panqués, cereal para desayuno, galletas, pastas, botanas, bebidas y confitería. El amaranto presenta además algunas propiedades para mantener la salud (Mapes, 2015). La semilla de amaranto posee un valor nutricional superior en comparación con otros granos, debido a su contenido alto de proteínas, y un mejor balance de aminoácidos esenciales que cereales y legumbres. La digestión trípica de la fracción glutelinas de la semilla de amaranto, origina, entre otros, péptidos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA). La ECA está implicada en procesos patológicos como la hipertensión y la aterosclerosis, a través de la regulación de sustancias vasoactivas como angiotensina II y bradicidina (Barba, 2008).

El lactosuero o suero de leche se define como un producto lácteo obtenido de la separación del coágulo de la leche, de la crema o de la leche semidescremada durante la fabricación del queso, mediante la acción ácida o de enzimas del tipo del cuajo (renina, enzima digestiva de los rumiantes) (1,2) que rompen el sistema coloidal de la leche en dos fracciones: 1) Una fracción sólida, compuesta principalmente por proteínas insolubles y lípidos, las cuales en su proceso de precipitación arrastran y atrapan minoritariamente algunos de los constituyentes hidrosolubles. 2) Una fracción líquida, correspondiente al lactosuero en cuyo interior se encuentran suspendidos todos los otros componentes nutricionales que no fueron integrados a la coagulación de la caseína (3,5). De esta forma, se encuentran en el lactosuero partículas suspendidas solubles y no solubles (proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales), y compuestos de importancia biológica-funcional. Este suero nos ayudará a que nuestra pasta tenga un mayor valor nutricional a comparación de otros productos similares que ya están dentro del mercado y que además nos diferencian entre las pastas de harina integral (Poveda, 2013).

El objetivo de este trabajo fue desarrollar una pasta que contenga harina de amaranto y fortificada con suero de leche, que compita sensorialmente con la pasta tradicional de 100% harina de trigo. Con estos ingredientes, se podría contribuir a la ingesta de nutrientes que coadyuven en el control de la hipertensión arterial.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Materias primas**

Para el desarrollo de este trabajo se emplearon: harina de amaranto (DiNat), harina de trigo (Tres Estrellas), huevo, suero, goma xantana, sorbato de potasio y sal. Las formulaciones desarrolladas se muestran en la Tabla I.

**Tabla I.** Formulaciones empleadas en la elaboración de pasta de harina de amaranto fortificada con suero de leche

Ingredientes	Control (g)	Formulación 1 (g)	Formulación 2 (g)
Harina de amaranto	0	70	100
Harina de trigo	100	30	0
Huevo fresco	50	50	50
Suero líquido	25	25	25
Goma Xantana	0.5	0.5	0.5
Sorbato de Potasio	0.1	0.1	0.1

### Metodología

**Análisis de mercado:** Se realizó un análisis de la competencia del nuevo producto, en el cual se investigaron diversas marcas de pasta que fueran hechas a base de harina naturalmente sin gluten y con esto nos diera como resultado un análisis FODA sobre la propuesta de pasta de amaranto fortificada con suero de leche en el mercado.

**Elaboración pasta:** El procedimiento consistió en la recepción de las materias primas, pesaje de los ingredientes para después realizar la incorporación de los ingredientes sólidos, luego los ingredientes líquidos para cada formulación, y realizar una mezcla de manera manual donde se requirió de 8 min para lograr la formación de una masa uniforme, flexible y firme. Posteriormente, se utilizó una máquina para moldeo de la pasta, donde la masa fue expandida y aplanada hasta lograr una lámina con el grosor correspondiente. Se utilizó una máquina (Figura 1) para hacer pasar la lámina de masa por el cortador en forma de *fettuccine*. Una vez cortada en segmentos de aproximadamente 4 cm de largo, fue acomodada en moldes con aluminio, evitando el contacto entre ellos, para ser secados durante 24 h a temperatura ambiente. El *fettuccine* se llevó a cocción las formulaciones 1, 2 por 6 min y control durante 13 min en agua a ebullición. Finalmente, el *fettuccine* se cocinó en mantequilla, laurel y pimienta para sazonarla.



**Figura 1.** Corte de la pasta en forma de *fettuccine*

**Evaluación sensorial:** Se eligió una prueba de ranking para las tres muestras (control, formulación 1, formulación 2) con la ayuda de 15 jueces no entrenados. En un plato de cartón desechable, se escribieron los códigos (elegidos aleatoriamente: 1680, 2433 y 7194). Una vez tomadas las medidas de higiene, se les pidió que evaluaran las muestras. Los jueces fueron provistos con agua purificada para tomar entre muestra y muestra. Se registraron las observaciones por los jueces en el formulario de evaluación sensorial, donde debían colocar el código de las muestras en orden afectivo. Los3

resultados fueron evaluados comparando la suma de los valores con el rango para 3 muestras y 15 jueces, usando la tabla de Larmond (1986).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis de competencia

Entre las principales marcas de competencia para la propuesta del nuevo producto se encontraron:

- **Marca:** Amore pasta
- **Ingredientes:** quinoa molido y semillas de chía
- **Contenido neto:** 260g
- **Descripción:** Pasta tipo Fusilli, Por porción de 100g: 4g de fibra 8g de proteína vegana, Sin gluten, Sin ingredientes de origen animal y Sin conservadores
- **Precio:** \$185.00



- **Marca:** Real Natural
- **Ingredientes:** Quinoa, maíz y arroz
- **Contenido neto:** 340g
- **Descripción:** Pasta sin gluten para celíacos. Hecha a base de quinoa, maíz y arroz. Este producto es vegano, libre de emulgentes, espesantes, conservadores e ingredientes artificiales.
- **Precio:** \$89.00



- **Marca:** El Dorado
- **Ingredientes:** Pasta de arroz, maíz y quinoa real
- **Contenido neto:** 250g
- **Descripción:** Pasta tipo Fusilli Alto en fibra, ideal para suplir la necesidad de proteínas en personas bajo dietas vegetarianas, controlar el colesterol y reponer energía tras horas de exigencia física
- **Precio:** \$109.00

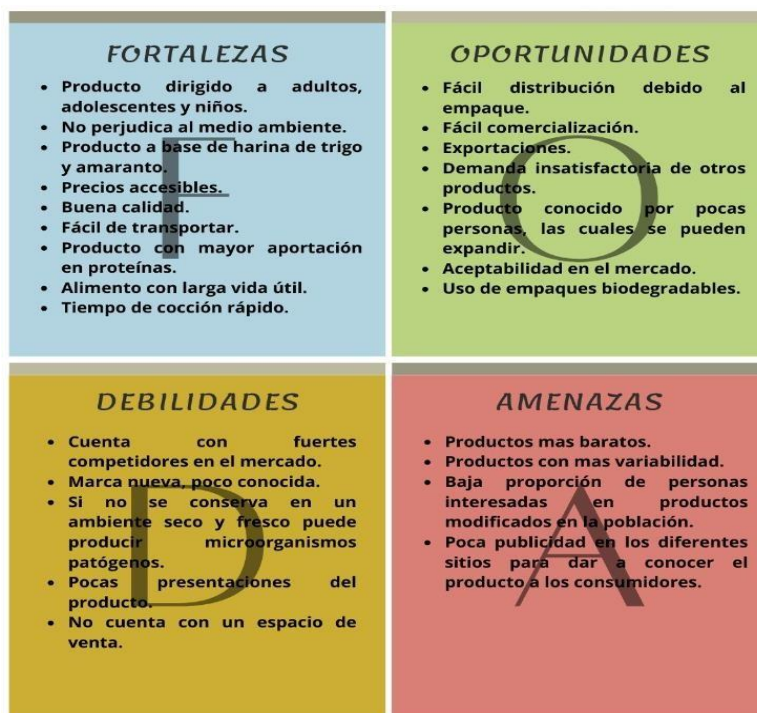


Las marcas encontradas son de precio mayor a las tradicionales de harina de trigo. La descripción de los productos se enfoca en resaltar los beneficios de los ingredientes.

Los costos de la pasta desarrollada en este estudio (Formulación 1) se muestran en la Tabla 2. El precio para el consumidor sería de \$101 pesos, por lo que el producto compite con productos similares ubicados en el mercado.

Insumo	Precio en pesos por 100 g de pasta
Harina de amaranto	\$ 9.8
Harina de trigo	\$ 0.645
Huevo	\$ 2.4
Sal	\$ 0.024
Goma xantana	\$ 0.106
Suero de leche	\$ 1
Mano de obra por tiempo de elaboración	\$ 8
Empaquetado	\$ 5
Total	\$ 26.975
50% de ganancia	\$ 13.4875
Precio total de paquete 100 g	\$ 40.462
<b>Precio total de paquete 250 g</b>	<b>\$ 101.15</b>

Se identificaron las fortalezas, oportunidades, debilidades y amenazas de la pasta propuesta, con lo que se construyó la matriz FODA mostrada en la Figura 2.



*Figura 2. Matriz FODA con sus respectivos parámetros de análisis a la empresa y producto; pasta con harina de amaranto con suero de leche*

### Formulaciones desarrolladas



La Figura 3 muestra las formulaciones de pasta control y con diferentes concentraciones de harina de amaranto y fortificada con suero de leche. La pasta control tuvo una apariencia elástica, uniforme de fácil manejo al igual que la pasta con mezcla de harina de trigo y amaranto, sin embargo, la pasta 100 % de amaranto tuvo dificultad en la elasticidad del amasado ya que no tenía consistencia que se espera de una pasta convencional, le faltaba flexibilidad, era quebradiza.



Pasta Control (2433)



Pasta 70% amaranto (1680)



Pasta 100% amaranto (7194)

*Figura 3. Aspecto de las formulaciones de pasta elaboradas en el estudio*

### **Resultados sensoriales**

En la Figura 4 se muestra la forma en la que se entregaron las muestras a los jueces.



**Figura 4.** Presentación de las muestras de pasta sazonada con mantequilla.

Con respecto a la evaluación sensorial establecida se obtuvieron los siguientes resultados.

#### ***Atributo Sabor***

El sabor es la característica más importante ya que este atributo es la degustación de este y por tanto, la característica que más influye en su aceptabilidad.

En la evaluación por el método de ranking, el rango para 3 muestras y 15 jueces es de 23-37 con un 95% de confianza (Larmond, 1982). Se obtuvo que las formulaciones 1 (1680) y 2 (7194) están dentro del rango, por lo que no existe una diferencia significativa entre ellas. Las formulaciones con amaranto fueron diferentes a la formulación control de harina de trigo.

Este resultado concuerda con Vedia-Quispe et al. (2016), quienes también encontraron diferencias en sabor de pasta al sustituir al 20 y 30% la sémola de trigo por harina de amaranto crudo y harina de amaranto integral.

#### ***Atributo Textura***

La textura es la propiedad de los alimentos apreciada por los sentidos del tacto, la vista y el oído; se manifiesta cuando el alimento sufre una deformación.

En el caso de la textura de la pasta, existe una diferencia significativa entre las tres muestras ( $p < 0.05$ ). Para este atributo, la formulación que más agradó fue la control (100% trigo).

Valdez Meza (2019) confirma que la adición de material proteico distinto al gluten conduce a una disminución de la firmeza, ya que la red de gluten puede perder fuerza y afectar la estructura de la pasta, es por esto por lo que la prueba control obtuvo la mayor calificación.

#### ***Atributo Color***

El color y la apariencia son el primer contacto que tiene el consumidor con un alimento, condicionando sus preferencias e influenciando su elección. El color está relacionado con las cualidades sensoriales, la composición química y, por lo tanto, uno de los factores que define la calidad de un producto alimentario.



Todas las formulaciones se ubicaron dentro del rango de 23-37, por lo que no existe una diferencia significativa entre las muestras ( $p>0.05$ ). Con este resultado, se elegiría comercializar la formulación 2 con 100% de amaranto, ya que se obtendrían los mayores beneficios de esta harina para la salud.

Valdez Meza (2019) asoció el desarrollo de color marrón en pastas elaboradas con hidrolizados proteicos de amaranto con el alto contenido de proteína y aumento de reacciones de Maillard, las cuales requieren de azúcares reductores y grupos aminos libres que se podrían incrementar en pastas suplementadas con hidrolizados de proteína.

### CONCLUSIÓN

En el mercado regional, existen marcas de pasta que ofrecen nuevos ingredientes en sus formulaciones tratando de cumplir las demandas de salud de los consumidores. La prueba de ranking fue útil para evaluar las formulaciones propuestas. Las pastas con 70 y 100% de amaranto no fueron diferentes en cuanto a sabor y color ( $p>0.05$ ), aunque el atributo de textura sí fue afectado ( $p<0.05$ ). El reto más grande está en la textura, en la que la formulación control sigue teniendo la mayor preferencia. Por cuestiones de salud, la formulación que se recomendaría desarrollar es la 2 (7194) la cual corresponde a 100% de harina de amaranto. La pasta elaboradas con harina de amaranto fortificada con suero de leche sería una opción para aquellas personas que padecen enfermedades de hipertensión arterial o cardiovasculares, ya que es una pasta alborada a base de ingredientes que aportan nutrientes y beneficios.

### Bibliografía

- Astaíza, M., Ruíz, L., Elizalde, A. (2010). Elaboración de pastas alimenticias enriquecidas a partir de harina de quinua (*Chenopodium quinoa* Wild.) y zanahoria (*Daucus carota*). Vol. 8. No. 1. Pp. 43-53.
- Barba, A. (2008). Instituto Potosino De Investigación Científica y Tecnológica. Caracterización de los Efectos Vasculares de Extractos de Amaranto. Pp. 53; 2-3.
- Elpidia Poveda, E. 2013. Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. Revista Chilena de Nutrición. Vol. 40, núm. 4. Pp. 397-40.
- Fernández, M. (2016). Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición. Hipertensión arterial. Pp 11.
- Mapes, E. (2015). Revista de Ciencia. Usos de plantas mexicanas. Pp 8-11.
- Quispe, V. S. V., Gurak, P. D., Espinoza, S. K., & Ortiz, J. A. R. (2016). Calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial de tallarines producidos con sustitución parcial de sémola de trigo por harina de amaranto. *Revista española de nutrición humana y dietética*, 20(3), 53-71.
- Valdez Meza, E. E. (2019). Evaluación del efecto antihipertensivo de péptidos de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) añadidos a pasta de trigo (*Triticum aestivum* L.) con alto contenido de proteína obtenidos mediante la hidrólisis con alcalasa en un modelo murino. Tesis de Maestría. Universidad de Sonora, México.

## Desarrollo de nuggets de pollo con camote

J.F. Muñoz-Roa\*, E.G. Cabrera-Álvarez, V. García-Vázquez, J.L. Guerrero-González, J.E. Manríquez-Martínez, C. Ortiz-Canchola y M.E. Sosa-Morales

\* Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca, División de Ciencias de la Vida, Departamento de Alimentos, Ingeniería en Alimentos, Ex-Hacienda El Copal, Carretera Irapuato-Silao km 9, 36500, Irapuato, Guanajuato, México. Correo de contacto: [jf.muñozroa@ugto.mx](mailto:jf.muñozroa@ugto.mx)

### RESUMEN

Para el presente proyecto se realizó una formulación de nuggets de pollo con camote, debido a que los nuggets tienen una gran aceptación en la población. Se realizó una encuesta vía electrónica, en donde se detectó una demanda potencial de nuggets de manera general. Se probaron tres formulaciones con 15, 30 y 45% de camote, y el resto de pollo, para posteriormente adicionar ingredientes y especias, hacer la mezcla, amasado, moldeado, freído, enfriado, envasado y almacenado. Se realizó un análisis sensorial donde 25 jueces no entrenados degustaron de las tres formulaciones mencionadas, usando una escala hedónica de 9 puntos. Hubo preferencia por la formulación de 15 y 30% de camote, mientras que la muestra de 45% tuvo menor aceptabilidad. Finalmente, se diseñó la etiqueta, declaración nutrimental y etiquetado frontal, el producto tendrá un sello de advertencia de exceso de sodio.

**Palabras clave:** Nuggets, saludable, formulación, camote, evaluación sensorial.

### ABSTRACT

In this project, a formulation of chicken nuggets added with sweet potato was made, since to nuggets have a great acceptance in the Mexican population. From an electronic survey, it was verified the high acceptance of nuggets. Three formulations were made with 15, 30, and 45% of sweet potato; the rest was chicken. Ingredients and spices were added. The next steps were to make the mixture, knead, mold, fry, cool, package and store. A sensory analysis was carried out where 25 untrained judges tasted the three mentioned formulations, using an 9-points hedonic scale. Judges showed preference for the formulations of 15 and 30% sweet potato, formulation with 45% sweet potato had lower acceptability. Finally, the label for the product was designed, which includes the warning for sodium excess.

**Keywords:**

## INTRODUCCIÓN

Los nuggets de pollo son un producto que goza de gran aceptación en la población de forma general. Forman parte de la llamada “comida rápida”, la cual nos ofrece una opción de alimentación sabrosa para cuando se tiene poco tiempo para comer. La disminución del tiempo destinado a la preparación y consumo de alimentos ha llevado al consumo de productos ya preparados o semi – listos, entre los cuales destacan los nuggets de pollo. Estos fueron introducidos al mercado a principios de 1980, como piezas sólidas de carne de pechuga, que se troceaba en forma de triángulo y tras ser empanizado, era sometida al freído. Sin embargo, del proceso original se han derivado otras formas de elaboración y la creciente demanda ha provocado la necesidad continua de emplear nuevas materias primas y usar tecnologías que permitan mejorar su aspecto, su valor nutricional y su rendimiento sin afectar a otros componentes (Luna, 2021).

El camote es un tubérculo con características nutricionales importantes para la alimentación por el alto contenido energético que aporta al ser humano. Los azúcares se presentan en una concentración de 5.1-14.0%, fibras 2.2-5.4% y proteínas 4.9%; presentando también un alto contenido en almidón, entre 60-70%, facilitando ser digerible (Solís, 2017). Su cultivo es de fácil propagación y de pocos requerimientos nutricionales, por lo que sus costos de producción son bajos. Contiene características nutricionales importantes que lo convierten en un alimento de alto valor nutritivo y puede ser una alternativa en países en vías de desarrollo que presentan escasez alimentaria (Rene, 2018), que dentro del producto tiene la función de disminuir la materia prima cárnica empleada en la mezcla, lo que permite un mayor rendimiento del producto y la factibilidad del uso de fuentes proteicas con un menor contenido de grasa, como lo es la pechuga de pollo. El nugget de pollo con camote es un producto que ha sido formulado con la finalidad de aumentar el consumo de productos más saludables a un precio accesible. (Luna, 2021)

Cabe de destacar que, en la actualidad, las enfermedades crónicas como el cáncer, la diabetes, las enfermedades cardíacas, la obesidad y la carencia de micronutrientes, son un problema que afecta a todo el mundo. Además, pese que la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en inglés) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomiendan el consumo diario mínimo de 5 porciones de frutas y hortalizas. Estudios indican que la mayoría de la población no satisface siquiera la mitad de este objetivo, debido a factores como la accesibilidad, los altos precios de los productos de calidad, el sabor y la apariencia. En México, el camote es cultivado en 20 estados, destacando por superficie sembrada Michoacán (1,643 ha), Veracruz (398 ha), Guanajuato, (363 ha), Puebla (233 ha) y Chihuahua (169.04 ha). Puebla se posiciona en el cuarto lugar de superficie cultivada, siendo el camote un cultivo de importancia económica con una producción de 2,994.9 toneladas. Sin embargo, algunos municipios registran una mayor producción como es el caso de Atlixco, cuya superficie sembrada equivale a 176.20 ha y una producción de 2,323.6 ton (SIAP, 2017).

Actualmente 6 de cada 10 mexicanos, incluyen en su dieta alimentos avícolas como pollo, huevo y pavo; este sector es considerado dentro de la estrategia de seguridad alimentaria ya que contribuye en un 55.0 % a la aportación de proteína; la carne de pollo tiene una participación del 38.4% y del huevo con 17.0%, seguidos por la leche de vaca (19.0%), carne de res (15.8%) y carne de cerdo (8.0%), (CEDRSSA, 2019). La Industria Avícola, presenta la mayor tasa de crecimiento dentro de las actividades agrícolas, pecuarias y pesqueras y constituye un sector fundamental de la producción de alimentos y un importante elemento dentro de la dieta de una gran parte la población del país. Las proyecciones del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, por su sigla en inglés)

señala que en el 2019 la producción mundial de carne de pollo llegará a un nuevo récord histórico, con un valor esperado de 97.8 millones de toneladas. Esta cifra superaría en 2.3% la producción mundial obtenida en el 2018 (CEDRSSA, 2019). La producción de carne de pollo se concentró en los siguientes estados de la República: La Laguna (Torreón y Durango), Veracruz, Querétaro, Jalisco, Aguascalientes, Nuevo León, Puebla, Chiapas, San Luis Potosí, Michoacán, Yucatán, Estado de México, Sinaloa, Guanajuato y Morelos: Jalisco reportó una producción de 373,606.5 toneladas de las 3,211,686.3 tons. obtenidas a nivel nacional, continuando de cerca la aportación de Veracruz con 357,127.5 tons, Querétaro con 354,463.9 tons. y Aguascalientes con 338,387 tons. En un segundo plano, figura Durango con un volumen de 276, 478.4 tons., seguido de Guanajuato con 210,187.4 tons. (CEDRSSA, 2019).

El presente trabajo consistió en desarrollar una nueva formulación de nuggets de pollo y evaluar la aceptabilidad sensorial. Se elaboraron cuatro formulaciones, donde en tres se sustituyó parcialmente la carne de pollo por camote. También se determinó el punto de equilibrio, precio de venta y costos fijos y variables y finalmente, se diseñó la etiqueta, la declaración nutrimental y el etiquetado frontal de acuerdo a la Norma Nacional vigente.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Análisis de mercado

Se realizó la consulta de la oferta de nuggets dentro del mercado mexicano mediante la revisión de las páginas oficiales de distintos supermercados, de la cual se hizo una evaluación de acuerdo con su precio y la descripción del producto. La demanda y aceptación del producto fue evaluada mediante la aplicación de una encuesta electrónica, el formato utilizado en la encuesta fue el siguiente:

Nuggets de Pollo con Camote.

1. ¿Con qué género te identificas?
  - a. Masculino
  - b. Femenino
  - c. Prefiero no decirlo
2. ¿Cuál es tu edad?
  - a. 10 a 20 años
  - b. 21 a 30 años
  - c. 31 a 40 años
  - d. 41 a 50 años
  - e. Más de 51 años
3. ¿Alguna vez has comido nuggets de pollo?
  - a. Si
  - b. No
  - c. Me gustaría probarlos
4. ¿Con qué frecuencia los consumes?
  - a. Diario
  - b. De una a dos veces por semana
  - c. Una vez al mes
  - d. No consumo nuggets

5. ¿Por qué razón consumes este tipo de productos?
  - a. Por su accesibilidad
  - b. Por su sabor
  - c. Porque son fáciles de preparar
6. ¿Qué aspecto consideras importante al adquirir nuggets de pollo o un producto similar?
  - a. Buena presentación (con respecto al empaque)
  - b. Buena presentación (con respecto al producto)
  - c. Buen sabor
  - d. Buen precio
7. ¿Te gustaría probar los nuggets de pollo con otros ingredientes como el camote?
  - a. Si
  - b. No
8. ¿Cómo te gustaría adquirirlos?
  - a. Horneados
  - b. Fritos
  - c. Congelados
9. ¿En qué empaque te gustaría encontrarlos?
  - a. De plástico
  - b. De cartón
  - c. Reutilizables
  - d. De unicel
10. ¿Cuánto estarías dispuesto a pagar por 10 piezas de nuggets?
  - a. De \$20 a \$30
  - b. De \$31 a \$40
  - c. Más de \$40

### Análisis sensorial

A partir de una formulación casera para nuggets de pollo, se elaboraron tres formulaciones a las que se añadió un porcentaje de camote, desde 15 hasta 45 %. El proceso de elaboración para todas las formulaciones fue el siguiente: molido del pollo y cocción del camote, adición de ingredientes y especias, mezclado y amasado, moldeado, freído, enfriado, envasado y almacenado. A cada formulación se le otorgó un código, seleccionado de manera aleatoria, para llevar a cabo las pruebas sensoriales. En la tabla I se muestran las formulaciones y los códigos seleccionados.

**Tabla I.** Formulaciones de nuggets de pollo con camote.

Ingredientes	Control Código 37570	85% pollo + 15% camote Código 14342	70% pollo + 30% camote Código 88231	55% pollo + 45% camote Código 03427
Pollo	100 g	85 g	70 g	55 g
Camote	0 g	15 g	30 g	45 g
Huevo	8 g	8 g	8 g	8 g
Pan molido	8 g	8 g	8 g	8 g
Sal	1.2 g	1.2 g	1.2 g	1.2 g
Ajo en polvo	0.8 g	0.8 g	0.8 g	0.8 g
Cebolla en polvo	0.8 g	0.8 g	0.8 g	0.8 g

Perejil	0.4 g	0.4 g	0.4 g	0.4 g
Orégano	0.4 g	0.4 g	0.4 g	0.4 g
Comino	0.4 g	0.4 g	0.4 g	0.4 g

El análisis sensorial fue realizado por 25 jueces no entrenados, de 13 a 60 años, a cada uno de los jueces se le presento las cuatro muestras junto a dos boletas para la evaluación. Las pruebas realizadas fueron de ordenamiento, donde se pidió a los jueces que ordenaran las muestras de menor a mayor concentración de camote; y afectiva, usando una escala hedónica de 9 puntos, donde 1 correspondía a me disgusta muchísimo y 9 a me gusta muchísimo en la que se evaluaron los parámetros de color y sabor.

#### Determinación del punto de equilibrio:

Se estimó el punto de equilibrio para la venta del producto en base al cálculo de los costos variables, iniciales y fijos, en los cuales, la materia prima empleada para la elaboración del producto, así como el empaque que se contempla usar, representan a los costos iniciales; los servicios utilizados en el proceso y el recurso humano que se emplea en la empresa, representa los costos fijos, que se estimaron a un mes y finalmente, la estimación de los costos iniciales del proceso en los que se contempló al equipo e inmobiliario que se emplearía en el proceso. Se estimó el costo variable unitario dividiendo el precio total de producción de 1 kg de mezcla para nuggets entre el total de producto que es obtenido de esta mezcla, es decir 40 nuggets. Posteriormente, se calcula el precio de venta unitario mediante la Ec.1:

$$\text{Ecuación 1. } [(\text{Costo variable unitario} \times \text{Porcentaje de ganancia}) + \text{Costo variable unitario}]$$

La venta mínima se estimó mediante la Ec.2:

$$\text{Ecuación 2. } [\text{Costo fijo total}/(\text{Precio de venta unitario} - \text{Costo variable unitario})]$$

El valor monetario de esta venta mínima o punto de equilibrio se estimó mediante la Ec.3:

$$\text{Ecuación 3. } [\text{Costo fijo total}/1 - (\text{Costo variable unitario}/\text{Precio de venta unitario})]$$

#### Elaboración del etiquetado e información nutrimental:

Se realizó de acuerdo con lo establecido por la Norma Oficial Mexicana NOM – 051 – SCFI/ SSA1 – 2010, considerando la modificación que entró en vigor a partir del 2021.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis de mercado

*Oferta:* Dentro del mercado mexicano hemos identificado 14 marcas comerciales de nuggets de pollo en diferentes presentaciones y con precios variados por 100 gramos de producto:

**Tabla II.** Principales marcas comerciales que compiten en el mercado.

Nombre/marca comercial	Denominación	Precio por 100 g
------------------------	--------------	------------------

## Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Foster Farms	Nuggets de pechuga de pollo	\$12.60
KW Foods	Nuggets de pollo empanizados precocidos y congelados individualmente	\$4.25
Sugerencias del Chef: Dinonuggets	Nuggets de pollo empanizados	\$8.10
Sugerencias del Chef	Nuggets de pechuga de pollo empanizados	\$9.30
Sugerencias del Chef	Nuggets de pechuga de pollo con queso	\$9.20
Tyson	Nuggets de pechuga de pollo empanizados	\$8.10
Libra	Nuggets de pollo precocidos	\$6.20
Valley Foods	Nuggets de pollo precocidos	\$5.45
Advance Food de México	Nuggets de pollo empanizados	\$6.30
Advance Food de México	Nuggets de pollo con queso	\$6.95
Golden Hills	Nuggets de pollo empanizados	\$8.40
Golden Hills	Nuggets de pollo rebozados	\$8.40
Disney Mickey	Nuggets de pollo sabor casero rebozados	\$10
Great Value	Nuggets de pechuga de pollo empanizados, congelados	\$9.85
Bachoco	Nuggets de pechuga de pollo empanizados, precocidos	\$15.20
Del día	Nuggets de pollo empanizados	\$9.60
Pilgrim's	Nuggets de pollo empanizados, parcialmente cocinados	\$16
HEB	Nuggets de pollo empanizados	\$22.30

*Demanda:* Los nuggets, son un producto que goza de gran aceptación entre los niños y jóvenes, aunque en menor proporción entre los adultos.

Aunque en la actualidad existen una gran variedad de marcas de nuggets de pollo con diferentes presentaciones y precios, puede ser un mercado potencial si se mejora su valor nutricional o se emplean nuevas tecnologías para su preparación donde no sean sometidos a freído, convirtiéndolo así en un alimento balanceado y saludable.

Los resultados de la encuesta indican que el mercado principal al que se dirige el producto está conformado en su mayoría por mujeres (72.50%). La mayoría de las personas que respondieron la encuesta se encuentra entre una edad de 21 a 30 años (57.50%), todos coincidieron en que alguna vez comieron nuggets de pollo y que la frecuencia en la que los consumen es de una vez al mes (97.44%). La razón por la que la mayoría de los individuos consume este tipo de productos es por su sabor (53.50%), así como por que son fáciles de preparar (32.50%), lo que se relaciona a que consideran un aspecto principal que tengan buen sabor (67.50%) y una buena presentación con respecto al producto (27.50%). La mayoría de los encuestados tienen interés en probar los Nuggets de pollo adicionados con camote (82.50%), prefieren adquirirlos fritos (50.00%), aunque un porcentaje menor los prefiere horneados (35.00%) y congelados (15.00%). Les gustaría comprarlos en un empaque reutilizable (67.50%) y más de la mitad (57.50%) indica que está dispuesto a pagar de \$31 a \$40 pesos por 10 piezas de Nuggets.

**Análisis sensorial**

De acuerdo con Larmond (1986), se tomó un total de 19 juicios comparados con 4 tratamientos, la suma de las calificaciones debe encontrarse en un rango de 37 y 58, para que no se establezca diferencia significativa entre las muestras. Con base en los resultados (Tabla III), se puede concluir que los jueces identificaron la mayor y menor concentración de camote en las muestras, y que no existe diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos B y C (15 y 30% de camote en la mezcla, respectivamente).

**Tabla III.** Resultados de la prueba de ordenamiento.

<b>Juez Totales</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
Suma a 19 juicios	35	<b>42</b>	<b>53</b>	60

De los resultados de la prueba afectiva (Tabla IV), no hubo diferencia significativa entre las muestras para los parámetros de color y sabor.

**Tabla IV.** Resultados de la prueba afectiva.

Tratamientos	Color	Sabor
<i>Control</i>	$7.28 \pm 2.052^a$	$7.80 \pm 1.225^a$
<i>Pollo:Camote (85:15)</i>	$7.32 \pm 1.406^a$	$7.56 \pm 1.227^a$
<i>Pollo:Camote (70:30)</i>	$7.08 \pm 1.498^a$	$7.48 \pm 1.388^a$
<i>Pollo:Camote (55:45)</i>	$6.96 \pm 1.859^a$	$7.40 \pm 1.384^a$

Valores en la misma columna seguidos por la misma literal, no tienen diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) como determina la prueba múltiple de rangos de Tukey y el análisis ANOVA, Minitab.

Se han utilizado nuevos ingredientes en la formulación de productos cárnicos al incorporar componentes con nuevas propiedades, como capacidad de retención de agua, formación de geles y aumenta rendimientos, que no solo afecta el comportamiento del alimento durante su procesamiento, sino también su calidad y características finales. En los últimos años, se han buscado ingredientes alternativos que puedan incorporarse a los alimentos cuyo consumo elevado suele asociarse al desarrollo de enfermedades como la obesidad, por su alto contenido de grasas y sodio en los productos cárnicos o azúcares añadidos en otros alimentos, buscando mejorar su calidad nutricional sin alterar los atributos sensoriales a los que el consumidor está acostumbrado. La inclusión de fibras como la cáscara de soya, cítricos, avena y fructooligosacáridos, en productos alimenticios como salchichas, hamburguesas y nuggets ha mostrado resultados favorables a nivel tecnológico, nutricional y sensorial, señalando un potencial importante en el desarrollo de alimentos funcionales (Rivera, 2022).

Según Kumar et al. (2011), la adición de fibras de harina de banana y cáscara de soya a nuggets de pollo da como resultado un incremento en la capacidad de retención de agua, disminución en las pérdidas por cocción e incremento de la dureza.

**Determinación del punto de equilibrio:**

**Tabla V.** Resumen de costos fijos.



**Costos fijos (A un mes)**

<b>Cantidad</b>	<b>Concepto (Equipo/Inmobiliario)</b>	<b>Costo de compra</b>
-	Renta del local	\$ 7,000.00
-	Luz	\$ 15,000.00
-	Agua	\$ 7,500.00
-	Teléfono	\$ 800.00
-	Gas	\$ 800.00
-	Mantenimiento	\$ 2,000.00
-	Limpieza	\$ 1,000.00
1	Ingeniero	\$ 9,500.00
1	Gerente de ventas	\$ 9,000.00
1	Personal encargado del marketing	\$ 7,000.00
1	Contador	\$ 8,000.00
1	Vendedor	\$ 3,600.00
1	Técnico de mantenimiento	\$ 6,000.00
1	Técnico de calidad	\$ 6,000.00
1	Supervisor	\$ 7,000.00
2	Operador	\$ 7,200.00
2	Personal de limpieza	\$ 6,400.00
	<b>Costo Total</b>	<b>\$ 103,800.00</b>

**Tabla VI.** Resumen de costos variables.

Valor en el mercado				1 kg de mezcla para Nuggets con camote			
<b>Precio</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Precio</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Ingrediente</b>	<b>Precio</b>
\$	90.00	1000 g	Pollo	708.34 g	\$		63.75
\$	15.00	1000 g	Camote	125.00 g	\$		1.88
\$	40.00	1000 g	Huevo	66.67 g	\$		2.67
\$	15.00	250 g	Pan molido	66.67 g	\$		4.00
\$	8.00	100 g	Ajo en polvo	6.67 g	\$		0.53
\$	8.00	100 g	Cebolla en polvo	6.67 g	\$		0.53
\$	3.00	70 g	Perejil	3.34 g	\$		0.14
\$	12.00	100 g	Orégano	3.34 g	\$		0.40
\$	14.00	100 g	Comino	3.34 g	\$		0.47
\$	39.50	430 g	Aceite	80.64 g	\$		7.41
\$	12.70	750 g	Sal	10.00 g	\$		0.17
\$	28.50	3 pieza	Contenedores Great Value de Plástico	5 pieza	\$		47.50
			<b>Precio total/kg</b>		<b>\$</b>		<b>129.45</b>

Costo variable unitario	\$	25.89
Precio variable unitario	\$	41.42

De acuerdo con lo anterior la venta mínima son 6682 unidades o un total de \$276,800 pesos.

### Elaboración del etiquetado e información nutricional

La etiqueta fue dividida en cuatro partes las cuales fueron colocadas en las cuatro caras del recipiente en el que se empacaron los nuggets. El producto solo tiene el sello de exceso sodio, ya que su contenido de 535.6 mg es mayor a los 300 mg que se marca en la norma 051. Nuestro producto a diferencia de los nuggets comerciales solo cuenta con un sello, por ejemplo los nuggets de Bachoco, Tyson, Great Value tienen 2 el de exceso de grasas saturadas y exceso de sodio, los de Pilgrims tienen exceso de calorías y de sodio.

Declaración nutrimental	Por 100 g
Contenido energético	202.7 kcal (848.1 kJ)
Grasas totales	7.4 g
Grasas saturadas	1.6 g
Grasas trans	0 mg
Hidratos de carbono disponibles	9.3 g
Azúcares	0 g
Azúcares añadidos	0 g
Fibra dietética	0 g
Sodio	535.6 mg

Figura 2. Etiqueta del producto e información nutricional.

### CONCLUSIÓN

Tras la evaluación de los resultados se decidió trabajar con la formulación B (85:15 pollo, camote) por la aceptabilidad mostrada en las pruebas afectivas. El impacto de la decisión tomada será el ahorro económico en materias primas (pechuga de pollo) y contribuirá a la salud del consumidor, también nos servirá como base para las evaluaciones posteriores. Aunado a lo anterior, se puede usar esta relación por su alto valor nutrimental, a la par de que es una buena estrategia de marketing debido a las diferentes tendencias en el mercado por productos que aporten, además de satisfacer su saciedad, otros beneficios como la alta digestibilidad de producto y el alto contenido proteico del pollo.

### BIBLIOGRAFÍA

Bonato, P., Perlo, F., Teira, G., Fabre, R., & Kueider, S. (2006). Características texturales de nuggets de pollo elaborados con carne de ave mecánicamente recuperada en reemplazo de carne manualmente deshuesada. *Ciencia, docencia y tecnología*, 17(32), 219-239.

- Rene, A., Linaloe, A., & Ramos, M. (2018). Propiedades nutrimentales del camote (*Ipomoea batatas* L.) y sus beneficios en la salud humana. *Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 19, 2.
- Larmond E. (1986). *Laboratory Methods for Sensory Evaluation of Foods*. Canada Department of Agricultural Publication, Ottawa, Canada, 16–37.
- Kumar, V., Kumar, A., Sahoo, J., Kumar, M., & Sivakumar, S. (2011). Quality and storability of chicken nuggets formulated with green banana and soybean hulls flours. *Journal of Food Science and Technology*, 50: 1058-1068.
- Rivera-De Alba, J. A., & Girón, E. F. (2022). La fibra dietética como ingrediente funcional en la formulación de productos cárnicos. *TECNOCIENCIA Chihuahua*, 16(1), 40-54.
- SIAP. (2017). Anuario estadístico de la producción agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Solís, C. & Ruiloba, M.H. (2017). Evaluation of different levels of integral silage of sweet potato (*Ipomoea batatas*) as energetic source for growing cattle. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 51(1): 35-46.
- Antonio R., Luna. (2021). Nuggets de Pollo ¿De qué están hechos?, *Revista del Consumidor* 530, (1): 16-19.
- Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria (CEDRSSA). (2019). La importancia de la industria avícola en México, Disponible en: [http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/47Industria\\_Avicola\\_M%C3%A9xico.pdf](http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/47Industria_Avicola_M%C3%A9xico.pdf)

## **Concentrado de proteína vegetal en polvo saborizado con cacao natural y Stevia: Un suplemento apto para veganos**

C. M. Tinajero-Castro\*, y M. E. Sosa-Morales

Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Carretera Irapuato Silao km 9, C.P. 36500, Irapuato, Gto., México. [\\*cm.tinajeroastro@ugto.mx](mailto:*cm.tinajeroastro@ugto.mx)

### **RESUMEN**

Los productos de proteínas a base de plantas han atraído la atención en las últimas las décadas de las personas que están interesados en incorporar hábitos de vida saludables, lo que se traduce en un mayor consumo de productos proteicos veganos. La creciente conciencia sobre los beneficios para la salud de la proteína en polvo vegana y niveles altos de digestibilidad impulsan la adopción y el consumo de este producto. En el presente trabajo se realizó la extracción alcalina de la proteína contenida en frijoles variedad Flor de Mayo, habas y lentejas. Con el concentrado de proteína resultante, se realizó una mezcla con 12.5 g, 7.5 g y 5.0 g de concentrado de lenteja, haba y frijol, respectivamente y 2.0 g de goma Xantana; se formularon distintas muestras con 20 y 25 g de cacao, y con 2.5 y 3.75 g de endulzante (2.5% de Stevia). Se realizó el análisis de demanda del producto y el análisis sensorial del sabor y de la aceptabilidad general de las distintas formulaciones. No se encontraron diferencias significativas entre las formulaciones, es decir, la concentración de cacao y edulcorante no afectó el sabor ni la aceptabilidad general del consumidor.

**Palabras clave:** proteína, suplemento alimenticio, vegano, análisis sensorial

### **ABSTRACT**

**Abstract:** Plant-based protein products have attracted attention in the last decades from people who are interested in incorporating healthy lifestyle habits, which translates into increased consumption of vegan protein products. Growing awareness of the health benefits of vegan protein powder and high levels of digestibility are driving the adoption and consumption of this product. In the present work, the alkaline extraction of the protein contained in Flor de Mayo beans, broad beans and lentils was carried out. With the resulting protein concentrate, a mixture was made with 12.5 g, 7.5 g and 5.0 g of lentil, broad bean and bean concentrate, respectively, and 2.0 g of Xanthan gum; different samples were formulated with 20 and 25 g of cocoa, and with 2.5 and 3.75 g of sweetener (2.5% Stevia). The demand analysis of the product and the sensory analysis of the taste and the general acceptability of the different formulations were carried out. No significant differences were found between the formulations, that is, the concentration of cocoa and sweetener did not affect the flavor or the general acceptability of the consumer.

**Key words:** protein, dietary supplement, vegan, sensory analysis

## **INTRODUCCIÓN**

En Latinoamérica existe una gran variedad de cultivos: cereales, oleaginosas, legumbres, entre otros. Este tipo de cultivo constituye una fuente de proteína, generalmente no bien aprovechada, con potencial aplicación en la industria alimentaria. Es por esto por lo que resulta de interés el desarrollo racional de procesos químicos que permitan recuperar las proteínas para poder utilizarlas en distintos productos, de acuerdo con sus propiedades fisicoquímicas, funcionales y biológicas (Bonino et al, 2016).

Las proteínas vegetales (PV) constituyen una fuente de nutrientes e ingredientes funcionales de interés por su variedad, disponibilidad y costo, presentan amplia versatilidad en cuanto a sus características fisicoquímicas y durante las últimas décadas, diferentes investigadores han realizado un amplio esfuerzo para mejorar la funcionalidad de estas a través de modificaciones químicas o enzimáticas (Bonino et al, 2016) y el desarrollar suplementos a partir de este tipo de proteínas, a fin de ser un complemento para cubrir necesidades, ya sea por un requerimiento dietético, para reponer energía, evitar pérdida de masa muscular o, por el contrario, aumento de este en deportistas (Andreu 2015; Sloan, 2018).

Como su nombre lo indica, este tipo de suplemento deriva de fuentes vegetales como chícharo, soya, amaranto o arroz. Este tipo de proteínas son excelentes alternativas para las personas que son alérgicas a la proteína de suero de leche (caseína), ideal para quien lleva un estilo de vida vegetariano o vegano y puede ser una mejor opción para las personas que tiene problemas de digestión (Andreu, 2015).

La demanda de proteína vegetal sigue siendo más elevada, por lo que se espera que las inversiones en este campo sigan incrementándose para poder llegar a más consumidores y utilizar diferentes fuentes de proteína como lo es el arroz, los garbanzos, los hongos, los girasoles, la avena y las habas (Sloan, 2018). Por lo tanto, se sigue innovando en el desarrollo de ingredientes distintos, para dar con aquellas fórmulas que nos aporten una mejor nutrición, sabor, funcionalidad y precio.

El presente trabajo tiene la finalidad de elaborar un polvo de proteína vegana, elaborada a partir de legumbres altas en proteína; con este proyecto se pretende ofrecer una alternativa diferente en cuanto a los ingredientes que se encuentran normalmente en estos productos, a fin de aprovechar las legumbres que se ofertan a bajos precios en nuestro país, y poder ofrecer un producto agradable al consumidor, con buenas características organolépticas, un producto rentable y con una vida de anaquel alta.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se realizó el análisis FODA y el análisis de demanda de estos productos, a fin de valorizar el mercado potencial y recabar información acerca de las necesidades y preferencias del consumidor, para tomar decisiones referentes a los atributos funcionales, económicos y simbólicos nuestro producto.

Para el desarrollo de este producto se realizó la extracción alcalina de las proteínas contenidas en frijol tipo Flor de Mayo, habas y lentejas, adquiridas en un mercado local de la ciudad de Irapuato, Gto. Se hidrataron 200 g de cada una de las legumbres en 300 mL de agua purificada durante 12 h. En una licuadora Ninja Professional BL610 se colocaron por separado los 500 g de cada una de las

leguminosas hidratadas y licuaron con 500 mL más de agua destilada durante 5 min a velocidad alta. Se preparo una solución de bicarbonato de sodio con agua, se colocaron 750 mL de agua y se adicionaron 37,5 g de bicarbonato de sodio, y se homogenizo la solución. Se adicionaron 250 mL de la solución obtenida a cada una de las legumbres previamente licuadas, y por separado, se licuaron nuevamente a baja velocidad durante 2 min. El objetivo de agregar el bicarbonato a la mezcla fue para subir su pH a 9.

Se vaciaron las mezclas obtenidas en tres contenedores por separado y se batieron por 30 min. Se filtraron y se calentaron a 35° C en una olla de acero inoxidable; alcanzada la temperatura, se vaciaron por separado a un recipiente, y a cada una de ellas se le adicionaron 6,25 g de ácido cítrico disueltos previamente en 50 mL de agua purificada. Se dejaron reposar las mezclas por 12 h a una temperatura de 4°C. En ese tiempo empieza a separar la mezcla, en la superficie está el suero y en la parte de abajo se estará decantando la proteína. Con ayuda de una jeringa de 10 mL se removió el suero para evitar remover parte de la proteína. Una vez que se retiró todo el suero posible, se deshidrató la proteína en un horno eléctrico Moulinex Uno M, a 100°C durante 2.5 h.

Una vez deshidratadas, se pesó el total de producto obtenido de cada una de las legumbres y se aplicó una relación de frijol, haba y lentejas al 20, 30 y 50%, respetivamente para el polvo de proteína sin preparar. Se realizó el pesado de cada uno de los ingredientes para preparar la proteína saborizada de acuerdo con las formulaciones propuestas en la tabla I.

**Tabla 1.** Formulaciones empleadas en la elaboración de polvo de proteína vegana

<b>Ingredientes</b>	<b>Formulación 1 (9124)</b>	<b>Formulación 2 (4866)</b>	<b>Formulación 3 (1044)</b>	<b>Formulación 4 (6875)</b>
Proteína en polvo sin preparar	25,0 g	20,0 g	20,0 g	25,0 g
Cocoa	20,0 g	15,0 g	20,0 g	15,0 g
Edulcorante Svetia (2,5% de Stevia)	3,75 g	2,5 g	3,75 g	2.5 g
Goma Xantana	2,0 g	2,0 g	2,0 g	2,0 g

Una vez realizadas las distintas formulaciones, 25 g del polvo preparado se hidrataron en 240 mL de agua y se llevó a cabo un análisis sensorial de las muestras en el laboratorio de Desarrollo de Nuevos Productos y Evaluación Sensorial del programa de Ingeniería en Alimentos de la Universidad de Guanajuato. Se estableció el criterio de emplear 44 panelistas, de acuerdo con lo reportado por los autores Acevedo et al. (2009) y Sindoni et al. (2008), los cuales trabajaron con panelistas no entrenados de cantidad inferior a 50 personas.

La evaluación se realizó en cabinas individuales con el objeto de no ejercer influencia sobre los demás. Las pruebas se realizaron en un lugar tranquilo, lejos de ruidos y olores extraños, con buena iluminación natural y se aseguró que los jueces se lavaran la boca con agua después de cada captación.

A los panelistas se les pidió anticipadamente su aceptación a participar en esta prueba y se les explicó de antemano las características generales de la evaluación y la responsabilidad que ellos tenían como jueces.

Se aplicó una prueba de nivel de agrado con escala estructurada en donde los panelistas evaluaron la aceptabilidad general (Fig. 1b) y se aplicó una prueba de ordenación por preferencia, donde los jueces ordenaron por preferencia las muestras que les gustaban menos a las que les gustaban más teniendo como parámetro el sabor de la bebida preparada (Fig. 1a). Las muestras se presentaron en vasos 30 mL transparentes, de forma revuelta identificadas con un código numérico asignado aleatoriamente (Tabla I). Se les proporcionaron unas boletas para realizar las pruebas (Fig. 1).

Concluidas las evaluaciones, se analizaron los resultados obtenidos de manera manual y mediante un ANOVA haciendo uso del software StatGraphics. Finalmente, se hizo una discusión de los resultados.

a)

b)

**Figura 1.** a) Ficha de evaluación sensorial: test de ranking (sabor) y b) test de preferencia escalar (escala estructurada)

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**a) Análisis de demanda y análisis FODA**

Para los veganos, uno de los mayores desafíos siempre ha sido obtener las fuentes de proteínas adecuadas para su dieta. Hay muy pocas proteínas vegetales completas. La clave, entonces, es una mezcla de proteína vegetal en polvo que contenga todas las proteínas necesarias en las cantidades adecuadas. Los estudios y la investigación ahora han demostrado que gran parte de la dieta de los veganos depende de suplementos alimenticios derivados de proteínas vegetales, que contrario a lo que muchos creen, tienen proteínas esenciales más que suficientes para un cuerpo sano.

BOLETA DE EVALUACIÓN SENSORIAL  
PRUEBA DE ORDENACIÓN DE PREFERENCIA

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_  
 Producto: Proteína vegana en polvo Característica: Sabor

Pruebe por favor las muestras en el orden que se le dan, e indique sus preferencias ordenándolas de la que le guste menos a la que le guste más.

Código de las muestras

\_\_\_\_\_

Me gusta menos Me gusta más

¡Muchas gracias! Te agradecemos tu participación

BOLETA DE EVALUACIÓN SENSORIAL  
PRUEBA DE NIVEL DE AGRADO (ESCALA ESTRUCTURADA)

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_  
 Producto: Proteína vegana en polvo Característica: Aceptabilidad general

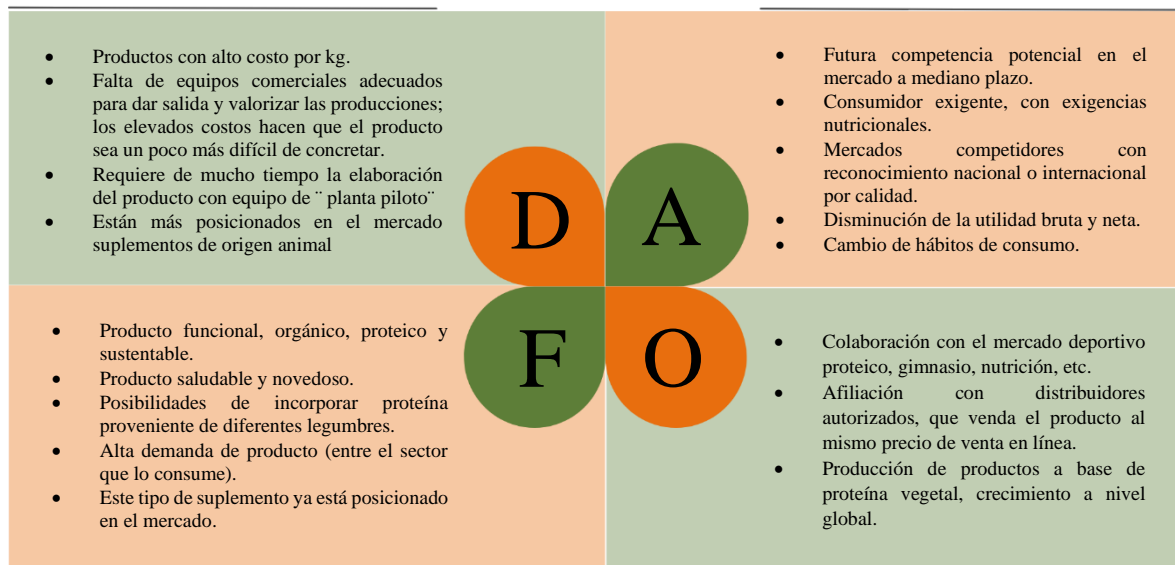
Por favor, pruebe las muestras en el orden que se le dan, e indique su nivel de agrado marcando con una X en cada columna. ¡Muchas gracias!

	6875	9124	4866	1044
Me gusta muchísimo	_____	_____	_____	_____
Me gusta mucho	_____	_____	_____	_____
Me gusta moderadamente	_____	_____	_____	_____
Me gusta poco	_____	_____	_____	_____
No me gusta ni me disgusta	_____	_____	_____	_____
Me disgusta poco	_____	_____	_____	_____
Me disgusta moderadamente	_____	_____	_____	_____
Me disgusta mucho	_____	_____	_____	_____
Me disgusta muchísimo	_____	_____	_____	_____

En el 2018, Sloan (2018) reportó que se proyectaron ventas en ese año para productos de nutrición deportiva y de proteínas en polvo de 5,400 millones de dólares, con una tasa de crecimiento del 6,6 %. En adición, Sloan (2018) reporto que poco más de un tercio de los hogares estadounidenses dijeron estar siguiendo una dieta específica centrada en proteínas, teniendo un crecimiento en ventas de alimentos y bebidas etiquetados como “excelente fuente de proteínas” de un 12%.

**DEBILIDADES**

**AMENAZAS**



**FORTALEZAS**

**OPORTUNIDADES**

**Figura 2.** Matriz FODA de la proteína vegana en polvo saborizada y endulzada

Los consumidores cada vez buscan alimentos menos procesados, con menos aditivos, más “naturales”, orgánicos, y esto ha obligado a la industria a la creación de productos con estas características, dando como resultado un exorbitante crecimiento económico, sobre todo en los alimentos funcionales, como es el caso de nuestro producto objetivo. En Estados Unidos hace más de una década el mercado de los suplementos alimenticios generó 3,3 billones de dólares, creciendo hasta un total de 12 billones anuales en 1999 (Sánchez, 2008), lo que potencialmente sugiere que el desarrollo de un suplemento alimenticio, sobre todo apto para veganos y con la adición de pocos aditivos, hoy en día es una decisión sumamente acertada. Reforzando lo anterior, presentamos el análisis FODA realizado (Fig. 2), que nos permite ver las oportunidades y debilidades del producto, y de este modo, idear estrategias que permitan llegar al sector objetivo y posicionar el producto en el mercado.

**b) Análisis sensorial**



La aceptación del producto se evaluó basándose en las características sensoriales como el sabor y aceptabilidad general mediante distintas pruebas. El sabor fue evaluado mediante una prueba de ordenación por preferencia, las muestras fueron evaluadas del 1 al 4, donde el 1 es asignado a las muestras ranqueadas con "me gusta menos" y 4 para las muestras ranqueadas con "me gusta más". Para el análisis de los datos, se sumó el total de los valores de posición asignados a cada muestra y se determinaron las diferencias significativas entre las muestras comparando los totales de los valores de posición de los posibles pares de muestras utilizando la prueba de Friedman.

De acuerdo con la tabla de Diferencias Críticas Absolutas de la Suma de Rangos para las Comparaciones de "Todos los Tratamientos" a un Nivel de Significancia de 5% de Watts et al. (1992), con 44 panelistas y 4 muestras, el valor crítico tabulado para  $p=0,05$  es de 32. Por lo tanto, ninguna de las muestras fue significativamente diferente entre ellas.

El panel de jueces consideró que el sabor de las formulaciones 1 y 4 es el menos aceptable que el sabor de las formulaciones 2 y 3.

**Tabla II.** Resultados de la prueba de ordenación por preferencia (44 panelistas)

Ranking (puntaje)	Formulación 1 (9124)	Formulación 2 (4866)	Formulación 3 (1044)	Formulación 4 (6875)
4	9	11	16	8
3	11	11	9	13
2	14	11	10	9
1	10	11	9	14
Puntaje total obtenido	107	110	120	103

Para el análisis de los resultados de la prueba de preferencia, se realizó un análisis de varianza con los datos de la tabla IV. Las formulaciones 1 y 3, con mayor contenido de endulzante, tuvieron una mejor evaluación en términos de aceptabilidad general. No existe una diferencia estadísticamente significativa para la aceptabilidad general ( $p>0.05$ ). por lo que la concentración de cacao y edulcorante no afecta la aceptabilidad general del consumidor.

**Tabla IV.** Resultados de la prueba de nivel de agrado con escala estructurada (44 panelistas)

Muestra	Aceptabilidad general
Formulación 1 (9124)	4.45 ± 0.23 <sup>a</sup>
Formulación 2 (4866)	4.45 ± 0.39 <sup>a</sup>

Formulación 3 (1044)	4.84 ± 0.63 <sup>a</sup>
Formulación 4 (6875)	4.21 ± 0.30 <sup>a</sup>

\*La aceptabilidad general promedio con letra diferente es significativamente diferente, según la prueba de Tukey ( $\alpha=0,05$ ). Las medias de tratamiento se muestran con el límite de confianza al 95%

## CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos en ambas pruebas sensoriales, se concluye que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las muestras con diferente contenido de cacao y edulcorante. Sin embargo, la formulación 3 (1044) con una concentración de 60 % de cacao, 1,5 % de edulcorante y 1 % de goma xantana se elegiría ante las demás formulaciones por cuestiones de costo y de efectos estimulantes por el consumo de cacao. La acidez del cacao en polvo junto con la acidez del concentrado de proteína vegetal, resultaron en una pobre aceptabilidad general del producto, por lo que sería bueno considerar la reformulación del producto, reemplazando el saborizante natural de cacao por algún saborizante de menor acidez y amargor, considerando la vainilla como posible sustituto, además de la necesidad de optimizar el proceso de secado de nuestro concentrado de proteína. Para futuros trabajos se recomienda realizar una evaluación de digestibilidad proteica *in vitro*, además de realizar análisis fisicoquímicos y un análisis proximal para determinar los componentes proximales del polvo de concentrado de proteína saborizado y endulzado, sobre todo el contenido de proteína en el polvo, y así valorizar el producto, realizar su etiquetado y su venta al consumidor.

## BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, I., García, O., Contreras, J., Acevedo, I. (2009). Elaboración y evaluación de las características sensoriales de un yogurt de leche caprina con jalea semifluida de piña. *Revista UDO Agrícola*. 9 (2): 442-448.
- Andreu, M. (2015). *“Nutrición y Salud en la Dieta Vegana”* (Trabajo de grado). Universitat Oberta de Catalunya. CDMX, México.
- Balam, L. (2014). *“Proyecto de inversión para la producción y comercialización de vino artesanal con miel”* (Tesis de grado). Instituto Tecnológico de la Zona Maya. Quintana Roo, México.
- Bautista, K. M. (2018). *Desarrollo de una bebida vegetal con proteína de espirulina (arthrospira platensis), apta para el público diabético ecuatoriano* (Tesis de maestría). Universidad de las Américas, Quito.
- Bonino, J., Cagnassi, L., Giudicci, A., Ibarra, J., Oriolani, P., Vidal, A., Molina, M., Flores, A., López, D., Montellano, N., Galante, M., Spelzini, D., Boeris, V. (2016). Caracterización fisicoquímica de aislados de proteínas vegetales. *Energeia*. 14 (14): 1668-1622.
- Sánchez, A., Miranda, M., Hernández, E. (2008). Estudio estadístico del consumo de suplementos nutricionales y dietéticos en gimnasios. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 58 (3).
- Sindoni, M., Marcano, L., Parra, R. (2008). Estudios de aceptación de harinas derivadas de merey para la elaboración de panes. *Agronomía Trop*. 58 (1):11-16.
- Sloan, A. (2018). TOP 10: Functional Food Trends. *Food Technology*. pp. 26-46.
- Watts., B.M., Ylimaki, G.L., Jeffery, L.E., Elías, L.G. (1992). *Basic Sensory Methods for Food Evaluation*. International Development Research Centre. Ontario, Canadá. pp. 66, 132-133.

## Desarrollo de un bioproceso: kéfir vegano de arroz-avena con propiedades antioxidantes

A. García-Hernández<sup>1\*</sup>, G. Hernández-Guzmán<sup>1</sup>, J.E. Barboza-Corona<sup>1</sup>, G. Rodríguez-Hernández<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Alimentos. División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca. Universidad de Guanajuato. Ex-Hacienda El Copal km 9. Irapuato-Silao Highway. C.P. 36824. Cd. Irapuato, Guanajuato, México. [gabriela.rodriguez@ugto.mx](mailto:gabriela.rodriguez@ugto.mx)

### RESUMEN

El Kéfir es una bebida fermentada con una mezcla de probióticos. En el presente estudio, se trabajó con un cultivo mixto de 11 bacterias y una levadura, para desarrollar una formulación de kéfir vegano a base de arroz y avena, probándose tres diferentes proporciones de arroz-avena (50-50 %, 25-75 % y 75-25 % respectivamente) y se eligió una de ellas. Posteriormente, se trabajó con tres tratamientos de kéfir (uno vegano, uno a base de leche de vaca y un control a base de agua), cuantificados microbiológicamente (hongos y bacterias mesófilas aerobias) y monitoreados durante su vida en anaquel (doce días) en términos de acidez titulable, concentración peptídica, actividades proteolíticas y antioxidantes (radical DPPH). De los cual, se observó que la acidez titulable presentó diferencias significativas por efecto de tratamientos ( $P \leq 0.01$ ), para la actividad proteolítica no existió diferencia significativa por efecto de tratamientos ( $P \geq 0.01$ ), para la concentración peptídica se observó decremento durante vida en anaquel ( $P \leq 0.01$ ) con diferencias por efecto de tratamientos ( $P \leq 0.01$ ). Así también, las bebidas presentaron actividad antioxidante *in situ*, con diferencias por efecto de tratamientos ( $P \leq 0.01$ ), día de monitoreo ( $P \leq 0.01$ ), y por las dos concentraciones usadas del radical DPPH ( $P \leq 0.01$ ).

**Palabras clave:** Kéfir, probióticos, DPPH, proteólisis, alimentos funcionales, fermentación.

### ABSTRACT:

Kefir is a fermented beverage with a mixture of probiotics. In the present study, we worked with a mixed culture of 11 bacteria and a yeast, to develop a vegan kefir formulation based on rice and oats, testing three different rice-oat ratios (50-50%, 25-75% and 75-25% respectively) and one of them was chosen. Subsequently, we worked with three kefir treatments (one vegan, one based on cow's milk and a water-based control), quantified microbiologically (aerobic mesophilic fungi and bacteria) and monitored during their shelf life (twelve days) in terms of titratable acidity, peptide concentration, proteolytic activities, and antioxidants (DPPH radical). Of which, it was observed that the titratable acidity presented significant differences by effect of treatments ( $P \leq 0.01$ ), for the proteolytic activity there was no significant difference by effect of treatments ( $P \geq 0.01$ ), for the peptide concentration decrease was observed during shelf life ( $P \leq 0.01$ ) with differences due to the effect of treatments ( $P \leq 0.01$ ). Likewise, the beverages presented antioxidant activity *in situ*, with differences due to the effect of treatments ( $P \leq 0.01$ ), monitoring day ( $P \leq 0.01$ ), and the two concentrations used of the DPPH radical ( $P \leq 0.01$ ).

**Keywords.** Kefir, probiotics, DPPH, proteolysis, functional food, fermentation.

## INTRODUCCIÓN

La leche y sus derivados son alimentos con alto valor nutritivo y funcional, por sus componentes bioactivos como proteínas, lípidos, carbohidratos y vitaminas (Bhat & Bhat, 2014). El kéfir es una leche ácida fermentada, algunas veces carbonatada y alcohólica. Es obtenida de la incubación de la leche con los granos de kéfir, los cuales son gelatinosos y compuestos de proteínas y polisacáridos (principalmente kefirano) y contienen probióticos fermentativos (bacterias y levaduras). Por otra parte, las bebidas vegetales son productos no lácteos, elaboradas con agua y vegetales. En la actualidad se tiende a reducir la ingesta de proteína animal, y podría sustituirse por concentrados o aislados proteicos vegetales (Dávila De Campagnaro, 2017).

La avena (*Avena sativa*), está constituida por almidón, vitaminas, minerales, es alto en fibra y tiene un 12% de proteínas. La avena presenta aportes al sistema nervioso y propiedades anticolesterolémicas (SIAP, 2021). El arroz (*Oryza sativa*) está constituido de almidón (más del 80 % del grano), proteínas (7-9%) y fibra dietética. Este cereal presenta propiedades antialérgicas, anticolesterolémicas y antioxidantes. Adicionalmente, los alimentos fermentados con probióticos son alimentos funcionales que contienen microorganismos viables en grado suficiente para modificar favorablemente el microbiota gastrointestinal del huésped (Sanz *et al.*, 2003).

La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa, de tal manera que un antioxidante principalmente se debe a su capacidad para reaccionar con radicales libres (Londoño, 2012).

En relación con todo lo anterior, el objetivo del presente estudio desarrollar un bioproceso formulando un kéfir vegano de arroz-avena y comparar sus características tecnológicas y antioxidantes con kéfir de leche de vaca.

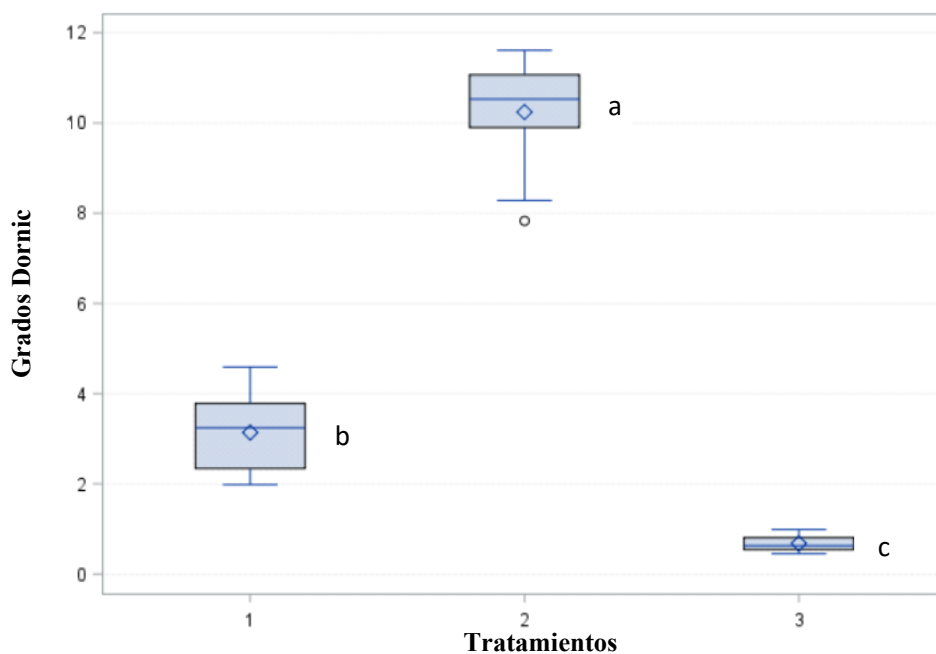
## MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio, se trabajó con un cultivo mixto de 11 bacterias y una levadura, para desarrollar una formulación vegana de kéfir basada en una mezcla de arroz-avena y compararla con kéfir a base de leche de vaca. Para la formulación del kéfir vegano, se probaron previamente tres proporciones diferentes de arroz-avena (50-50%, 25-75% y 75-25% respectivamente) y se eligió una de ellas.

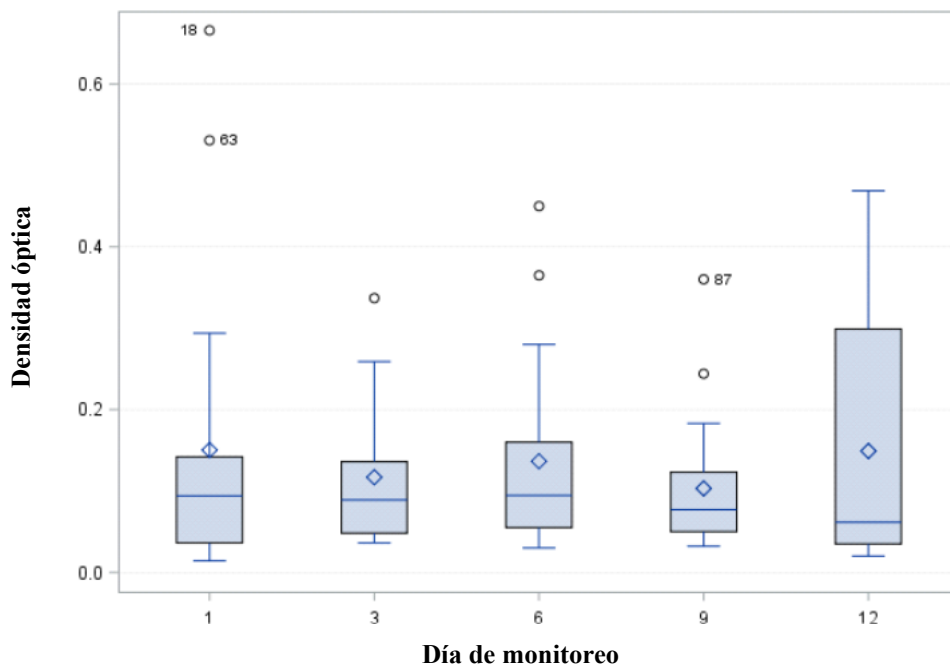
Posteriormente, se trabajó con tres tratamientos de kéfir (uno vegano, uno a base de leche y otro a base de agua), monitoreados durante su vida útil (12 días) en términos de: a) acidez titulable (NOM-243-SSA1-2010) y b) con extractos hidrosolubles almacenados a -20°C hasta su análisis, según lo descrito por Donkor *et al.* (2007), para determinar la concentración peptídica con azul brillante de Comassie G-250 (Bradford *et al.*, 1976), actividad proteolítica con O-ftaldialdehído y mercaptoetanol (Church *et al.*, 1983) y actividad antioxidante, por inhibición del radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracilo) a 517 nm en dos concentraciones (0,075 y 0,0375 mM), según la técnica espectrofotométrica descrita por Pritchard *et al.* (2010). Los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico SAS (2006), en el que se realizó un análisis de varianza con el procedimiento GLM y diferencias de medias por Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

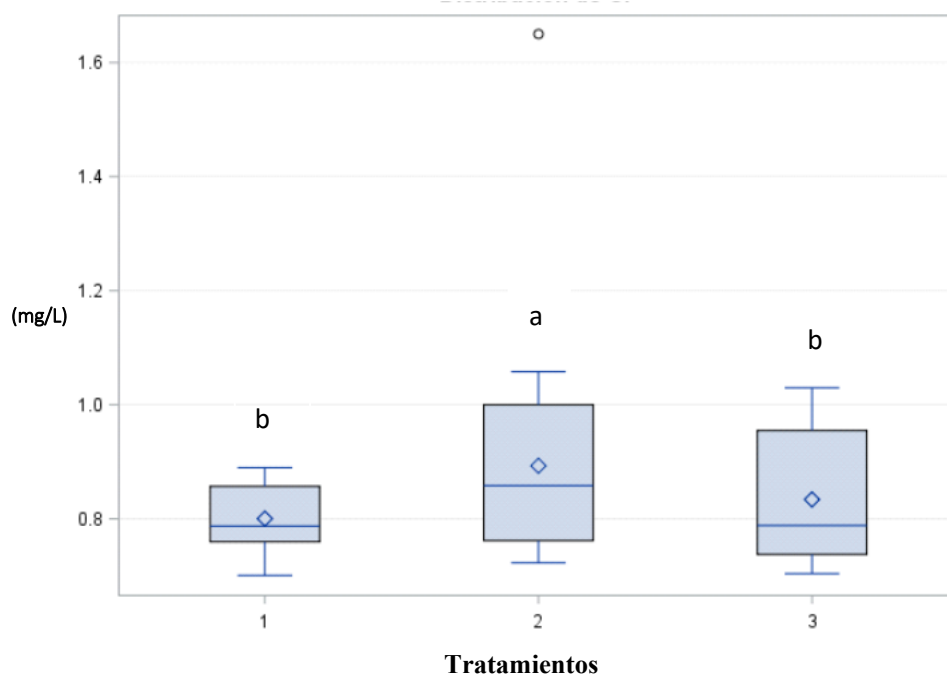
Se observó que el pH (Figura 1) y la acidez titulable presentaron diferencias significativas debido al efecto de los tratamientos ( $P \leq 0.01$ ). Asimismo, para la actividad proteolítica (Figura 2), las bebidas no mostraron diferencias significativas debido al efecto de los tratamientos ( $P \geq 0.01$ ), no obstante, para la concentración peptídica (Figura 3), se observó una disminución de esta a lo largo de la vida en anaquel ( $P \leq 0.01$ ) con diferencias por el efecto de los tratamientos ( $P \leq 0.01$ ). Asimismo, las bebidas presentaron actividad antioxidante *in situ* (Figura 4), con diferencias por efecto de los tratamientos, el día de monitoreo, y las dos concentraciones utilizadas del radical DPPH ( $P \leq 0.01$ ).



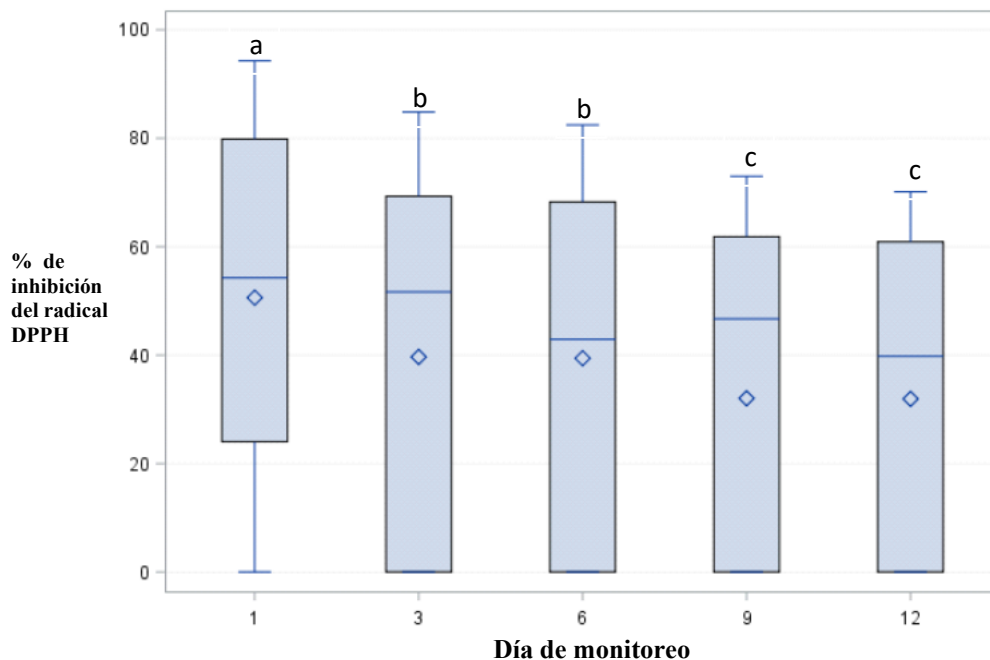
**Figura 1.** Acidez titulable (g/L) del kéfir durante su vida en anaquel. Tratamientos 1: vegano de arroz-avena, 2: leche, 3: agua purificada. <sup>a, b, c</sup> Diferentes literales indican diferencias significativas ( $P \leq 0.01$ )



**Figura 2.** Actividad proteolítica (Densidad óptica) del kéfir durante su vida en anaquel. Tratamientos 1: vegano de arroz-avena, 2: leche, 3: agua purificada. <sup>a,b,c</sup> Diferentes literales indican diferencias significativas ( $P \leq 0.01$ ).



**Figura 3.** Concentración peptídica (mg/L) de los extractos hidrosolubles del kéfir durante su vida en anaquel. Tratamientos 1: vegano de arroz-avena, 2: leche, 3: agua purificada. <sup>a,b,c</sup> Diferentes literales indican diferencias significativas ( $P \leq 0.01$ ).



**Figura 4.** Actividad antioxidante (inhibición del radical DPPH) de los extractos hidrosolubles del kéfir durante su vida en anaquel. Tratamientos 1: vegano de arroz-avena, 2: leche, 3: agua purificada. <sup>a, b, c</sup>Diferentes literales indican diferencias significativas ( $P \leq 0.01$ ).

## CONCLUSIÓN

Todos los tratamientos de kéfir mostraron una disminución en la actividad antioxidante durante su vida útil. El kéfir vegano mostró una mayor actividad antioxidante que el kéfir a base de leche, lo que sugiere que puede representar una opción como una bebida probiótica funcional con potencial antioxidante.

## BIBLIOGRAFÍA

Bhat, Z., & Bhat, H. (2014). Milk and Dairy Products as Functional Foods: A Review. *Int. J Dairy Sci*, 6(1)

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 248-254.

Church, F.C., Swaisgood, H.E., Porter, D.H., Catignani, G.L. (1983). Ensayo espectrofotométrico utilizando O-ftaldialdehído para la determinación de proteólisis en leche y proteínas lácteas aisladas. *Revista de ciencia láctea*, 66(6), 1219-1227.

Dávila De Campagnaro, E. (2017). Bebidas vegetales y leches de otros mamíferos. Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría, 80(3), 96–101.

Donkor, O. N., A. Henriksson, T. K. Singh, T. Vasiljevic, N. P. Shah. 2007. ACE-inhibitory activity of probiotic yoghurt. Int. Dairy J. 17:1321–1331.

Londoño Londoño, J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. In Desarrollo y transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia. Corporación Universitaria Lasallista.

NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

Pritchard S.R., P. M. (2010). Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese. *Food Research International* , 1545-1548.

Sanz, Y., Collado, M.C., Dalmau, J. (2003). Probióticos: criterios de calidad y orientaciones para el consumo. Valencia. Acta Pediátrica Española, 61(9), 476-482.

SAS, Statistical Analysis System. 2006. Version 9.1.3 for Windows. SAS Institute Inc., Cary, N.C.

SIAP. (2020). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Panorama de la lechería en México. [Brochure]. Obtenido de <http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20Cuarto%20Trimestre%202019.pdf>



## Desarrollo de un yogurt de kiwi con posible potencial nutrinmune empleando un diseño de superficie de respuesta y evaluación sensorial

A. A. Muñoz-Muñoz<sup>1\*</sup>, Ma. Del R Abraham-Juárez<sup>2</sup>, M. A. Rocha-Mendoza<sup>1</sup> y E. Mares-Mares<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tecnológico Nacional de México, Campus Instituto Tecnológico Superior de Guanajuato. Carr. Guanajuato-Puentecillas km 10.5 Puentecillas. CP. 36262. Guanajuato, Gto., México.

<sup>2</sup>Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. Carr. Irapuato-Silao km 9. Ex-Hacienda El Copal. CP. 36000. Irapuato, Gto., México.  
emares@itesg.edu.mx

### RESUMEN

Dentro de las estrategias de la inmuno-nutrición para prevenir los problemas causados por el COVID-19, se ha descrito que los péptidos bioactivos del yogurt poseen efectos positivos directos/indirectos en el sistema inmune, así como el consumo de prebióticos y vitaminas. El objetivo fue desarrollar una fórmula de yogurt empleando ingredientes potenciadores al refuerzo del sistema inmune (Complejo B, Vitamina C e inulina) empleando la metodología de superficie de respuesta y evaluación sensorial. Se empleó un diseño Box-behnken con MiniTab19 para establecer las fórmulas de acuerdo con las ingestas recomendadas en la NOM-SCFI/SSA1-2010. Para cada fórmula, se evaluó el color, olor, sabor y la consistencia con 50 panelistas y una escala hedónica de 5 puntos, los datos se analizaron para optimizar el modelo matemático e incrementar la aceptabilidad y se determinaron los parámetros de la declaración nutricional. Como resultados, se obtuvo un modelo cuadrático ( $R^2=0.988$ ) para el parámetro de sabor ( $p<0.05$ ) y se optimizó la fórmula, la cual contiene las proporciones de los ingredientes que maximizan su aceptabilidad y posee una leyenda de advertencia (exceso de azúcares). En conclusión, la metodología estadística y la evaluación sensorial permitieron desarrollar un yogurt fortificado en vitaminas e inulina que podría considerarse como una propuesta con potencial nutrinmune.

**Palabras clave:** Yogurt, Nutrinmune, Superficie de respuesta, Optimización

### ABSTRACT

Within the strategies of immuno-nutrition to prevent the problems caused by COVID-19, it has been described that the bioactive peptides of yogurt have direct/indirect positive effects on the immune system, as well as the consumption of prebiotics and vitamins. The objective was to develop a yogurt formula using ingredients that enhance the immune system (Complex B, Vitamin C and inulin) using the response surface methodology and sensory evaluation. A Box-behnken design was used with the MiniTab19 software to establish the formulas in accordance with the recommended intakes in the NOM-SCFI/SSA1-2010. For each formula, the color, odour, flavor, and consistency were evaluated with 50 panelists and a 7-point hedonic scale, the results were analyzed to optimize the mathematical model and increase acceptability and the parameters of the nutritional declaration were determined. As a result, a quadratic model ( $R^2=0.988$ ) was obtained for the flavor parameter ( $p<0.05$ ) and the formula was optimized, which contains the proportions of the ingredients that maximize its acceptability and has a warning legend (excess of sugars). In conclusion, the predictive statistical methodology and sensory evaluation allowed the development of a yogurt fortified in vitamins and inulin that could be recommended as a proposal with nutritional potential.

**Keywords:** Yogurt, immune-nutrition, Response surface, Optimization

## INTRODUCCIÓN

El yogurt, al ser un producto lácteo fermentado, es excepcionalmente rico en péptidos bioactivos con funciones múltiples potentes y efectivas útiles para influir beneficiosamente en las manifestaciones de COVID-19. Múltiples péptidos inhibidores de la ECA están presentes en yogures probióticos con efectos positivos a comparación a los inhibidores de la ECA sintéticos. Además, los probióticos utilizados en la industria del yogurt tienen efectos inmunomoduladores y antivirales beneficiosos con un posible papel en la prevención y el alivio de la infección por COVID-19 (Mohseni et al., 2021). Ahmed et al., (2021) puntualiza que actualmente el potencial inmune del yogurt no solo se basa en la efectividad de los péptidos inhibidores de la ECA y sus antioxidantes, sino al efecto de los péptidos en las distintas reacciones de señalización sobre los mecanismos implícitos que se desarrollan por las enfermedades dinamizadas por el COVID19, así como la integración de vitaminas y minerales. Sin embargo, por su naturaleza proteínica los péptidos requieren de ser encapsulados para mantener su actividad biológica (Segura *et al.*, 2010). Una alternativa viable es la fortificación y enriquecimiento de alimentos con vitaminas y minerales que fortalecen el sistema inmune. Por otra parte, el sistema inmunitario necesita ciertas vitaminas y minerales para funcionar de la manera adecuada. Entre ellos se encuentran la vitamina C, la vitamina D, el complejo B y el zinc. Los suplementos de hierbas, los probióticos y sus prebióticos y otros ingredientes de los suplementos dietéticos también podrían incidir en la inmunidad y la inflamación (OMS. 2015).

En el desarrollo de nuevos productos con fines funcionales hacia la salud los principales problemas son determinar las condiciones de operación y la proporción de los ingredientes que den como resultado el producto más conveniente en términos de sus características funcionales y sensoriales. Para obtener las proporciones de los ingredientes lo más adecuado es emplear un diseño de mezclas cuya formulación resulta de una mezcla de dos o más ingredientes o el diseño predictivo empleando metodologías estadísticas como el diseño de superficie de respuesta. Debido a lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue formular un yogurt de kiwi con potencial al fortalecimiento del sistema inmune a partir de ingredientes funcionales y la aplicación de la metodología de superficie de respuesta.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**1. Formulación.** Se realizó el yogurt a partir de leche bronca pasteurizada a 90°C durante diez minutos, la formulación fue realizada empleando por cada litro de leche 100 gr de fermento, 80 g de azúcar, 15 g de leche en polvo bajo las condiciones adecuadas (45°C por 4 a 5 h), de acuerdo con las condiciones óptimas y necesarias de acuerdo con los protocolos de ASELAC (2014) y a la normatividad nacional vigente. El yogurt se saborizó con una base frutal de kiwi al 20% con respecto al yogurt.

**2. Diseño de superficie de respuesta para la formulación de yogurt de kiwi.** Se empleó el software MiniTab 19 para establecer el diseño de superficie de respuesta “Box-Behnken”, donde se establecieron los intervalos de las concentraciones para Complejo B (4 a 7.8mL), Inulina (4 a 10g) y Vitamina C (0.05-0.4g). En la Tabla 2, se muestra la corrida de un bloque de reproducibilidad aleatoria obtenida para las formulaciones obtenidas con MiniTab 19. Los intervalos de concentración propuestos se apegan a los lineamientos establecidos en la Tabla de valores nutrimentales de referencia para la población mexicana descritos en la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 en su actualización 2020 y bajo el cumplimiento de las especificaciones fisicoquímicas de la NOM-181-SCFI/SAGARPA-2018 (Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba). Las cantidades de los ingredientes es con base una porción de 100g de yogurt.

**Tabla 1.** Orden de corridas de las formulaciones de yogurt con ingredientes inmunoprotectores.

Orden de estándar	Orden de corrida	Tipo Pt	Bloques	Inulina (g)	Vitamina C (g)	Complejo B (ml)
1	1	2	1	4.0	0.05	6.2
9	2	2	1	7.0	0.05	4.6
4	3	2	1	10.0	0.4	6.2
12	4	2	1	7.0	0.4	7.8
5	5	2	1	4.0	0.225	4.6
13	6	0	1	7.0	0.225	6.2
11	7	2	1	7.0	0.05	7.8
14	8	0	1	7.0	0.225	6.2
8	9	2	1	10.0	0.225	7.8
15	10	0	1	7.0	0.225	6.2
7	11	2	1	4.0	0.225	7.8
10	12	2	1	7.0	0.4	4.6
6	13	2	1	10.0	0.225	4.6
3	14	2	1	4.0	0.4	6.2
2	15	2	1	10.0	0.05	6.2

**3. Evaluación de los parámetros sensoriales para la formulación.** Obtenidas las corridas del diseño experimental Box-Behnken, se elaboraron las fórmulas y se adicionaron las concentraciones de los ingredientes potenciadores del sistema inmune a la base de yogurt. Cada una de las fórmulas se sometió a evaluación de los atributos sensoriales de color, olor, sabor y textura, para ello se empleó una escala hedónica de 5 puntos (donde 1 es me disgusta muchísimo, 3 no me gusta ni me disgusta y 5 me gusta muchísimo) a un panel de 50 jueces no entrenados.

**4. Optimización de la formulación a partir del modelo predictivo.** Los resultados de la evaluación sensorial se analizaron en el diseño de corridas Box-behnken. Para cada atributo se probó y estudió el modelo matemático de mejor ajuste (con una R-cuadrada mayor a 0.975) y se optimizó la muestra a un máximo de 5 de la escala de evaluación. Los modelos matemáticos fueron lineales, cuadráticos, cúbicos y cúbicos completos (Schffe 1998). Con las proporciones obtenidas y optimizadas se elaboró la formula y nuevamente se sometió a una evaluación sensorial a fin de corroborar la formulación con mayor aceptación.

**5. Declaración nutrimental.** Se determinó el análisis químico proximal teórico del yogurt optimizado elaborado bajo los parámetros de aceptación sensorial. Para ello, se determinó teóricamente el contenido de nitrógeno total (método 954.01), grasa (método 920.39), cenizas (método 923.03), fibra (método 962.09) y humedad (método 925.09) de acuerdo con los procedimientos estándar de la AOAC (2003). Los resultados se presentan de acuerdo con la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 (Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria) en su actualización del 2020 para el etiquetado frontal y reverso.

**6. Análisis Estadístico.** Todos los datos se reportaron como la media  $\pm$  desviación. Para conocer la diferencia en la variación del efecto de los tratamientos se realizaron un ANDEVA con un 95% de confiabilidad y una prueba de contraste medias utilizando la prueba de Tukey ( $\alpha= 0,05$ ). Se utilizó el paquete estadístico Minitab 19.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados promedio de los 50 jueces para los parámetros del análisis sensorial se presentan en la Tabla 2. En cada parámetro sensorial se realizó el análisis del diseño Box-Behnken con los diferentes modelos matemáticos (Lineal, cuadrático, cubico y cubico completo) hasta obtener un modelo significativo ( $p<0.05$ ) y un coeficiente de determinación ajustado ( $R^2$ ) de mayor a 0.95.

**Tabla 2.** Resultados de los parámetros del análisis sensorial para las diferentes fórmulas del diseño Box-Behnken

Código sensorial	Orden de corrida	Inulina (g)	Vitamina C (g)	Complejo B (ml)	Color	Olor	Textura	Sabor
A1	1	4.0	0.05	6.2	3.93	3.73	4.20	3.87
A2	2	7.0	0.05	4.6	3.93	3.87	4.13	3.73
A3	3	10.0	0.4	6.2	3.80	3.80	4.33	3.80
A4	4	7.0	0.4	7.8	4.13	3.73	4.27	3.93
A5	5	4.0	0.225	4.6	4.07	3.73	4.07	4.13
B1	6	7.0	0.225	6.2	3.73	3.73	4.07	3.93
B2	7	7.0	0.05	7.8	4.20	3.80	4.13	3.93
B1	8	7.0	0.225	6.2	3.73	3.73	4.07	3.93
B3	9	10.0	0.225	7.8	4.13	4.00	4.33	3.67
B1	10	7.0	0.225	6.2	3.73	3.73	4.07	3.93
B4	11	4.0	0.225	7.8	4.00	3.93	4.07	4.13
C1	12	7.0	0.4	4.6	3.80	4.13	4.00	3.87
C2	13	10.0	0.225	4.6	4.07	3.80	4.00	3.73
C3	14	4.0	0.4	6.2	3.80	4.00	4.20	4.00
C4	15	10.0	0.05	6.2	4.20	3.80	3.73	3.47

Los modelos matemáticos para los parámetros sensoriales de color, olor, sabor y textura se indican en la tabla 3 con el nivel de significancia de ajuste al modelo y el coeficiente de regresión ajustado. De acuerdo con los resultados en los cuatro parámetros el modelo cuadrático fue el que presentó el mayor coeficiente de regresión al ajuste, siendo el parámetro de sabor el único que obtuvo significancia ( $p < 0.05$ ) ya que obtuvo un ajuste del 98.31% y un valor p de 0.033. Así mismo, las variables de concentración para el Complejo B, Inulina y Vitamina C obtuvieron un valor p de 0.000, 0.002 y 0.005 respectivamente de ajuste al modelo cuadrático. En la Figura 1, se muestra el gráfico de superficie de respuesta del modelo cuadrático con tendencia parabólica.

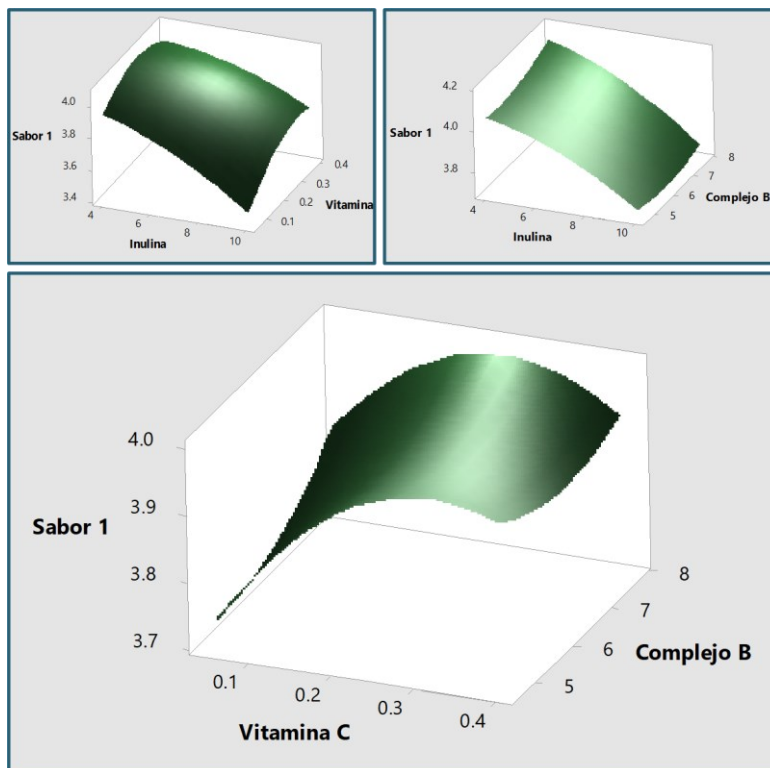
En la elaboración de las fórmulas de yogurt, los jueces indicaron que el sabor y olor del complejo B fue intenso y fue descrito como “olor medicinal” y por ello se prefirió los valores con menor cantidad del ingrediente, sin embargo, su concentración resulto significativo en el modelo. Para la Vitamina C, se presentó la misma tendencia ya que se identificaron las muestras como más ácidas cuando los valores eran cercanos a 0.4g, por tal motivo las fórmulas con mayor aceptación también fueron las que tenían menor cantidad de vitamina C.

**Tabla 3.** Modelos de ajuste para los parámetros sensoriales

Parámetro	Modelo con mayor ajuste	Valor P	Coefficiente R <sup>2</sup>	Ecuación
Color	Cuadrático	0.098	85.81%	Color = 7.56 - 0.192B - 1.11C - 1.024A + 0.01389B <sup>2</sup> + 2.45C <sup>2</sup> + 0.0814A <sup>2</sup> - 0.127BC + 0.0069 AB + 0.060 AC
Sabor	Cuadrático	0.033	98.31%	Sabor = 4.064 + 0.0168 B + 1.97C - 0.095A - 0.00556B <sup>2</sup> - 3.27C <sup>2</sup> + 0.0130A <sup>2</sup> + 0.0952 BC - 0.00347 AB - 0.119 AC
Olor	Cuadrático	0.741	53.25%	Olor = 4.78 - 0.036B + 2.21C - 0.382A + 0.00463B <sup>2</sup> + 1.90C <sup>2</sup> + 0.0358A <sup>2</sup> - 0.127BC + 0.0000AB - 0.298AC
Textura	Cuadrático	0.310	74.42%	Textura = 5.90 - 0.203B - 3.54C - 0.290A + 0.00185 B <sup>2</sup> + 1.09C <sup>2</sup> + 0.0130A <sup>2</sup> + 0.286BC + 0.0174AB + 0.238AC

Donde: A-Complejo B, B-Inulina y C-Vitamina C

Una vez obtenido el modelo cuadrático se emplearon los conocimientos de cálculo diferencial para maximizar el valor de aceptabilidad lo más cercano a 5. Para ello, se determina que el valor máximo sensorial del sabor se encuentra en el punto en el cual simultáneamente la derivada parcial de la evaluación sensorial del sabor respecto a la concentración del complejo B, la derivada parcial de la evaluación sensorial del sabor respecto a la concentración de la vitamina C y la derivada parcial de la evaluación sensorial del sabor respecto a la concentración de inulina son iguales a cero (Mercado et al., 2011). Obtenidas las ecuaciones de las derivadas parciales se resuelven las incógnitas por el método algebraico y se determinan las concentraciones de los ingredientes inmunoprotectores que dan respuesta a una mayor aceptabilidad en el parámetro de sabor



**Figura 1.** Representación del modelo cuadrático del parámetro de sabor en la elaboración del yogurt

En la **Tabla 4**, se representan las cantidades de cada ingrediente, así como el valor teórico del modelo obtenido y el valor experimental. El valor experimental fue obtenido nuevamente por evaluación sensorial al elaborar la fórmula con las concentraciones encontradas en la optimización. El valor experimental estuvo por debajo del predictivo, sin embargo, por encima de los valores de aceptabilidad en la primera fase de evaluación sensorial.

De acuerdo con los descriptores en la segunda evaluación sensorial, los panelistas no indicaron la presencia a olor medicinal otorgado por el complejo B, sin embargo, mencionaron que se percibía ligeramente ácido el yogurt. En la declaración nutrimental, se identificó que el yogurt cumple con las características descritas en la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 en su actualización 2020 y bajo el cumplimiento de las especificaciones fisicoquímicas de la NOM-181-SCFI/SAGARPA-2018 (Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba). Así mismo, el yogurt se encuentra fortificado con las vitaminas, otorgando la ingesta recomendada por día (Figura 2). El producto solo tiene un sello de advertencia por el exceso de azúcares.

**Tabla 4.** Valor de optimización (Maximización) para las concentraciones de ingredientes.

Parámetro	Valor	
<b>Modelo cuadrático</b>	Sabor = 4.064 + 0.0168 B + 1.97C - 0.095A - 0.00556B <sup>2</sup> - 3.27C <sup>2</sup> + 0.0130A <sup>2</sup> + 0.0952 BC - 0.00347 AB - 0.119 AC	
<b>Valores de optimización de los ingredientes (Maximización)</b>	A-Complejo B	3.84mL
	B-Vitamina C	0.18g
	C-Inulina	5.55g
<b>Valor de aceptabilidad teórico</b>	4.87	
<b>Valor de aceptabilidad experimental</b>	4.65	

<b>Declaración nutrimental por 100g</b>	
<b>Contenido energético</b>	140 kcal ( 590 kJ)
Proteína	3 g
Grasas totales	2 g
<b>Grasas saturadas</b>	1 g
<b>Grasas trans</b>	0 mg
Grasa monoinsaturada	0 g
Grasa polinsaturada	0 g
Colesterol	0 mg
Hidratos de carbono disponibles	29 g
Azúcares	19 g
<b>Azúcares añadidos</b>	13 g
Fibra Dietética	1 g
<b>Sodio</b>	55 mg
Calcio	15 %
Vitamina C	107 %
Vitamina D	105 %
Vitamina B1 (Tiamina)	108 %
Vitamina B2 (Riboflavina)	108 %
Vitamina B6 (Piridoxina)	108 %
Vitamina B12 (Cobalamina)	108 %

**Figura 2.** Declaración nutrimental del yogurt formulado

## CONCLUSIÓN

Se incrementó la aceptabilidad sensorial de un producto de yogurt sabor a kiwi con ingredientes inmunoprotectores a partir de un modelo cuadrático de superficie de respuesta Box-behnken. Así mismo, las proporciones de los ingredientes de vitamina C, complejo B e Inulina permitieron cubrir los requerimientos de la ingesta diaria. En la declaración nutrimental, el producto solo tiene un sello

de advertencia por el exceso de azúcares. Es necesario realizar un monitoreo de los ingredientes inmunoprotectores durante el tiempo de vida útil del producto para proyectar una posible actividad nutrinmune avalado con estudios *in vivo* e *in vitro*.

### BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed S. Gouda, Fatima G. Adbelruhman, Hamedah Sabbah Alenezi, Bruno Mégarbane (2021). Theoretical benefits of yogurt-derived bioactive peptides and probiotics in COVID-19 patients – A narrative review and hypotheses, Saudi Journal of Biological Sciences, Volume 28, Issue 10, 2021, Pp. 5897-5905.
- AOAC (2003). Official methods of analysis of the Association of Official's Analytical Chemist, 17th Edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia USA.
- Armand, M., Hamosh, M., Philpott, J. R., Resnik, A. K., Rosenstein, B. J., Hamosh, A., Perman, J.A, Hamosh, P. (2004). Gastric function in children with cystic fibrosis: effect of diet on gastric lipase levels and fat digestion. *Pediatric Research*; 55(3):457-65.
- ASELAC (2014). Notas del curso de capacitación de Asesoría Láctea S.A de C.V. Taller de extendidos. Texcoco Edo. De México.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados- Información comercial y sanitaria.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010, Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba.
- Mohseni, H., Amini, S., Abiri, B., Kalantar, M., Kaydani, M., Barati, B., Pirabbasi, E., Bahrami, F., 2021. Are history of dietary intake and food habits of patients with clinical symptoms of COVID 19 different from healthy controls? A case-control study. *Clin. Nutr. ESPEN*. 42, 280-285.
- OMS. (201). Enfermedades no transmisibles. Disponible en: [www.who.int/mediacentre/factsheets/fs355/es/](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs355/es/)
- Scheffé, H. (1958). Experiment with mixtures. *Journal Royal Statistical Society*. 20:344
- Segura, C. M., Chel, G. L. y Betancur, A. D. (2010). Effect of Digestion on Bioavailability of peptides with biological activity. *Revista Chilena de Nutrition*. Vol. 37. No. 3. Pp. 386-391.



## **Elaboración de un dulce a base de leche deslactosada tipo cajeta y aditivos alimentarios**

K. I. Martínez-González<sup>1</sup>, F.R. Ramos-Vargas<sup>1</sup>, C.A. Campos-Álvarez<sup>1</sup>, R.L. Mendoza-Ramos<sup>1</sup> y E. Mares-Mares<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. Carr. Irapuato-Silao km 9. Ex-Hacienda El Copal. CP. 36000. Irapuato, Gto., México.

<sup>2</sup>Tecnológico Nacional de México, Campus Instituto Tecnológico Superior de Guanajuato. Carr. Guanajuato-Puentecillas km 10.5 Puentecillas. CP. 36262. Guanajuato, Gto., México

*ki.martinezgonzalez@ugto.mx*

### **RESUMEN**

La confitería funcional es una respuesta de la ciencia y tecnología de alimentos ante una sociedad cada vez más consciente de su salud que requiere productos libres y/o reducidos de azúcares, grasas y sodio. El objetivo de la presente investigación fue desarrollar una formulación de dulce tipo cajeta a partir de leche deslactosada y sin la adición de azúcares. Para ello, se realizaron tres formulaciones a partir de leche deslactosada y con sorbitol. Se tomaron en cuenta los lineamientos de la NOM-243-SSA1-2010 y NOM-051-SCFI/SSA1-2010 en el empleo de aditivos alimentarios y las especificaciones fisicoquímicas. Se realizó una evaluación sensorial de cada fórmula. Con la fórmula elegida, se realizó el cálculo de nutrientes para la declaración nutrimental. De acuerdo con los resultados, la fórmula con menor sorbitol resultó más conveniente ya que la exentaba de no tener leyendas de advertencia en la declaración nutrimental. Se observó el efecto significativo de la concentración del sorbitol sobre el sabor y el color. En conclusión, el desarrollo del dulce de leche tipo cajeta puede representar una alternativa funcional para personas que cuidan su salud. Resulta de interés que el empleo de aditivos es inminente cuando se requieren igualar las propiedades tecnofuncionales del azúcar.

**Palabras clave:** Dulce de leche, Aditivos Alimentarios, Sensorial, Leche deslactosada

### **ABSTRACT**

Functional confectionery is a response from food science and technology to an increasingly health-conscious society that requires products that are free and/or reduced in sugars, fats, and sodium. The objective of this research was to develop a cajeta-type sweet formulation from lactose-free milk and without the addition of sugars. For this, three formulations were made from lactose-free milk and with sorbitol. The guidelines of NOM-243-SSA1-2010 and NOM-051-SCFI/SSA1-2010 in the use of food additives and physicochemical specifications are considered. A sensory evaluation of each formula was performed. With the chosen formula, the calculation of nutrients for the nutritional declaration was made. According to the results, the formula with less sorbitol was more convenient since it exempted it from not having warning legends in the nutritional label. The significant effect of sorbitol concentration on flavor and color is observed. In conclusion, the development of cajeta-type dulce de leche can represent a functional alternative for people who take care of their health. It is of interest that the use of additives is imminent when it is required to match the techno-functional properties of sugar.

**Keywords:** Milk candy, Food additive, Sensorial, Lactose-milk Free

### INTRODUCCIÓN

Las enfermedades no transmisibles, como la diabetes, la hipertensión y aquellas que atacan al cerebro, al corazón y al estado nutricional son la primera causa de muerte entre los adultos y poco a poco, a causa del crecimiento en las cifras de obesidad infantil, están atacando a los niños (ENSANUT, 2016). Frente a ello, la industria, así como científicos innovadores están en busca de modificar los alimentos por una alternativa más saludable, incluso en los dulces, cuyo ingrediente principal suele ser el azúcar (Walstra et al., 1999).

La llamada confitería funcional es una respuesta de la ciencia, específicamente, la tecnología en alimentos ante una sociedad cada vez más consciente de su salud, que está pendiente de los carbohidratos, grasas y proteínas que incluye su comida (Withney y Rolfes, 2018). Por ello, ya sea al cambiar el azúcar por un edulcorante no calórico o incluir nutrientes como vitaminas, minerales o fibra, los productores están modificando las golosinas por unas más saludables (Fennema, 2008). A pesar del alto consumo de los lácteos, un sector de la población presenta síntomas digestivos indeseables, posteriores al consumo de lactosa, azúcar principal presente en este grupo de alimentos. Esta patología, es conocida como intolerancia a la lactosa, la cual afecta entre el 70 al 80% de la población mundial (Dainese et al., 2014).

Entre las alternativas que existen industrialmente para evitar los efectos padecidos en la población intolerante a la lactosa se encuentran, por un lado desde el sector de alimentos, la eliminación parcial o total de la lactosa, en algunos derivados lácteos, como productos fermentados y los producidos mediante desuerado (quesos y mantequilla, por ejemplo), en los que la extracción de la lactosa se obtiene como una característica natural del proceso de elaboración del producto (Domínguez-Jiménez y Fernández-Suárez, 2014).

Con el fin de superar el rechazo de los consumidores por los productos libres de lactosa y azúcar, y ofertar nuevas alternativas con similitudes a los alimentos convencionales, es necesario que la industria de alimentos desarrolle nuevas alternativas tecnológicas e incorpore nuevos ingredientes que permitan disminuir o eliminar las molestias producidas por dichos padecimientos (Casp y April, 2013). El objetivo de la presente investigación fue desarrollar una formulación de dulce tipo cajeta a partir de leche deslactosada y sin la adición de azúcares.

### MATERIALES Y MÉTODOS

**1. Formulación.** Se realizaron 3 fórmulas de dulce tipo cajeta partiendo de leche deslactosada comercial y diferentes proporciones de manera incremental de Sorbitol como sustituto de azúcar (Datos no mostrados). Se utilizó Goma Xantana (espesante), Esencia de cajeta (saborizante), Bicarbonato de sodio (agente neutralizante) y Sorbato de potasio (conservador) a una concentración constante entre las distintas fórmulas. Para el uso de los aditivos empleados en la presente investigación, se consideraron los lineamientos de la legislación nacional vigente de acuerdo con el Anexo 1 (Aditivos con diversas clases funcionales y con una IDA establecida) del Diario Oficial de la Federación para el uso de aditivos (<https://www.gob.mx/cofepris/documentos/anexo-i?state=draft>).

Para la elaboración del producto tipo cajeta se tomaron como base y referencia los lineamientos y especificaciones de la NOM-243-SSA1-2010 (Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba) y el proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-185-SSA1-2000 (Bienes y servicios. Mantequilla, cremas, leche condensada azucarada, leches fermentadas y acidificadas, dulces a base de leche. Especificaciones sanitarias). Así mismo, durante su elaboración se siguieron las buenas prácticas de manufactura descritas en NOM-251-SSA1-2009 (Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios).

**2. Evaluación sensorial.** Para conocer cómo afecta la sustitución del edulcorante y el empleo de leche deslactosada se realizó una evaluación sensorial, misma que determino si el producto cumplía con las exigencias por parte de los consumidores y sobre todo si cumplía con la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 para poder competir organolépticamente contra productos similares en el mercado. En esta evaluación se planteó un diseño de bloques completamente al azar y se realizó un análisis de varianza (ANOVA) sobre las variables correspondientes a aroma, sabor, color y textura. Para dicha evaluación se solicitó un panel jueces no entrenado y se les pidió que degustaran 3 fórmulaciones distintas del dulce a base de leche deslactosada tipo cajeta y una fórmula de una cajeta comercial (Cajeta Coronado quemada); así mismo se les pidió que designaran un número en base a la siguiente escala hedónica de 9 puntos. Donde los valores corresponden a los diferentes niveles de aceptabilidad: 9-Me gusta muchísimo, 8-Me gusta mucho, 7-Me gusta moderadamente, 6-Me gusta poco, 5-No me gusta ni me disgusta, 4-Me disgusta poco, 3-Me disgusta moderadamente, 2-Me disgusta mucho y 1-Me disgusta muchísimo.

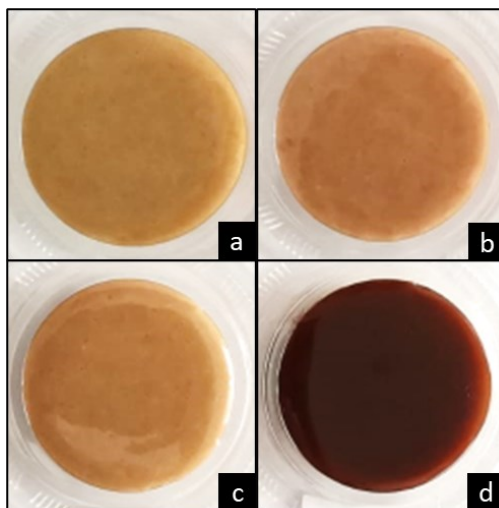
**3. Declaración nutrimental.** De acuerdo con la formulación resultante, los resultados se presentaron de acuerdo con la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 (Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados- Información comercial y sanitaria) en su actualización del 2020 para el etiquetado frontal y reverso, utilizando información teórica de alimentos (Cruz, 2017).

**4. Análisis Estadístico.** Todos los datos de la evaluación sensorial en cada atributo se reportaron como la media  $\pm$  desviación. Para conocer la diferencia en la variación del efecto de los tratamientos se realizaron un ANDEVA con un 95% de confiabilidad y se realizó una prueba de contraste medias utilizando la prueba de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ). Se utilizó el paquete estadístico STATGRAPHICS Centurión XVI.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación de la calidad sensorial del dulce a base de leche deslactosada tipo cajeta se vio favorable en algunos aspectos como el aroma y textura, sin embargo, no se observó la aceptabilidad deseada en cuanto al sabor y color, esto fue resultado de la sustitución de edulcorantes debido que no potencializan el sabor ni ocasiona una reacción de Maillard como el azúcar convencional (Figura 1). Particularmente se observó que entre mayor porcentaje de edulcorante mayor era la preferencia, sin embargo, no se vio conveniente aumentar su cantidad puesto que la modificación a la Norma Oficial

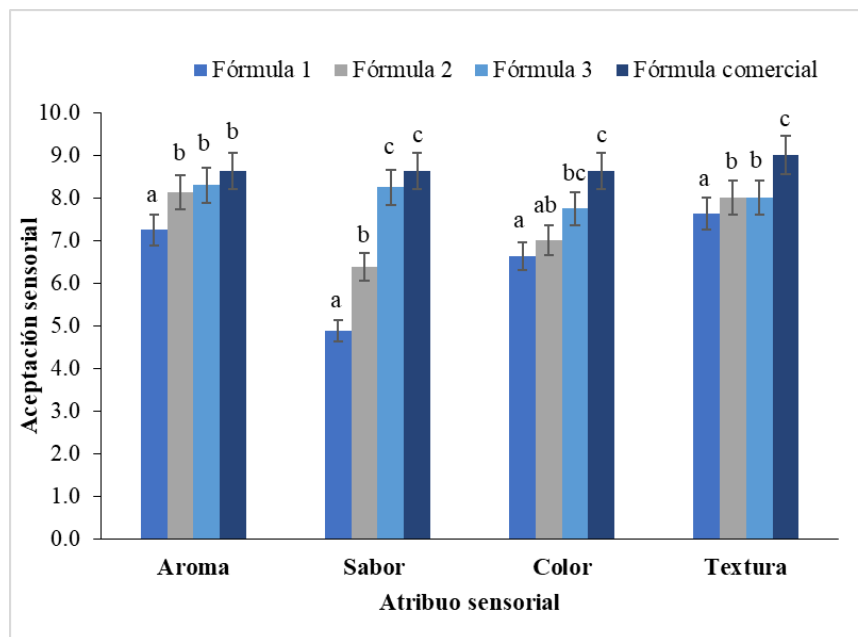
Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010 establece que el total de energía libre proveniente de azúcares debe ser menor al 10%, por tal motivo se eligió la fórmula 1.



**Figura 1.** Apariencia de las fórmulas desarrolladas de dulce de leche tipo cajeta. Donde a) Fórmula 1, b) Fórmula 2, c) Fórmula 3 y d) Fórmula comercial (Control)

Así mismo se destaca que el dulce a base de leche deslactosada tipo cajeta si puede competir contra una cajeta comercial en cuanto a su aroma y sabor ya que ambas medias están entre 8 y 8.6, por otro lado, la textura y color presentan medias menores a las obtenidas en la cajeta comercial por lo que es importante enfocarse en dichos aspectos para mejorar el producto y poder competir en el mercado.

De acuerdo con los resultados del análisis estadístico (Figura 2), para el aroma, la fórmula 1 presentó en menor nivel de aceptabilidad, mostrando así, diferencia estadística significativa con respecto a las fórmulas 2, 3 y la comercial (Tukey test  $p < 0.05$ ). El atributo de sabor también se vio afectado por el incremento de sorbitol ya que a mayor concentración aumento la aceptación (Tukey test  $p < 0.05$ ), para este atributo, la fórmula 3 no mostró diferencia significativa con respecto a la fórmula comercial, lo que resulta de interés por haber igualado la aceptación del sabor de la cajeta coronado. Para el caso del color, también se identificaron variaciones con respecto a la formula comercial (Tukey test  $p < 0.05$ ) ya que no presentan la adición de un colorante y no existe caramelización de azúcares como en los productos de denominación. Por último, para el atributo de textura se observó que las tres formulas resultaron diferentes en aceptabilidad con respecto a la comercial al presentar diferencia significativa (Tukey test  $p < 0.05$ ), sin embargo, la fórmula 2 y 3 resultaron igual sin importar que ambas poseen diferentes concentraciones de sorbitol.



**Figura 2. Aceptabilidad de los atributos sensoriales.**

Las diferentes literales indican diferencia significativa del atributo sensorial entre las distintas fórmulas (Tukey test  $p < 0.05$ )

Los alimentos que consumimos nos aportan todos los nutrientes esenciales que nuestro cuerpo necesita para funcionar (Cruz, 2017). De acuerdo con la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 un producto debe especificar la relación o enumeración del contenido de nutrimentos de un alimento, salvo cuando se trate de alimentos de un único ingrediente y no incluya algún aditivo. La NOM-051-SCFI/SSA1-2010 también menciona que la declaración de propiedades nutrimentales está en relación con su valor energético, en consideración a ello y a la tabla de composición química del Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes. Así mismo se establece que la presentación de la declaración nutrimental debe hacerse en las unidades que correspondan al Sistema General por lo que el contenido energético debe expresarse en kcal (kJ) por 100 g, o por 100 ml, así como por el contenido total del envase (FAO, 2020) (Tabla 1).

El sistema de etiquetado frontal incluye la información nutrimental complementaria y las leyendas precautorias, así como los sellos, según corresponda a los ingredientes añadidos, sin embargo, de acuerdo con la composición del alimento, este no rebasa los límites establecidos para calorías, grasas saturadas, grasas trans y sodio, por lo que no lleva octágonos ni leyendas precautorias y además podría considerarse un producto reducido en azúcar de acuerdo con la fase 1 de la NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Para este producto, se debe incluir la leyenda precautoria de los edulcorantes por la adición del sorbitol y su contribución calórica (2.4 kcal/g) se considera dentro del total de energía declarada en la tabla.

**Tabla 1.** Declaración nutrimental y leyendas de advertencia del dulce de leche

<b>Declaración nutrimental por 100g</b>	
<b>Contenido energético</b>	210kcal ( 870 kJ)
Proteína	6 g
Grasas totales	0 g
<b>Grasas saturadas</b>	0 g
<b>Grasas trans</b>	0 mg
Grasa monoinsaturada	0 g
Grasa poliinsaturada	0 g
Colesterol	0 mg
Hidratos de carbono disponibles	6 g
Azúcares	6 g
<b>Azúcares añadidos</b>	0 g
Fibra Dietética	Menos de 1 g
<b>Sodio</b>	55 mg

**CONTIENE EDULCORANTES,  
NO RECOMENDABLE EN NIÑOS**

## CONCLUSIÓN

Se desarrolló una formulación de dulce de leche tipo cajeta a partir de leche deslactosada y el empleo de aditivos alimentarios. Se determinó que el incremento de sorbitol aumentaba la aceptación para los parámetros de sabor y color, sin embargo, a fin de mantener un producto con el mínimo de leyendas de advertencia se eligió la fórmula con menor concentración de sorbitol. Este trabajo de investigación permitió constatar que en el desarrollo de alternativas funcionales con beneficios a la salud se ve limitada por el estricto apego a la normatividad de la legislación nacional e internacional vigente en el uso de aditivos. Se logró desarrollar un producto análogo a la cajeta.

## BIBLIOGRAFÍA

- Casp, A. y April, J. (2013). *Procesos de Conservación de Alimentos*. Madrid: Ediciones Mundi Prensa.
- Cruz D. (2017). *Tabla Nutrimental*. Obtenido de <http://www.sedecotlaxcala.gob.mx/index.php/tramites-y-servicios/comercio-y-servicios/tabla-nutrimental>
- Dainese R., Casellas F., Mariné-Barjoan E., (2014). Perception of lactose intolerance in irritable bowel syndrome patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol*; 26: 1167-1175
- Encuesta Nacional de Salud Pública 2016. Disponible en [http://ensanut.insp.mx/doctos/ENSANUT2016\\_PresentacionOficialCorta\\_09Nov2016.pdf](http://ensanut.insp.mx/doctos/ENSANUT2016_PresentacionOficialCorta_09Nov2016.pdf)
- FAO. (2020). *Etiquetado de alimentos*. Obtenido de <https://www.fao.org/food-labelling/es/>
- Fennema O. (2008). *Química de los Alimentos*. Zaragoza, España. 4 ed. pp. 1025 – 1051.
- MODIFICACIÓN a la Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados- Información comercial y sanitaria, publicada el 5 de abril de 2010. *Diario Oficial de la Federación* con fecha 27 de marzo de 2020.
- PROYECTO de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-185-SSA1-2000, Bienes y servicios. Mantequilla, cremas, leche condensada azucarada, leches fermentadas y acidificadas, dulces a base de leche. Especificaciones sanitarias. *Diario Oficial de la Federación* con fecha 19 de mayo de 2000.

- Walstra P., Geurts T. J. Noomen A. (1999) Dairy Technology. Principles of Milk Properties and processes. Marcel Dekker, New York, NY; 189–209.
- Withney, E. and Rolfes S. R., (2018). Understating nutrition, 11th edn. Thomas Wadsworth, Belmont.

## Evaluación sensorial de salsa de xoconostle, un producto endémico del Noreste de Guanajuato

C. Flores Pérez<sup>1</sup>, D.L. Hernández Méndez<sup>1</sup>, G. del C. Martínez Salgado<sup>2</sup>, V.C. Padrón Vázquez<sup>1</sup>, M.E. Sosa Morales<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro Interdisciplinario del Noreste de la Universidad de Guanajuato (CINUG) C.P. 37975. Cieneguilla, Tierra Blanca, Gto., México. [\\*c.floresperez@ugto.mx](mailto:c.floresperez@ugto.mx)

<sup>2</sup> Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida (DICIVA), Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, C.P. 36500. Ex-Hacienda el Copal, Irapuato, Gto., México.

### RESUMEN

En este trabajo se desarrolló una salsa con xoconostle, un fruto de alta importancia económica y cultural en la zona del Noreste de Guanajuato. A través de una encuesta en línea, se identificó que el mercado de salsas está creciendo, y que los consumidores actuales buscan productos más naturales y de buena calidad. Se elaboraron tres formulaciones que incluyeron xoconostle, cebolla, chile cascabel, chile de árbol, cilantro, ajo y sal. Las salsas fueron evaluadas con una prueba afectiva de 9 puntos en cuanto a nivel de picor por un panel de 25 jueces no entrenados. No se encontró diferencia entre las formulaciones ( $p > 0.05$ ). En una prueba de ranking, los jueces distinguieron la salsa con más cantidad de chile, siendo la más picante.

**Palabras clave:** Salsa, xoconostle, análisis sensorial

### ABSTRACT

In this work, a sauce will be developed with xoconostle, a fruit of high economic and cultural importance in the Northeast area of Guanajuato. A on-line survey was carried out, the market for salsas was identified as growing and consumers are searching for more natural products with good quality. Three formulations were made that included xoconostle, onion, bell pepper, tree pepper, coriander, garlic and salt. The sauces were evaluated about the spicy sensation by a panel of 25 non-trained judges using a hedonic scale of 9 points. No difference was found between the formulations ( $p > 0.05$ ). In a ranking test, judges were able to detect the sauce with highest amount of chili.

**Keywords:** Sauces, xoconostle, sensory evaluation.



## INTRODUCCIÓN

Xoconostle es un vocablo proveniente del Náhuatl *Xocotl* que significa Fruto verde o inmaduro y *Nochtli*, que se traduce como cactus (García Samano *et al.*, 2009). Dentro de las riquezas naturales del país, y más particularmente en la región que comprende a Guanajuato, se encuentra el xoconostle (*Opuntia matuda*) o bien, *Opuntia xoconostle*, mejor conocido como tuna agria. Esta variedad de tuna reviste importancia desde diversos puntos de vista, además del cultural, pues el xoconostle ha sido un importante factor de sustento económico del campesino mexicano quien los utiliza en su alimentación y como medicina alternativa y desde el punto de vista ecológico por su resistencia a la sequía debido a su enorme adaptación a los cambios climáticos y su contribución a la formación del suelo. Dadas las características fisiológicas que posee esta planta en cuanto a su facilidad de reproducción, a la adaptación a la acidez del suelo y a la gran diversidad de especies de la región así como al bajo manejo agronómico que requiere, le aportan cualidades que la hacen ser una excelente alternativa para enfrentar algunos problemas que tienen zonas del Este de Guanajuato, como son la erosión del suelo, un deficiente aprovechamiento en zonas con serranía, la escasez de agua, las bajas oportunidades de empleo y de desarrollo en algunas comunidades (García Samano *et al.*, 2009).

Las salsas mexicanas son el resultado de la combinación de recursos autóctonos con otros de origen extranjero. Por ejemplo, el tomate y el jitomate son la base para las salsas verdes y rojas, respectivamente, a las que se integran cebolla, ajo, cilantro, y se complementan con chiles y sal. Entre las salsas crudas más comunes se encuentran la verde, la mexicana y la cebollera con chile habanero; en tanto, entre las cocidas destacan la verde martajada de chile piquín, la ranchera, de chipotle, la endiablada en chile pasilla (Moreno Rojas, 2013).

La Norma Mexicana (NMX-F-377-1986) establece que la salsa picante envasada es “el producto resultante de la mezcla y/o molienda y suspensión de una o más variedades de chiles frescos, secos o conservados, sanos, limpios, adicionados o no de acidulantes, espesantes, especias e ingredientes permitidos por la Secretaría de Salud, que le proporcionen el sabor característico”.

El objetivo del presente trabajo fue elaborar una salsa que contenga xoconostle, el cual es apreciado por su sabor característico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Análisis de mercado

Se realizó una encuesta en línea con la herramienta de Formularios Google, con las siguientes preguntas.

¿En qué rango se encuentra su edad?

- a) 16-25 años
- b) 25-35 años
- c) 35-45 años

¿Con qué género se identifica?

- a) Femenino
- b) Masculino
- c) Prefiero no contestar

¿Consume salsa con regularidad?

## Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

- a) Si
  - b) No
- ¿Con qué frecuencia consume salsa?
- a) 3 veces al día
  - b) 1 vez al día
  - c) 3 veces por semana
  - d) No consumo
- ¿Qué es lo más importante para ti en una salsa?
- a) Color
  - b) Sabor
  - c) Consistencia
- ¿Prefiere comprar salsa o elaborarla en casa?
- a) Comprar
  - b) Elaborar
- ¿Prefiere que la salsa sea picosa o que no pique?
- a) Que pique
  - b) Que no pique
- ¿Estarías interesado en probar nuevos sabores de salsas?
- a) Si
  - b) No
- ¿Conoces el Xoconostle?
- a) Si
  - b) No
- ¿Te gustaría probar una salsa de Xoconostle?
- a) Si
  - b) No
- ¿Cuánto estaría dispuesto a pagar por una salsa de Xoconostle de 250 g?
- a) \$25
  - b) \$50
  - c) \$70

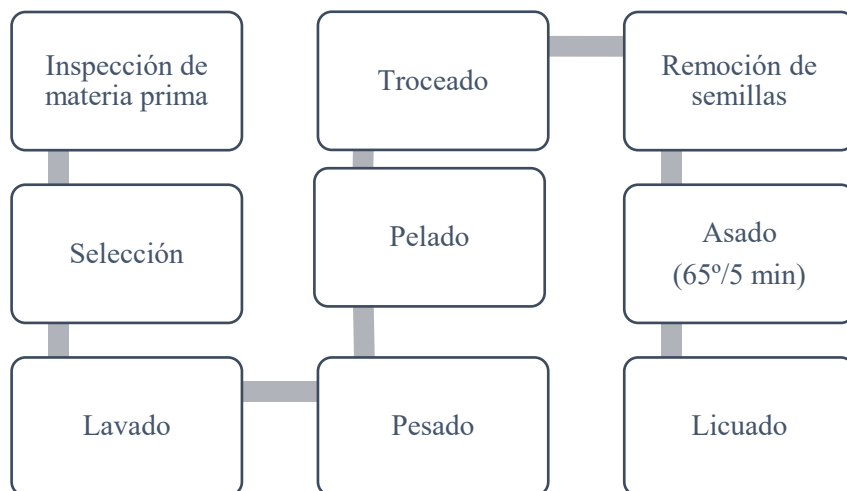
### Formulaciones

Para la elaboración de la salsa se utilizó xoconostle, cebolla, chile cascabel, chile de árbol, cilantro, ajo y sal. Se realizaron tres formulaciones las cuales se dieron a probar a los jueces las cuales se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Formulaciones de salsas de xoconostle.

Ingrediente	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3
	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)
Xoconostles con cáscara	166.3	166.3	166.3
Cebolla	30	30	30
Chile cascabel	14.8	14.8	14.8
Cilantro	18	18	18
Ajo	2.5	2.5	2.5
Sal	15	15	15
Agua	300	300	300
Chile de árbol	10	5	3

Los ingredientes frescos se lavaron y pesaron. Se retiraron las semillas del xoconostle y en conjunto con la cebolla, ajo y los chiles fueron asados a una temperatura de 65°C por 5 min volteando constantemente para evitar el quemado. Una vez asados los ingredientes, se licuaron con el cilantro, sal y 300 ml de agua. Se registró el peso obtenido de salsa. E proceso de elaboración se muestra en la Figura 1.



**Figura 1.** Diagrama de flujo del proceso de elaboración de salsa de xoconostle

### Prueba sensorial

Se utilizaron boletas de evaluación sensorial (prueba de ordenación y prueba de nivel de agrado de escala estructurada), lapiceros, vasos, platos, cucharas, agua y las muestras.

Se recibieron a los jueces no entrenados en un lugar amplio y con luz adecuada, para ello cada uno en sus lugares tenían un vaso con agua y se repartieron las pruebas que anteriormente fueron servidas de cuerdo a códigos. Una vez teniendo todas las muestras se dieron instrucciones para el llenado de las boletas, primero se enfocaron en la prueba de ordenación ya que los sensores están limpios y se tenía que ordenar las muestras de menor a mayor intensidad de picante y en la restante solo se indicaría el gusto por las 3 muestras, esto enjuagando la boca con un poco de agua en cada prueba. Para finalizar, las boletas y los materiales utilizados fueron recogidos y se le entregó un dulce en agradecimiento. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias usando el software Statgraphics.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La encuesta fue respondida por 110 personas, en su mayoría de 16 a 25 años (74%) y mujeres (75%). El 89.1% de las personas encuestadas consume salsas regularmente, el 46.4% una vez al día y 25.5% tres veces por semana. El 95% de los encuestados elige la salsa por su sabor, más que por su color o consistencia. Hay un área de oportunidad en el mercado, ya que el 82.9% de los encuestados prefiere

elaborar sus salsas. El 76.4% de los encuestados prefiere las salsas que piquen el 98.2% está interesado en probar nuevos sabores.

Afortunadamente, el 71.2% de los encuestados conoce el xoconostle, y 96.6% están interesados en una salsa que lo contenga. El precio que estarían dispuestos a pagar por una salsa de 250 g es de \$25 (53.1% de los encuestados) o \$50 (41.6% de los encuestados).

El peso de salsa obtenido por formulación fue de 460 a 465 g. Los resultados de la prueba sensorial se muestran en la Tabla 2. Como puede apreciarse, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre las muestras, por lo que las tres formulaciones podrían tener potencial de comercializarse.

**Tabla 2.** Evaluación del picor de salsas con xoconostle mediante una prueba afectiva con escala hedónica de 9 puntos.

Formulación	Calificación
1	7.60 ± 0.26 <sup>a</sup>
2	7.61 ± 0.26 <sup>a</sup>
3	7.58 ± 0.27 <sup>a</sup>

Medias con la misma letra indican que no hay diferencia estadísticamente significativa entre las muestras ( $p > 0.05$ ).

En cuanto a la prueba de ranking, tomando los datos de Larmond (1982), la muestra que se sale de rango fue la formulación 1, con mayor cantidad de chile. Los jueces identificaron la salsa con mayor contenido de picante.

Para el envasado de la salsa, se ha planeado incluir un agente conservador, que puede ser benzoato de sodio por su bajo costo. La dosis máxima permitida de benzoato de sodio en alimentos es del 0.1% y tiene un funcionamiento efectivo a un pH ácido ( $\leq 3.5$ ).

## CONCLUSIÓN

De acuerdo con la encuesta en línea, hay un mercado potencial interesado en nuevos sabores y la salsa de xoconostle podría ser una opción. En términos de aceptabilidad, las tres formulaciones fueron aceptables ya que no hubo diferencia significativa entre ellas. Los jueces fueron capaces de detectar la salsa con mayor contenido de chile. Las salsas desarrolladas son una opción para integrar el xoconostle, un producto endémico de Guanajuato con sabor característico.

## BIBLIOGRAFÍA

- García Samano, R., I. González-Ramos, J. M. Ortega-Figueroa, S. Mendoza-González, A. R. Martínez-Peniche (2009). Características del xoconostle: alimento con gran potencial. Revista Vinculando. [https://vinculando.org/mercado/xoconostle\\_un\\_alimento\\_con\\_gran\\_potencial.html](https://vinculando.org/mercado/xoconostle_un_alimento_con_gran_potencial.html)
- Larmond, E. (1982). Laboratory methods for sensory evaluation of supply and services (Publication 1637). Ottawa, Canada: Department of Agriculture of Canada.
- Moreno Rojas, K. 2013. Chiles y salsas en México. Un sabor a identidad. Reportajes. Instituto Nacional de Antropología e Historia. Consultado el 02 de enero de 2020. Disponible en: <https://www.inah.gob.mx/reportajes/597-chiles-y-salsas-en-mexico-un-sabor-a-identidad>
- NMX-F-377-1986. Alimentos Regionales. Salsa Picante envasada. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. Gobierno de México.

## Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de Nuggets de conejo usando harina de *Okara* de garbanzo

D. Carbajal-Padilla\*, L.P. Escobar-Escobar, G. Fernández-Villanueva, D.A. Ochoa-Montes, M.E. Sosa-Morales. y J.A. Gómez-Salazar

División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Departamento de Alimentos, Posgrado en Biociencias, Ex Hacienda El Copal k.m. 9; carretera Irapuato-Silao; A.P. 311; C.P. 36500, Irapuato, Guanajuato, México.

[d.carbajalpadilla@ugto.mx](mailto:d.carbajalpadilla@ugto.mx), [julian.gomez@ugto.mx](mailto:julian.gomez@ugto.mx)

### RESUMEN

La carne de conejo destaca por sus potenciales características nutritivas, para una sociedad que demanda carnes con menos grasa y más proteicas. La *Okara* es un subproducto de la producción de bebidas vegetales de gran calidad nutricional y tecnológica que puede ser utilizada para elaborar gran diversidad de productos alimenticios. El objetivo del presente trabajo fue elaborar un nugget con carne de conejo y *Okara* de garbanzo seca (OGS) para evaluar sus atributos fisicoquímicos y su aceptación sensorial. La metodología se basó en formulaciones con distintos porcentajes de carne de conejo y de OGS en Nuggets precocidos y tostados, a estos se les determinó color, pH, textura y se realizó un análisis sensorial donde se comparó con un producto comercial. Los resultados obtenidos para color y textura en cada formulación no presentaron efectos significativos ( $P < 0.05$ ). En el análisis sensorial se encontró que la muestra no tiene diferencias significativas con la muestra comercial. Asimismo, la obtención de un nugget con carne de conejo y OGS puede mejorar la aceptación sensorial de este tipo de carne.

**Palabras clave:** Carne de conejo, subproducto, emulsión, producto cárnico, aceptación sensorial

### ABSTRACT

Rabbit meat stands out for its potential nutritional characteristics, for a society that demands less fatty and higher protein meats. *Okara* is a by-product of the production of vegetable beverages of high nutritional and technological quality that can be used to produce a wide variety of food products. The objective of the present work was to elaborate a nugget with rabbit meat and dried chickpea *Okara* (OGS) to evaluate its physicochemical attributes and sensory acceptability. The methodology was based on formulations with different percentages of rabbit meat and OGS in pre-cooked and toasted nuggets. Color, pH and texture were determined, and a sensory analysis was carried out to compare the samples with commercial products. The results of color and texture in each formulation did not show significant effects ( $P < 0.05$ ). The information for the sensorial evaluation among the panelists showed no significant effects. Likewise, obtaining a nugget with rabbit meat and OGS can improve the sensory acceptance of this type of meat.

**Key words:** Meat rabbit, by-product, emulsion, meat product, sensory evaluation

### INTRODUCCIÓN

El consumo de carne de conejo (*Oryctolagus cuniculus*) viene desde años atrás, su consumo se remonta a las antiguas civilizaciones que prosperaron en todo el Mediterráneo. Debido a su pequeño tamaño, los conejos se han incluido principalmente en las comidas tradicionales para consumo directo (Pettracci *et al.*, 2018); Además, la carne de conejo se clasifica como un tipo de carne blanca con una textura blanda y podría usarse como un buen sustituto de la carne de pollo (Abdel-Naeem *et al.*, 2021). Por otro lado, esta carne se considera una buena fuente de nutrientes y es saludable por su alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados, proteínas y aminoácidos esenciales, valores energéticos moderadamente altos, bajos niveles de grasas y colesterol, importante fuente de vitaminas del grupo B, bajo contenido de sodio, rico en fósforo y selenio (Szendro *et al.*, 2020). Por lo anterior, la carne de conejo destaca por sus potenciales características nutritivas para una sociedad que demanda carnes menos grasosas y más proteicas, dado que la carne de conejo es magra, con más proporción de proteínas que otras carnes (Falahudin *et al.*, 2020).

A pesar de todas las ventajas mencionadas anteriormente y siendo la carne de conejo una proteína de bajo costo y de gran facilidad de producción, hoy en día, la comercialización de productos procesados es escasa. Estos productos están ubicados principalmente en Asia, ya que este la mayor productora de como carne de hamburguesas, salchichas frescas, horneados rellenos y comida para bebés (Pettracci *et al.*, 2018).

En México la cunicultura es una actividad ganadera que se ha enfocado en la crianza de conejos a baja escala. A pesar de esto, es una actividad productiva rentable, siendo los estados de México, Puebla, Tlaxcala, Morelos, Michoacán, Querétaro e Hidalgo los que más destacan en su producción (SADER, 2017; Vélez-Izquierdo *et al.*, 2021). De acuerdo con los datos de la FAOSTAT, en el año 2000 en México, se produjeron 4,160 toneladas de carne de conejo, mientras que en el 2018 la producción fue de 4,483, obteniendo una tasa media de crecimiento anual (TMCA) muy baja (0.004%). En el 2020, el consumo per cápita de carne de conejo en el país fue de 200 g. Actualmente, no existe una tendencia definida para dar respuesta al bajo consumo de carne de conejo en el país. A pesar de esto, factores como el origen del conejo, la alimentación, el método de matanza, el nivel de procesamiento de la carne, la frescura, la textura, son los que más influyen en su consumo a nivel mundial (Szendró *et al.*, 2020).

Por otro lado, la industria cárnica busca el desarrollo de productos cárnicos con adición de vegetales o los subproductos obtenidos en su procesamiento. La producción de las leches vegetales se basa en la extracción de fracciones vegetales de granos como legumbres, semillas, nueces, cereales y pseudo cereales en un medio acuoso. Este proceso requiere una filtración posterior de fracciones insolubles. En legumbres, es particular, esta fracción sólida o torta de filtración, es conocida como *Okara* (Lian *et al.*, 2020). La *Okara* es un subproducto de la producción de bebidas vegetales que contiene gran cantidad de proteínas y fibra. Sin embargo, el aprovechamiento de este subproducto se encuentra reducido, siendo un producto destinado para la alimentación de animales y en ocasiones, para desecharse (Falahudin *et al.*, 2020). No obstante, diversas investigaciones han aprovechado este subproducto para convertirlo en harina y ser utilizado como un reemplazo de la harina de trigo para elaborar gran diversidad de productos de alimenticios.

Los nuggets constituyen uno de los productos cárnicos procesados más aceptados en México debido a su agradable palatabilidad. Estos son elaborados con una masa a base de carne, condimentos, harina, almidón, grasa y aditivos, que después es porcionada, prefrita y congelada (Jiménez-Jerónimo *et al.*, 2019). En este sentido, el desarrollo de productos de la industria cárnica tiene sus metas direccionadas en la producción y desarrollo de cárnicos con bajo contenido de grasa, altos en minerales, vitaminas, antioxidantes o en fibra dietética (Zinina *et al.*, 2019).

Por lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo elaborar un nugget con carne de conejo y harina de subproductos de garbanzo, para aprovechar las características nutritivas de cada uno, y de esta forma, contribuir en

el incremento del interés público en el consumo de carnes más saludables, y en el aprovechamiento de subproductos vegetales de alto valor nutricional.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Formulación de Nuggets (formulaciones ingredientes y freído)

Se uso carne de conejo de raza California, obtenida del centro de cunicultura en la ciudad de Irapuato, Guanajuato, México. Los conejos se adquirieron 24 horas después de sacrificio, estos fueron deshuesados y congelados para su posterior uso. La *Okara* de garbanzo se obtuvo del laboratorio de propiedades Físicas de la Universidad de Guanajuato, la cual fue previamente secada durante 8 horas a 60 °C para obtener la OGS. También se usó, harina de trigo, cebolla, ajo en polvo, polifosfatos, sal de mesa (NaCl), huevo y pan molido como empanizador, estos ingredientes fueron adquiridos en un local comercial de la ciudad de Irapuato, Guanajuato, México.

### 2. Formulaciones y Elaboración de los Nuggets

La elaboración de los Nuggets se basó en la preparación de diversas emulsiones (Tabla 1). Cada una de ellas fueron pesadas hasta obtener 400 g de cada formulación. Para esto, los ingredientes seleccionados se basaron en las formulaciones de Sabikun *et al.*, (2021), considerando variaciones en los porcentajes de *Okara* de garbanzo seca (0, 4, 6, 8 y 10%) y en el contenido de carne de conejo (72, 74, 76, 78 y 80 %). Posterior al pesado todos los ingredientes se mezcladas en un procesador de alimentos (Breville Sous Chef 16 Peel & Dice). El mezclado se realizó primero por 1 minuto con una cuchilla de acero inoxidable para lograr cortar la carne, y posteriormente por 1 minuto con una cuchilla plástica para la obtención de una mezcla uniforme. La emulsión obtenida fue retirada del procesador y en seguida fue congelada en papel filme para formar un cilindro. Luego las muestras fueron cortadas para obtener piezas uniformes (de aproximadamente 1 cm de grosor) similares a los Nuggets. Después fueron empanizados y precocidos en aceite de girasol a 180 °C durante 30 segundos, seguido de un proceso de horneado por 15 minutos para obtener un tostado homogéneo (Echeverría *et al.*, 2022). Finalmente, los Nuggets obtenidos se dejaron enfriar y se congelaron para las pruebas posteriores.

Tabla 1. Formulaciones Planteadas.

Ingredientes	Contenido de OGS				
	0%	8%	10%	6%	4%
Carne (% p/p)	82	74	72	76	78
Harina de garbanzo (% p/p)	0	8	10	6	4
Huevo (% p/p)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Harina de trigo (% p/p)	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Cebolla en polvo (% p/p)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Ajo en polvo (% p/p)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sal NaCl (% p/p)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Pimienta (negra)	0	0	0	0	0
Hielo (% p/p)	12	12	12	12	12
Trifosfato de sodio (% p/p)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2

### 3. Propiedades fisicoquímicas

#### 3.1 Color

El color fue evaluado en la emulsión y en los nuggets después del tostado, para esto fueron partidos por la mitad para evaluar la influencia de la *Okara* añadida sobre las propiedades de color de la emulsión. Se empleó un colorímetro (Color Flex, Hunter Lab, Reston VA), utilizando los parámetros de Hunter  $L^*$   $a^*$   $b^*$ , donde,  $L^*$  es luminosidad y va en los rangos ( $L=0$  negro,  $L=100$  blanco),  $a^*$  es rojo- verde con valores ( $a^* = -500$  verde,  $a^* = 500$  rojo) y  $b^*$  es amarillo-azul con valores ( $b^* = 200$  amarillo,  $b^* = -200$  Azul) (Echeverría *et al.*, 2022).

#### 3.2 pH

Para la medición del pH de las formulaciones se siguió la metodología descrita por El-Anany & Elanany (2020) con algunas modificaciones. Se tomaron 5 g de muestra y se mezclaron con 50 ml de agua destilada por medio de una Batidora manual Taurus (Taurus Robot 300). Cuando la muestra estuvo homogenizada se insertó el electrodo del pH metro digital (Modelo pH120, Conductronic, Ciudad de México), previamente calibrado con soluciones a pH 7 y 4 y se tomaron las lecturas.

#### 3.3 Textura

Para medir la dureza se utilizó un Analizador de Textura (TAX-T2, Stable Micro System, Reino Unido). Se cortaron cubos de 1.5 x 1.5 x 1.5 cm, con una sonda plana de  $25\text{mm}^2$  de diámetro, a una velocidad de cruceta de 60 mm/s y una compresión de 60%. Se registro la fuerza requerida por el equipo para comprimir la muestra (Echeverría *et al.*, 2022).

### 4. Análisis sensorial

Se aplico una prueba de perfil para identificar si el Nuggets de conejo tenía diferentes características a un Nuggets comercial, para esto se seleccionaron 20 evaluadores ( $n = 20$ ), Las muestras se colocaron en platos de plástico codificados con números aleatorios de tres dígitos. Estas se entregaron a cada evaluador de forma aleatoria y se equilibrarán en una secuencia monódicas. los parámetros evaluados fueron textura, apariencia, color característico, sabor, textura, jugosidad, olor y percepción general. La escala numérica utilizada fue de 0 a 5, donde 0 = no presenta, 1 = Umbral o inicio de la identificación, 2 = débil, 3 = moderado, 4 = intenso, 5 = muy intenso. La evaluación sensorial se realizó a la formulación más estable físicamente.

### 5. Análisis estadístico

Se aplicó un diseño completamente aleatorizado y en seguida se realizó un análisis de varianza (ANOVA). Posteriormente se empleó una prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ) para determinar la significancia entre los pares de medias de los parámetros evaluados para cada formulación propuesta. El análisis estadístico de los datos fue realizado empleando el software estadístico Design-Expert versión 11.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Color

En la figura 1. Se presenta el efecto del contenido de garbanzo en los parámetros de L\* (luminosidad) y b\* (rojizo) para la emulsión obtenida de la mezcla de carne de conejo y okara de garbanzo y el nugget después del tostado. Se puede evidenciar que para la emulsión no existió diferencia significativa en ninguno de los parámetros (L\* a \*) (P-valor > 0.05). Sin embargo, se observa una diferencia significativa (P-valor > 0.05) en el Nuggets después del tostado para L\*, entre el control y las formulaciones con 4 % y 8 % de harina de garbanzo. Estas diferencias se pueden relacionar con la oxidación de mioglobina en el nugget con el proceso de tostado que puede generar pardeamiento (Youssef, & Barbut, 2009). En el parámetro b\* para muestras después del tostado (figura 1b) se evidenciar que existió diferencia significativa (P-valor > 0.05) en el tratamiento con 8 % de harina de Okara de garbanzo, este fue de cercano a 3, lo que nos indica que la emulsión cárnica a dicha concentración se encontraba más roja.

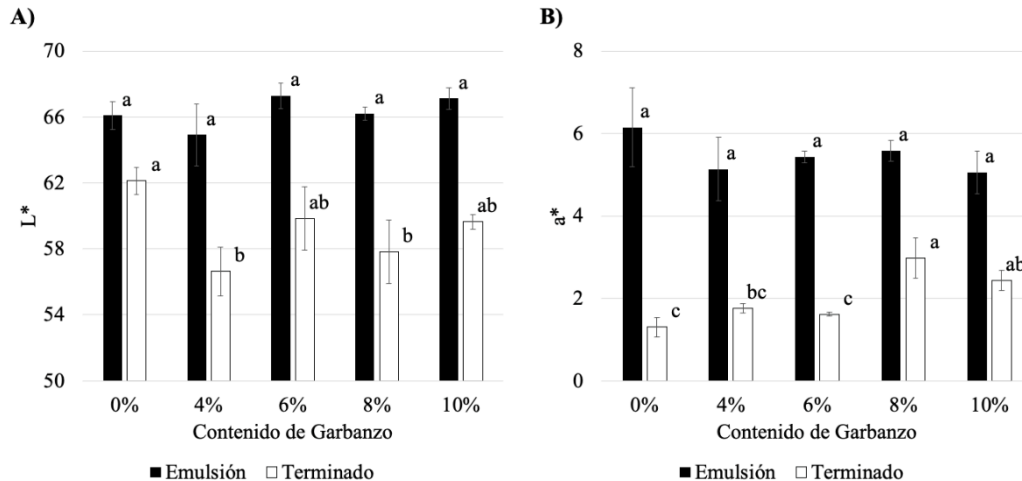


Figura 1. Efecto del contenido de Okara de garbanzo seca (OGS) sobre A) la luminosidad y sobre B) a\* (rojo) de la emulsión y el nugget precocido. Columna con la misma letra no presentan diferencia estadísticamente significativa con el método de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). La comparación solo se realizó entre los diferentes contenidos de OGS.

### 2. Textura

En la figura 2, se muestra el efecto que tuvo la Okara de garbanzo sobre la textura en Nuggett, se puede evidenciar que no existió diferencia significativa (P-Valor > 0.05), esto quiere decir que la cantidad de Okara no será perceptible al momento de la masticabilidad por parte del consumidor. Estos valores pueden estar dados por las redes formadas entre los hidrocoloides, las proteínas y el almidón (Oppong *et al.*, 2022). Los datos de dureza para todas las muestras se encontraron por encima de 80 N, esta dureza está relacionada con la desnaturalización de proteínas después del proceso de tostado que hace que la carne se vuelva más rígida (Kim *et al.*, 2015), y con la pérdida de agua en el horneado, ya este hace que se forme una costra en la parte superior.

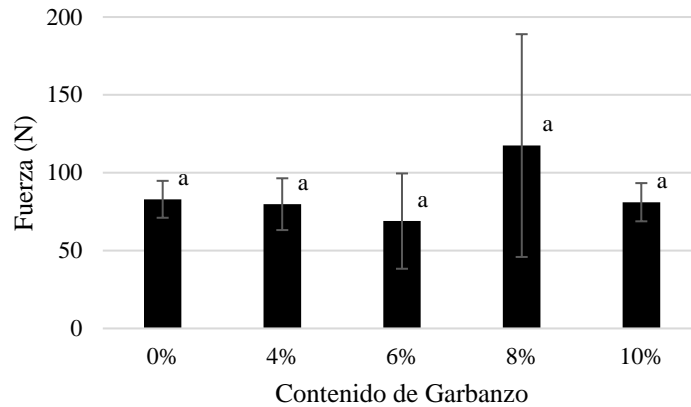


Figura 2. Efecto del contenido de Okara de garbanzo seca (OGS) sobre la firmeza de los 557uggets de conejo precocidos y tostados. Valores con la misma letra no presentan diferencia estadísticamente significativa con el método de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

### 3. Análisis sensorial

En la figura 5 se muestra el comportamiento de los parámetros sensoriales medidos en las muestras de Nuggets.

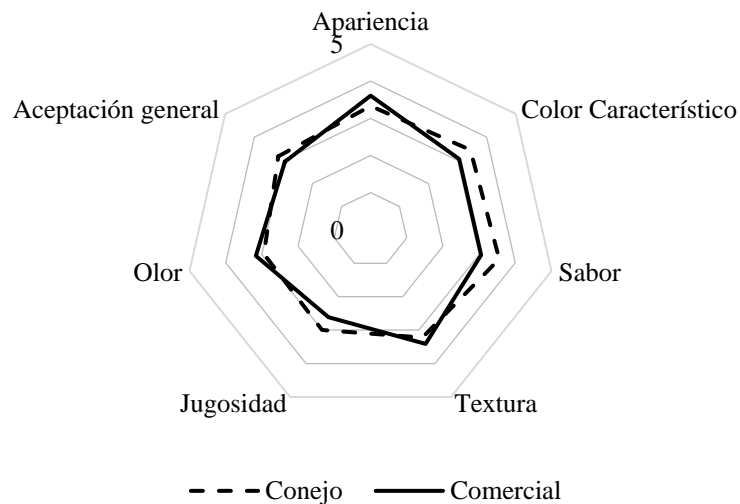


Figura 3. Evaluación sensorial de nuggets de carne de conejo con Okara de garbanzo seca y nuggets comerciales de pollo. Donde 0 = no presenta, 1 = umbral o inicio de la identificación, 2 = débil, 3 = moderado, 4 = intenso, 5 = muy intenso.

Se observa que no existió diferencia significativa entre las dos muestras, esto quiere decir que los consumidores aceptarían un nugget con carne de conejo y Okara de garbanzo. Atributos como el color, el sabor y la jugosidad del nugget con carne de conejo y OGS fueron mayormente aceptados por los panelistas. Estudios previos han demostrado que la adición de subproductos como la harina de Okara de soya y sobrantes de Tofu de alimentos procesados, pueden influir en la textura y en la aceptación general de cárnicos como nuggets y salchichas, así como en productos de panificación como donas (Falahudin *et al.*, 2020; Lian *et al.*, 2020). En el presente estudio, las

concentraciones añadidas a okara y el tipo de carne utilizado permiten aproximar la percepción sensorial de las muestras a las de un producto comercial.

### CONCLUSIONES

La adición de OGS en productos de carne de conejo no tuvo diferencias significativas sobre los atributos de color, textura y aceptación sensorial, lo cual indica que el producto elaborado en el presente trabajo podría asemejar a un nugget comercial en sus aspectos fisicoquímicos y ser sensorialmente aceptable por los consumidores.

El conejo, siendo una carne poco consumida en México en comparación con la de otros animales, puede ser destinada para su procesamiento como producto cárnico procesado, con el objetivo de mejorar la aceptación sensorial de este tipo de carne. Particularmente los nuggets son productos cárnicos de gran importancia en el país, los cuales pueden ser alternativas para incorporar y aprovechar los nutrimentos y características tecnológicas de la harina de subproductos de la industria de bebidas vegetales. Es necesario continuar con el estudio y desarrollo de productos cárnicos más saludables, de mayor calidad nutricional, reducidos en grasas saturadas y con buena aceptación sensorial.

### BIBLIOGRAFÍA

- Echeverría, L., da Silva, C., Danesi, E. D. G., Porciuncula, B. D. A., & Barros, B. C. B. (2022). Characterization of Okara and rice bran and their application as fat substitutes in chicken nugget formulations. *LWT*, *161*, 113383.
- El-Anany, A. M., Ali, R. F., & Elanany, A. M. (2020). Nutritional and quality characteristics of chicken nuggets incorporated with different levels of frozen white cauliflower. *Italian Journal of Food Science*, *32*(1), 45-59.
- Falahudin, A., Anggoro, S. I., Rahayu, R. S., Somanjaya, R., & Widianingrum, D. (2020). Characteristics of Physical, Chemicals and Organoleptic of Local Rabbit Meat Nuggets (*Lepus nigricollis*) Using Filler of Tofu Dregs Flour. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (1)466, 012025. IOP Publishing.
- Guidi, L., Tattini, M., & Landi, M. (2017). How Does Chloroplast Protect Chlorophyll Against Excessive Light? *Chlorophyll*, *June*.
- Inskeep, W. P., & Bloom, P. R. (1985). Extinction Coefficients of Chlorophyll a and b in N,N-Dimethylformamide and 80% Acetone. *Plant Physiology*, *77*(2), 483-485.
- Lian, H., Luo, K., Gong, Y., Zhang, S., & Serventi, L. (2020). Okara flours from chickpea and soy are thickeners: increased dough viscosity and moisture content in gluten-free bread. *International Journal of Food Science & Technology*, *55*(2), 805-812.
- Martín, A., Serrano, S., Santos, A., Marquina, D., & Vázquez, C. 2010. Bioluminiscencia bacteriana. *Reduca*, *3*(5), 75-86.
- Szendró, K., Szabó-Szentgróti, E., & Szigeti, O. (2020). Consumers' attitude to consumption of rabbit meat in eight countries depending on the production method and its purchase form. *Foods*, *9*(5), 654.
- Sestak, Z. (2000). Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology. Revised Edition. *Photosynthetica*, *38*(4), 606-606.
- Shoshan, M. C. (2012). 3-bromopyruvate: Targets and outcomes. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, *44*(1), 7-15.
- Vélez Izquierdo, A., Espinosa García, J. A., & Aguilar Romero, F. (2021). Tipología y caracterización de cunicultores en los Estados del centro de México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, *12*(2), 469-486.
- Zinina, O., Merenkova, S., Tazeddinova, D., Rebezov, M., Stuart, M., Okuskhanova, E., ... & Baryshnikova, N. (2019). Enrichment of meat products with dietary fibers: a review. *Agronomy Research* *17*(4), 1808-1822.

## Evaluación sensorial de una bebida de orégano adicionada con glutamina.

S.O. Téllez-Girón\*, L.A. García Mendoza, Y. Hernández Miranda, E. L. Rodríguez Castillo, M.E. Sosa Morales.

Departamento de Alimentos. División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato–Salamanca, Universidad de Guanajuato. [o.tellezgiron@ugto.mx](mailto:o.tellezgiron@ugto.mx)

### RESUMEN

Actualmente en México y en otros países muchas personas han comenzado un cambio en su rutina, incluyendo activación de forma física. Sin embargo, debido a que no están acostumbrados a ejercitarse, tienden a presentar molestias musculares. En los períodos de intensa actividad física el organismo puede exceder la capacidad de sintetizar glutamina. Debido a esto, la glutamina se convierte en esencial ya que el organismo, no puede cubrir la demanda existente. La glutamina es un aminoácido que ejerce propiedades reguladoras independientes de su metabolismo que se origina a través del aumento del volumen celular, como la modulación de la renovación de proteínas y del glucógeno, aumentando el anabolismo muscular. Para este proyecto, se propuso una bebida de orégano adicionada con glutamina, que pueda ser consumida y coadyuve a mitigar las afectaciones musculares sin ser un suplemento. Se realizaron dos pruebas sensoriales (prueba de ordenación y afectiva hedónica), para su elaboración participaron 20 jueces no entrenados que evaluaron parámetros de acidez, dulzor, color y aceptabilidad general. Para el parámetro de acidez y color no existe diferencia significativa entre las formulaciones ( $p > 0.05$ ); sin embargo, los parámetros de dulzor y aceptabilidad general fueron afectados por el tipo de formulación ( $p < 0.05$ ). Por lo tanto, la formulación que se recomienda para continuar su desarrollo incluye 3 ml de jugo de limón, 1 ml de colorante líquido, 14 g de miel y 5 g de glutamina.

**Palabras clave:** Glutamina, pruebas sensoriales, aminoácidos.

### ABSTRACT

Currently in Mexico and other countries, many people have begun a change in their routine, including physical fitness. However, because they are not familiar to exercise, they tend to have muscle discomfort. During periods of intense physical activity, the body may exceed its ability to synthesize glutamine. Due to this, glutamine becomes essential since the body cannot cover the existing demand. Glutamine is an amino acid that exerts independent regulatory properties of its metabolism that originates through the increase in cell volume, such as the modulation of protein and glycogen renewal, increasing muscle anabolism. For this project, an origanum beverage added with glutamine was proposed, which may help to reduce muscle pain, but without be a supplement. Two sensory tests were carried out (hedonic ordination and affective test), with the participation of 20 non-trained judges, who evaluated parameters of acidity, sweetness, color, and general acceptability. For the parameters of acidity and color there is not a significant difference ( $p > 0.05$ ) among samples, but the parameters of sweetness and general acceptability were affected by the formulation type ( $p < 0.05$ ). Therefore, the recommended formulation contained 3 ml of lemon juice, 1 ml of liquid dye, 14 g of honey and 5 g of glutamine.

**Keywords:** Glutamine, sensory tests, amino acids.

## INTRODUCCIÓN

Las bebidas adicionadas son aquellas a las que se les añade cierta cantidad de algún nutriente (vitaminas, aminoácidos, minerales) que no está originalmente presente, y que ofrece beneficios para la salud y el autocuidado. La glutamina es un aminoácido que interviene en la composición de las proteínas que mantienen las células en buen estado y reparan los tejidos. Nuestro cuerpo puede producirlo en pequeñas cantidades (NutriSport, 2015).

En la actualidad estos productos han sido muy solicitados en el mercado, por los beneficios que el producto aporta hacia el consumidor, como su contribución a nivel mental, energía y la duración de ese nivel alcanzado. Los consumidores tienen horas o momentos específicos donde las consumen. Dentro de las tendencias de consumo se encuentran algunas razones de la selección que hacen los consumidores de la bebida adicionada: energía, disminución de cansancio, agradable experiencia en todos los sentidos y contribución de beneficios para la salud.

En un estudio realizado por Varnier et al. (1995) se tomaron 3 grupos de 6 individuos cada uno y se los sometieron a un ejercicio físico intenso durante 90 min. A uno de los grupos se le suministró una solución de glutamina, al segundo grupo se le administró una solución de Alanina más glicina y al tercer grupo una solución salina. Al cabo de 2 h, finalizado el ejercicio físico, se demostró que el grupo al cual se le suministró una solución con glutamina mostraba un marcado aumento de glucógeno muscular. Según Haussinger y Weiergraber (2001) la glutamina es un aminoácido que ejerce propiedades reguladoras independientes de su metabolismo que se origina a través del aumento del volumen celular, como la modulación de la renovación de proteínas y del glucógeno. De esta manera, la glutamina podría intervenir aumentando el anabolismo muscular. Por otro lado, Antonio y Street (1999), indicaron que la glutamina no solo incrementa el volumen celular del tejido muscular esquelético aumentando la hidratación y desencadenando procesos de moduladores anabólicos, sino que también podría disminuir el catabolismo muscular producido por los altos niveles de cortisol en atletas entrenados. (Vázquez, 2018).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue desarrollar una bebida de orégano adicionada con glutamina y evaluarla sensorialmente con la ayuda de jueces no entrenados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La infusión se elaboró mediante un proceso de ebullición de agua a la cual se le agrego orégano y se deja hervir por 2 min. Posteriormente, se redujo la temperatura a 20°C para realizar el filtrado. Después se agregaron los demás ingredientes (miel de abeja, colorante líquido, jugo de limón y glutamina), mezclando hasta que se logre una mezcla homogénea, y finalmente se envasó. La glutamina utilizada para esta evaluación es un suplemento alimenticio en polvo sin sabor de la marca PRO-PERFORMANCE.

Para evaluar las características organolépticas del producto se realizaron dos pruebas sensoriales (prueba de ordenación y prueba afectiva hedónica), para llevar a cabo su elaboración fue necesaria la participación de 20 jueces no entrenados de 17 a 57 años, a los cuales se les indicó que no ingirieran

alimentos antes de realizar la prueba para evitar alteraciones en la percepción de los parámetros a evaluar; acidez, dulzor, color y aceptabilidad general.

Es importante tomar en cuenta las características que debe tener el lugar en donde se realizaron las pruebas sensoriales como: iluminación, ventilación, organización y limpieza. También se deben considerar los requerimientos para realizar la prueba tales como: lápiz, boleta de evaluación, agua y las muestras con sus respectivos códigos, los cuales se eligieron de forma aleatoria y con 4 dígitos. Para la prueba de ordenación se realizaron tres muestras con 4 ml de limón en cada una, pero con diferente cantidad de miel (código-cantidad); 1743-8 g, 9632-14 g y 8969-18 g. Para las pruebas afectivas se realizaron 3 muestras con diferente código y cantidad de limón (5783-3 ml, 3296-4 ml y 1846-5 ml), miel (1743-8 g, 9632-14 g y 8969-18 g), glutamina PRO Performance (9953-1 g, 7552-3 g y 7622-5 g) y colorante (3489-1 ml, 2376-2 ml y 1324-3 ml). Para la prueba de ordenación los resultados se compararon con las tablas de Larmond, mientras que para la prueba afectiva el análisis estadístico se realizará mediante la herramienta de ANOVA y Tukey, en los cuales se realizó un análisis de promedios y desviación estándar de cada parámetro a evaluar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Prueba afectiva hedónica

**Tabla I.** Promedios y desviación estándar de acidez

Muestra	Calificación de acidez
5783	5.55±2.39 <sup>a</sup>
3296	5.85±1.78 <sup>a</sup>
1846	4.35±1.78 <sup>a</sup>

**Tabla II.** Promedios y desviación estándar de color

Muestra	Calificación de color
3489	7±1.25 <sup>a</sup>
2376	7.1±1.07 <sup>a</sup>
1324	6.55±1.76 <sup>a</sup>

**Tabla III.** Promedios y desviación estándar de dulzor

Muestra	Calificación de dulzor
1743	5.95±1.98 <sup>b</sup>
9632	7.75±1.33 <sup>a</sup>
8469	7.9±0.71 <sup>a</sup>

**Tabla VI.** Promedios y desviación estándar de aceptabilidad general.

Muestra	Calificación de aceptabilidad general
9953	6.6±1.5 <sup>b</sup>
7552	7.75±1.33 <sup>a</sup>
7622	7.8±0.95 <sup>a</sup>

De acuerdo con el análisis estadístico (ANOVA y Tukey) se determinó que para el parámetro de acidez y color no existe diferencia significativa ( $p>0.05$ ) entre las medias de las muestras, por lo tanto, se decidió escoger la muestra con la menor cantidad de ingrediente, es decir, la muestra con el código: 5783 con un contenido de 3 ml de jugo de limón y la muestra con código: 3489 con 1 ml de colorante líquido, beneficiando los costos de los insumos. Para los parámetros de dulzor y aceptabilidad general si existe una diferencia significativa ( $p<0.05$ ) entre las medias de las muestras, en ambos parámetros la media inferior fue diferente a las otras dos medias, por lo tanto, se decidió elegir para el parámetro de dulzor la muestra intermedia con código: 9632 y 14 g de miel, en cambio para la aceptabilidad general la muestra con mayor cantidad de glutamina (código:7622 y 5 g).

**Prueba de ordenación**

**Tabla II.** Resultados de la Prueba de ordenación

Jueces	A	B	C
<b>1</b>	1	2	3
<b>2</b>	1	2	3
<b>3</b>	1	2	3
<b>4</b>	1	2	3
<b>5</b>	1	2	3
<b>6</b>	1	3	2
<b>7</b>	2	1	3
<b>8</b>	1	2	3
<b>9</b>	1	2	3
<b>10</b>	2	1	3
<b>11</b>	1	2	3
<b>12</b>	1	3	2
<b>13</b>	1	2	3
<b>14</b>	2	1	3
<b>15</b>	1	2	3
<b>16</b>	1	2	3
<b>17</b>	1	2	3
<b>18</b>	2	1	3
<b>19</b>	1	3	2
<b>20</b>	1	2	3
<b>SUMA</b>	24	<b>39</b>	57

El rango obtenido de las tablas de Larmond para 20 jueces es de 30 a 46 y con base en la sumatoria de los resultados, se pudo determinar que la muestra B es la única dentro de ese rango, por lo que las muestras presentan diferencia significativa ( $p<0.05$ ). Los jueces fueron capaces de detectar las muestras con menor y mayor cantidad de miel. Con base a lo antes mencionado el tratamiento seleccionado fue el B, debido a que beneficia los costos y presenta un balance agradable en la bebida, lo cual hace que la bebida sea agradable para los consumidores.

## CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados de las pruebas sensoriales realizadas se determinaron los parámetros más aceptados por los jueces no entrenados tomando en cuenta el precio de cada uno de los ingredientes y del proceso, así como el límite permitido de dosis de la glutamina, sin afectar las características organolépticas y las propiedades beneficiosas de la bebida. Con las cantidades seleccionadas (3ml de jugo de limón, 14 g de miel y 5g de glutamina) se generó una formulación de 450 ml, la cual se considera con potencial debido a una comparación de productos similares existentes en el mercado y a las necesidades de los consumidores.

## BIBLIOGRAFÍA

- Lacey JM, Wilmore. (2018). ¿QUÉ ES LA GLUTAMINA? 03/11/2021, de infosport Sitio web: <https://www.infosport.com/blog/que-es-la-glutamina-y-para-que-sirve>
- Larmond, E. (1997). Método de laboratorio de evaluación sensorial de alimentos, Canadá.
- García, M. (2018). Análisis sensorial de alimentos. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. Recuperado 5 de noviembre de 2021, de <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/icbi/n3/m1.html>
- Vázquez, G (2018). Suplementación con glutamina en deportistas que realizan ejercicio físico intenso. 2021, de Universidad Isalud Sitio web: <http://repositorio.isalud.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/1/95/TFN613.7%20V48.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- NutriSport. (29 de abril de 2015). *Glutamina, ¿qué es y para qué sirve?* Obtenido de <https://nutrisport.es/web/glutamina/>
- Profeco, L. (2015). Bebidas con cafeína, taurina y otros ingredientes. *El consumidor*. Obtenido [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/100355/RC460\\_Bebidas\\_con\\_Cafeina\\_Taurina.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/100355/RC460_Bebidas_con_Cafeina_Taurina.pdf)



## Métodos para evaluar la biodisponibilidad, la bioaccesibilidad y el valor nutricional de suplementos alimenticios

S.A. Hernández-Esquivel<sup>1</sup>, I. Martínez-Arellano<sup>1</sup> y M.S. Córdova-Aguilar\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito escolar s/n Ciudad Universitaria, Col UNAM, CU, Delegación Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México

\*[marisol.cordova@icat.unam.mx](mailto:marisol.cordova@icat.unam.mx)

### RESUMEN

La biodisponibilidad, la bioaccesibilidad y la calidad nutricional en particular de las proteínas son variables importantes para definir la efectividad y calidad de un alimento o suplemento para su utilización terapéutica. Conocer el valor nutricional de las proteínas permite la complementación proteica en la formulación de mezclas de proteínas de baja calidad y mejorar la biodisponibilidad y la calidad de la mezcla. Existen diversos métodos para determinar estos parámetros de las proteínas tanto *in vitro* como *in vivo*. Los métodos *in vitro* incluyen sistemas de digestión simulada y el uso de métodos de cultivo celular que imitan el eje intestino-torrente sanguíneo, los cuales se utilizan ampliamente en las ciencias de la alimentación, la nutrición y la industria farmacéutica, ya que permiten estudiar los cambios estructurales, la digestibilidad y la liberación de componentes de alimentos bajo condiciones gastrointestinales específicas. La eficacia nutricional de los productos alimenticios puede garantizarse mediante la determinación de la bioaccesibilidad del alimento, metodología que proporciona información valiosa para seleccionar la dosis y la fuente adecuadas de matrices. Los ensayos de digestión *in vitro* simulan las condiciones fisiológicas que se llevan a cabo en el organismo durante la digestión *in vivo*. Entre los más relevantes tenemos a: ARES, IMGS, MGD, SGH, SIMGI, SMG y TIM.

**Palabras clave:** biodisponibilidad, bioaccesibilidad, proteína, calidad nutricional.

### ABSTRACT

Bioavailability, bio accessibility and nutritional quality in particular of proteins are important variables to define the effectiveness and quality of a food or supplement for therapeutic use. Knowing the nutritional value of proteins allows protein supplementation in the formulation of low quality protein mixtures and improve the bioavailability and quality of protein. There are several methods for determining these protein parameters both *in vitro* and *in vivo*. *In vitro* methods include simulated digestion systems and the use of cell culture methods that simulate the gut-blood stream, which are widely used in food science, nutrition and the pharmaceutical industry, since they allow studying structural changes, digestibility and the release of food components under specific gastrointestinal conditions. The nutritional efficacy of food products can be ensured by determining the bioaccessibility of the food, a methodology that provides valuable information for selecting the appropriate doses and source of matrices. *In vitro* digestion tests simulate the physiological conditions in the body during *in vivo* digestion. Among the most relevant are ARES, IMGS, MGD, SGH, SIMGI, SMG and TIM.

**Keywords:** bioavailability, bio accessibility, protein.

## INTRODUCCIÓN

La biodisponibilidad, la bioaccesibilidad y la calidad nutricional en particular de las proteínas son determinantes importantes para definir la efectividad y calidad de un alimento o suplemento para su utilización terapéutica. Existen diversos métodos tanto *in vitro* como *in vivo* para determinarlas. Los métodos *in vitro* incluyen sistemas de digestión simulada y el uso de métodos de cultivo celular que imitan el eje intestino-torax sanguíneo, los cuales se utilizan ampliamente en las ciencias de la alimentación, la nutrición y la industria farmacéutica, ya que permiten estudiar los cambios estructurales, la digestibilidad y la liberación de componentes de alimentos bajo condiciones gastrointestinales específicas. El ser humano necesita un total de veinte aminoácidos, de los cuales 9 son aportados por la dieta. Es importante que no falte ningún aminoácido para sintetizar las proteínas en las que sea requerido (González *et al.*, 2007). De ahí que la proteína presente en la dieta no sólo debe aportar los aminoácidos para atender al mantenimiento de la proteína corporal y crecimiento, sino que también, debe tener la calidad que permita la biodisponibilidad de los aminoácidos. La limitación o ausencia puede dar lugar a diferentes tipos de desnutrición (González *et al.*, 2007; Gil, 2005). Por otro lado, conocer el valor nutricional de las proteínas permite la complementación proteica en la formulación de mezclas de proteínas de baja calidad y mejorar la biodisponibilidad y la calidad de la mezcla (Martínez & Martínez, 2006).

El valor nutricional de las proteínas dietéticas está, por lo tanto, relacionado con la biodisponibilidad de sus aminoácidos constitutivos y depende de la eficiencia de su utilización metabólica para satisfacer los requerimientos de aminoácidos necesarios para el crecimiento y la renovación de proteínas corporales (Mariotti *et al.*, 1999). Así mismo, depende de la velocidad de digestión del alimento dentro del tracto gastrointestinal (Boirie *et al.*, 1997). Para evaluar la calidad de la proteína existen diversos métodos que se pueden clasificar en químicos, biológicos y microbiológicos. Actualmente se utiliza de rutina el score de aminoácidos corregido por la digestibilidad de la proteína, conocido como PDCAAS (protein digestibility corrected amino acid score) (Martínez & Martínez, 2006). También se utiliza la puntuación de los aminoácidos indispensables digestibles (DIAAS), que tiene en cuenta el contenido de aminoácidos digestibles en comparación con una proteína de referencia y su digestibilidad ileal (FAO, 2013).

## MÉTODOS *IN VIVO* (BIODISPONIBILIDAD)

**PDCAAS:** La calidad proteica puede evaluarse expresando el contenido del primer aminoácido indispensable limitante de la proteína problema como porcentaje del contenido del mismo aminoácido en el patrón de referencia de aminoácidos indispensables (o frente a una proteína “patrón” o “ideal”). Posteriormente, este porcentaje se corrige con el coeficiente de digestibilidad verdadero (Schaafsma, 2000).

**DIAAS:** Puntuación de aminoácidos indispensables digeribles. Los mg del aminoácido de la dieta Indispensable digerible en 1 gramo de la proteína entre mg del mismo aminoácido en un gramo de la proteína de referencia. La digestibilidad debería basarse en la digestibilidad ileal verdadera (es decir determinada al final del intestino delgado) de cada aminoácido realizada preferiblemente en humanos (Gaudichon et al., 2002; Moughan, 2003; Fuller & Tomé, 2005). Si esto no es posible, se podrá determinar en cerdos en crecimiento (Stein et al., 2007) o en ratas en crecimiento (Moughan et al., 1984) en este orden.

La digestibilidad de proteínas de fuentes animales se encuentra en el intervalo de 96-99%, un valor biológico de 80 – 100%, utilización de proteínas 73-94%, PDCAAS 92-100% y DIAAS 113-114%. Asimismo, para las proteínas de fuentes vegetales, la digestibilidad se encuentra en el intervalo de 70-98%, un valor biológico de 56 – 74%, utilización de proteínas 53-67%, PDCAAS 25-100% y DIAAS 29-89%.

## MÉTODOS *IN VITRO*

La estimación de la digestibilidad del nitrógeno *in vitro* en animales monogástricos está basada en incubaciones consecutivas con enzimas que simulan la digestión gástrica e intestinal. El uso de estas enzimas en su secuencia y medio natural es un requisito para las incubaciones *in vitro* (Savoie, 1991). Esto puede ser posible mediante la utilización de fluidos intestinales (Furuya *et al.*, 1979, Dierick *et al.* 1985, Lowgren *et al.*, 1988); sin embargo, una solución de pancreatina puede reemplazar al fluido intestinal. Actualmente, hay enzimas que se utilizan en diferentes métodos de digestibilidad *in vitro*.

Dentro de las técnicas para evaluar la digestibilidad *in vitro* destacan el *pH Drop* y el *pH-Stat*. En el método *pH-Drop* se cuantifica la reducción del pH causada por la liberación de hidrógeno durante la ruptura de los enlaces peptídicos entre los aminoácidos que conforman una proteína. Esta digestión es mediada por la acción de enzimas proteolíticas que pueden ser extraídas de la especie de interés o enzimas purificadas de mamíferos y de uso comercial. Este método tiene de limitante que, durante la digestión, el pH de la reacción puede salirse del intervalo óptimo de acción de las enzimas proteolíticas (Alarcón *et al.*, 2002). Para resolver este problema el método del *pH-Stat*, cuantifica la cantidad de NaOH requerido para mantener constante el pH durante el periodo de digestión del ingrediente/dieta con la enzima por medio de un titulador automático altamente preciso (Alarcón *et al.*, 2002).

### *Método de Predicción de Digestibilidad in vitro*

Esta metodología permite predecir la digestibilidad de las materias primas o de las dietas en el tubo digestivo de los animales al someter a los alimentos evaluados a una serie de pasajes por compuestos enzimáticos, que simulan la degradación que ocurre dentro del organismo vivo teniendo en cuenta los segmentos del tracto gastrointestinal (Hervera *et al.*, 2007; Castrillo *et al.*, 2009; Coles *et al.*, 2011).

### Métodos diseñados para evaluar la digestión simulada

#### -Modelos de digestión *in vitro*

Actualmente existen distintos modelos de digestión *in vitro* que se diferencian principalmente, en el número y tipo de fases incluidas, en la composición de los fluidos simulados (enzimas, soluciones salinas, etc.) y en las tensiones mecánicas y flujos de fluidos empleadas. (Hur, *et al.*, 2011). Los modelos de digestión *in vitro* pueden ser estáticos o dinámicos.

#### -Modelos de digestión *in vitro* estáticos

En ellos se utiliza un compartimiento único, al que se le va añadiendo de forma manual las soluciones simuladas de cada fase, tras los periodos de incubación/agitación establecidos; además de corregir el pH del medio. Se han estudiado cuestiones relacionadas con el campo de la nutrición, la toxicología o la microbiología (Zhang *et al.*, 1996).

- **Estimación de la digestibilidad del nitrógeno:** Se estandarizó y validó una técnica *in vitro* para la evaluación de ingredientes para la alimentación de cerdos, basada en el método de Dierick *et al.* (1985). Se sustituyó la fuente comercial de pancreatina por enzimas extraídas del páncreas de cerdos. Los resultados de digestibilidad promedio para los diferentes ingredientes en los que se utilizó pancreatina comercial y extracto pancreático (75.9 vs 75.4 %  $\pm$  ES 0.379, respectivamente), evidencian que la sustitución de la enzima comercial por enzimas provenientes del preparado pancreático es un método confiable, preciso y repetible. Según los resultados se puede sustituir la pancreatina comercial utilizada en el método *in vitro* por Dierick *et al.*, (1985) por una solución enzimática obtenida con 200 mg de preparado enzimático. Esta sustitución no afecta la precisión y confiabilidad del método.

#### -Modelos de digestión *in vitro* dinámicos

Son capaces de reproducir de un modo más próximo el proceso de digestión *in vivo*, con lo que permiten predecir de un modo más aproximado el perfil de disolución y la bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos en alimentos y fármacos (Viadel, 2016).

- **Modelo gástrico dinámico (MGD):** Se compone de dos compartimentos diferentes que persiguen simular dos partes anatómicas del estómago, el cuerpo y el antro, sin embargo, no es capaz de reproducir las contracciones peristálticas gástricas (Vardakou *et al.*, 2011).
- **El Simulador Gastrointestinal Dinámico (SIMGI):** Representa el funcionamiento del tracto gastrointestinal humano a través de la evaluación de los procesos de digestión gastrointestinal y fermentación colónica de los alimentos. Se compone de estómago, intestino delgado, y colon (ascendente, transversal y descendente) gobernados por un autómata, y que pueden operar de forma conjunta o independiente. El estómago se compone de dos unidades con paredes flexibles y rodeadas por una camisa de metacrilato donde se bombea agua, mantiene una temperatura constante y mezcla el contenido estomacal con movimientos peristálticos. El sistema varía el pH y el tiempo de vaciado al intestino delgado. El intestino delgado es un reactor con condiciones anaerobias y pH controlado, se mezcla el contenido gástrico con las secreciones intestinales mediante agitación mecánica regulable. Por último, el colon se compone de tres reactores (colon ascendente, transversal y descendente) que operan en condiciones de anaerobiosis, con agitación mecánica y pH controlado, y se aloja microbiota

intestinal de origen humano. Además, dispone de diferentes puntos de toma de muestras en cada uno de los compartimentos para llevar a cabo los análisis bioquímicos y microbiológicos correspondientes (Barroso *et al.*, 2015).

- **Simulador gástrico humano (SGH):** Reproduce los movimientos peristálticos de forma muy similar al del estómago (Kong & Singh 2010). Sin embargo, únicamente reproduce la fase gástrica de la digestión no simulan el tiempo de tránsito real, ni el vaciado gástrico (Guerra *et al.*, 2012). Es una cámara de látex cilíndrica que simula el compartimento del estómago, donde cuatro cintas transportadoras contienen una serie de rodillos de Teflón los cuales inciden periódicamente en la cámara de látex. Se enfocan en el estudio de los cambios en las propiedades físicas y químicas del contenido gástrico y la transformación de los constituyentes de los alimentos que se producen durante la digestión simulada, así como la influencia de las condiciones fisiológicas, los cuales incluyen las secreciones de enzimas y ácido, y las fuerzas de secreción sobre la desintegración de alimentos y la liberación de nutrientes (Verhoeckx *et al.*, 2015).
- **TNO gastro intestinal modelo 1 (TIM-1):** Es el modelo más realista en simular las condiciones de la digestión *in vivo*. Es dinámico controlado por ordenador que simula las principales funciones digestivas fisiológicas del estómago e intestino delgado (Villemejane *et al.*, 2015). A principios de la década de 1990 se desarrolló el Modelo TNO Gastrointestinal TIM-1 con el objetivo de predecir la bioaccesibilidad de comidas y productos farmacéuticos y evaluar el tiempo de tránsito de la comida a través del tracto gastrointestinal. Fue el primero en adaptar y controlar los parámetros dinámicos del lumen gástrico; se compone de 4 compartimentos, cada compartimento está compuesto por dos unidades de vidrio con paredes flexibles en su interior, los compartimentos están conectados entre ellos por medio de válvulas de bombeo peristáltico (Minekus *et al.*, 1995). El mezclado para cada compartimento se logra alternando la presión del agua que circula fuera de las paredes flexibles en donde la temperatura del agua se mantiene 37 °C con el objetivo de simular la temperatura corporal humana, la frecuencia de contracción en el compartimento gástrico y el intestino delgado fue llevado a cabo por medio de 3 y 9 contracciones por minuto respectivamente a través de las paredes flexibles (Minekus *et al.*, 1995). Antes de la introducción en el compartimento gástrico, la comida se mastica con un procesador de alimentos y se mezcla con saliva artificial que contiene electrolitos y amilasa- $\alpha$ . La secreción gástrica contiene electrolitos, pepsina y una lipasa fúngica (como una alternativa a la lipasa gástrica). La secreción duodenal consiste en electrolitos, bilis y pancreatina (Minekus *et al.*, 1995).
- **Modelo IMGS:** Es un modelo de estómago de látex con la misma morfología (en forma de J) y dimensiones de un estómago humano adulto, lo que es una mejora en comparación con otros *in vitro* modelos gástricos. Esta característica permite una distribución más realista del bolo alimenticio en el estómago, característica relevante a la hora de digerir partículas sólidas o semisólidas. Las partículas sólidas (más densas que el agua) del bolo alimenticio se colocan en la curvatura más grande del estómago, mientras que las partículas más ligeras fluyen en el canal del píloro (Schulze, 2006). Se utiliza para evaluar la lipólisis intestinal de emulsiones O/W estabilizadas con proteína (Barros *et al.*, 2016). El modelo se coloca en una cámara de acrílico transparente la cual contiene agua cuya temperatura se encuentra regulada por medio de un termostato manteniendo una media de operación de 37 °C, la simulación de la motilidad gástrica es ejercida por medio de un conjunto de pistones de acrílico. El sistema mecánico genera una frecuencia de 3 contracciones por minuto. Permite reproducir los cambios de pH durante la digestión gástrica; para la preparación de las enzimas gástricas, emplean una solución gástrica común, agua, HCl, pepsina (de la mucosa gástrica porcina), cloruro de calcio y lecitina de soja, donde para cada ensayo se realiza una mezcla independiente, los cuales son añadidos al contenedor gástrico previo a las pruebas (Barros *et al.*, 2016).

- **Modelo ARIS (Automatic and Robotic Intestinal System/ Sistema Intestinal Automático y Robótico):** El Centro de Investigación en Tecnología y Asistencia del Estado de Jalisco, CIATEJ, cuenta con el Laboratorio de Digestión Ex Vivo. Es un simulador del tracto digestivo humano, que ha sido validada en ensayos clínicos, que simula las condiciones fisiológicas de los sujetos de estudio. Los sujetos constituyen una población objetivo como niños, ancianos, deportistas, personas con obesidad u otros. Se toman muestras en cualquier momento respetando parámetros relevantes del ensayo *in vivo* sin la dependencia del uso de organismos superiores (animales). Puede ser utilizado en diversos mercados como: alimentos, bebidas, ingredientes nutricionales, nutracéuticos y farmacéuticos. Es alimentado cada 24 horas con 200 mL de alimento mezclado con amilasas salivales, éste es estandarizado de acuerdo a los hábitos alimenticios de la población objetivo y el producto a evaluar. El proceso inicia en el estómago donde se mantiene a un pH ácido, adición de enzimas pépticas y agitación controlada. Posteriormente la sección del intestino delgado alimentada con las descargas del estómago se ajusta el pH a condiciones más alcalinas y se adicionan soluciones de pancreatina y bilis, la agitación es controlada. Se continúa con el proceso de alimentación, en las siguientes tres secciones del colon previamente inoculadas con microbiota intestinal humana, respetando los tiempos de retención fisiológicos en cada sección. Se obtienen muestras de alimentos en cada sección del simulador en los días 0 (sin el producto a evaluar), día 4 (digestión completa de una administración) y día 9 (administración continua), tomando en cuenta que una digestión completa dura 72 horas.

En la actualidad, las empresas alimentarias únicamente pueden comercializar alimentos funcionales alegando declaraciones de salud una vez hayan demostrado científicamente que existen evidencias suficientes que confirmen su funcionalidad y tras haber logrado una opinión favorable de la EFSA (European Food Safety Authority) al respecto (Ramón, 2016). Para este proceso de validación, las ciencias ómicas juegan un papel fundamental. Son todo un conjunto de disciplinas en las que se analizan desde una aproximación global diferentes aspectos bioquímicos como son los genes o las proteínas. De entre las diferentes ómicas, la metabolómica, basada en el análisis del conjunto de metabolitos de un organismo mediante el uso de técnicas como la resonancia magnética nuclear (RMN) y la cromatografía acoplada a detectores de masas (GC-MS, HPLC-MS y HPLC-MS/MS), destaca como pieza fundamental en los estudios diseñados para confirmar la funcionalidad de los alimentos. Así, al ingerir un alimento funcional se producirán una serie de cambios en el organismo que se verán reflejados en el metaboloma. Aquellos metabolitos que se puedan correlacionar directamente con la funcionalidad deseada serán los idóneos para ser usados como biomarcadores que confirmen su efectividad (Barallobre *et al.*, 2013).

## BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón F., Moyano J. & Diaz M. (2002). Evaluation of different protein sources for aqua feeds by an optimized pH-stat system. *Journal Science Food Agriculture*, 82, 697-704.
- Barallobre-Barreiro, Javier; Chung, Yuen-Li & Mayr, Manuel. (2013). La proteómica y la metabolómica: los mecanismos de la enfermedad cardiovascular y el descubrimiento de biomarcadores. *Revista Española de Cardiología*, 66 (8): 657-661.
- Barros, L., Retamal, C., Torres, H., Zúñiga, R.N. & Troncoso, E. (2016). Development of an *in vitro* mechanical gastric system (IMGS) with realistic peristalsis to assess lipid digestibility. *Food Research International*, 90, 216–225.
- Barroso E, Cueva C, Peláez C, Martínez-Cuesta MC, Requena T., 2015. Development of human colonic microbiota in the computer-controlled dynamic Simulator of the Gastro Intestinal tract SIMGI. *LWT-Food Sci Technol* ;61(2):283-9.
- Boirie, Y., Dangin, M., Gachon, P., Vasson, M., Maubois, J. & Beaufrère, B. (1997). Slow and fast proteins differently modulate postprandial protein accretion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, 14930-14935.
- Castrillo, C., Hervera, M. & Baucells, M., (2009). Methods for predicting the energy value of pet foods. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38, 1-14.
- Coles, L.T., Moughan, P.J. & Awati, A. (2011). Influence of assay conditions on the *in vitro* hindgut digestibility of dry matter. *Food chemistry*, 125(4), 1351-1358.
- Dierick, N., Vervaeke I., Decupeyre, I. & Henderickx, H. (1985). Protein digestion in pigs measured *in vivo* and *in vitro*. Digestive Physiology in the Pig. Proc. 3rd International Seminar on Digestive Physiology in the Pig. (Ed. A. Just , H. Jorgensen and J.A. Fernández). *National Institute of Animal Science. Copenhagen*. p. 329
- Dierick, N., Vervaeke I., Decupeyre, I. & Henderickx, H., (1985). Protein digestion in pigs measured *in vivo* and *in vitro*. Digestive Physiology in the Pig. Proc. 3rd International Seminar on Digestive Physiology in the Pig. (Ed. A. Just , H. Jorgensen and J.A. Fernández). *National Institute of Animal Science. Copenhagen*. p. 329
- FAO. Evaluación de las proteínas alimentarias en la nutrición humana: Informe de una consulta de expertos de la FAO de 2011; Documento 92 de la FAO sobre alimentación y nutrición; FAO: Roma, Italia, 2013.
- Fuller, M. & Tomé, D. (2005). *In vivo* determination of amino acid bioavailability in humans and model animals. *Journal of AOAC International*, 88, 923-934.
- Furuya, S., Sakamoto, K. & Takashi, S. (1979). A new *in vitro* method for the estimation of digestibility using intestinal fluid of the pig. *British Journal of Nutrition*, 41: 511.
- Gaudichon, C., Bos, C., Morens, C., Petzke, K., Mariotti, F., Everwand, J., Benamouzig, R., Daré, S., Tomé, D., & Metges, C. (2002). Ileal losses of nitrogen and amino acids in humans and their importance to the assessment of amino acid requirements. *Gastroenterology*, 123, 50-9.
- Gil A. (ed.): Tratado de nutrición. Tomo 1. Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. Acción Médica. Madrid, 2005.
- González, L., Tellez, A., Sampedro, J. & Nájera, H. (2007). Las proteínas en la nutrición. *Respyn*, 8 (2), 1-7.
- Guerra, A., Etienne-Mesmin, L., Livrelli, V., Denis, S., Blanquet-Diot, S. & Alric, M., (2012). Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion. *Trends in Biotechnology*, 30(11), 591-600.
- Hervera, M., Baucells, M.D., & Blanch, F. (2007). Prediction of digestible energy content of extruded dog food by *in vitro* analyses. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 91(5), 205-209,
- Hur, S., Lim, B., Decker, E. & McClements. (2011). *In vitro* human digestion models for food applications. *Food Chemistry*, 125(1), 1-12.

- Kong, F., & Singh, R. (2010). A human gastric simulator (HGS) to study food digestion in human stomach. *Journal of Food Science*, 75(9): 627–635.
- Lowgren, W., Graham, H., Aman, P. & Raj, S. (1988). *In vitro* prediction of the nutritive value of pig feeds. Digestive Physiology in the Pig. Proc. 4th International Seminar : Polish Academy of Sciences. *Institute of Animal Physiology and Nutrition. Jablona, Poland*. p. 262
- Mariotti, F., Mahé, S., Benamouzig, R., Luengo, C., Daré, S., Gaudichon, C., & Tomé, D. (1999). Nutritional value of [15N]-soy protein isolate assessed from ileal digestibility and postprandial protein utilization in humans, *The Journal of Nutrition*, 129, 1992–1997.
- Martínez, O. & Martínez, E. (2006). Proteínas y péptidos en nutrición enteral. *Nutrición hospitalaria*, 21(2), 1-14.
- Minekus M., Marteau P., Havenaar R. & Huis in't Veld J., (1995). “A multi compartmental dynamic computer-controlled model simulating the stomach and small intestine.” *ATLA, Zeist, The Netherlands*, 23:197-209.
- Moughan, P. (2003). Amino acid availability: Aspects of chemical analysis and bioassay methodology. *Nutrition Research Reviews*, 16(2), 127-141.
- Moughan, P., Smith, W. & James, K. (1984). Preliminary observations on the use of the rat as a model for the pig in the determination of apparent digestibility of dietary protein. *New Zealand journal of agricultural research*, 27, 509-512.
- Moughan, R. & Nimmo, M. (1984). The influence of variations in muscle fibre composition on muscle strength and cross-sectional area in untrained males.
- Ramón, D., (2016). *Nuevas estrategias en la evaluación de alimentos funcionales* (Web: <http://www.sebbm.es/revista/articulo.php?id=295&url=nuevas-estrategias-en-la-evaluacion-de-alimentos-funcionales#sthash.Gs7WoxIF.dpuf>)
- Savoie, L. (1991). *In vitro* simulation of protein digestion: An integrated approach. En: *In vitro* digestion for pigs and poultry. (Ed. M.F. Fuller). *Commonwealth Agricultural Bureau International*. Slough. p. 135
- Schaafsma G. (2000). The protein digestibility-corrected amino acid score. *Journal of Nutrition*. 130(7).1865S-7S.
- Schulze, K. (2006). Imágenes y modelado de la digestión en el estómago y el duodeno. *Neurogastroenterología y motilidad*, 18, 172 - 183.
- Stein, H. & Bohlke, A. (2007). The effects of thermal treatment of field peas (*Pisum sativum* L.) on nutrient and energy digestibility by growing pigs. *Journal of animal science*, 85, 23-30.
- Vardakou, M., Mercuri, A., Barker, S., Craig, D., Faulks, R. & Wickham, M. (2011). Lograr fuerzas de trituración antral en modelos *in vitro* biorelevantes: comparación del aparato de disolución II de la USP y el modelo gástrico dinámico con datos *in vivo* humanos. *AAPS PharmSciTech*, 12 ( 2), 620 – 626.
- Verhoeckx, K., Cotter, P., López, I., Kleiveland, C., Lea, T., Mackie, A., Requena, T., Swiatecka, D. & Wicher, H. (2015). The Impact of Food Bioactives on Health: *in vitro* and ex vivo models, *Springer International Publishing*, 92: 357– 66
- Viadel, B. 2016 [en línea] actualizado en 2016 Disponible en: <https://www.ainia.es/tecnoalimentalia/tecnologia/nuevos-modelos-de-digestion-in-vitro-para-el-desarrollo-de-alimentos-funcionales-y-farmacos/> [último acceso en 2022]
- Villemejeane, C., Wahl, R., Aymard, P., Denis, S., & Michon, C. (2015). *In vitro* digestion of short-dough biscuits enriched in proteins and/or fibres, using a multi-compartmental and dynamic system (1): viscosity measurement and prediction. *Food chemistry*, 182, 55–63.
- Zhang Q, Abe T, Takahashi, T., & Sasahara, T. (1996). Variations *in vitro* starch digestion of glutinous rice flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(9), 2672–2674.



## Mejoramiento de propiedades nutricionales, fisicoquímicas y estructurales de un pan sin gluten adicionado con microalga a base de pre-fermento

M.F. Guzmán-Rodríguez<sup>1</sup>, S.A. Cortez-Guardiola<sup>1</sup>, E. Garza-Valverde<sup>1</sup>, M.C.J. García<sup>2</sup> y C. García-Gómez\*<sup>1</sup>  
**1** Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Av. Francisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México. **2** Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Ciencias Básicas, Calzada Antonio Narro 1923, Col. Buenavista, C.P. 25315, Saltillo, Coahuila, México. \*[celestino.garciagm@uanl.edu.mx](mailto:celestino.garciagm@uanl.edu.mx)

### RESUMEN

Las microalgas son una potencial fuente de compuestos naturales que pueden ser utilizados como ingredientes funcionales. Por lo que se incorporó la microalga *Chlorella vulgaris* a un pan sin gluten para compensar los niveles de proteína y se realizó un pre-fermento para mejorar la capacidad viscoelástica de la masa y así poder generar una aceptabilidad más alta en los parámetros del producto final. Se incorporaron diferentes porcentajes de *Chlorella vulgaris* (2, 4 y 6%) y se realizaron análisis de color, actividad microbiana, bromatológicos y Análisis de Perfil de Textura (TPA) en el producto final. Los resultados mostraron que la microalga afectó la textura, presentando una dureza de  $2160 \pm 690$  g en el pan adicionado con 4% de microalga a comparación de los  $1365 \pm 668$  g del pan de control y el color disminuye la luminosidad conforme aumenta el porcentaje de microalga, llegando hasta  $31.00 \pm 2.46$  en el pan 6%. El análisis bromatológico demostró que el contenido de proteína aumenta al adicionar el pan con microalga, la muestra control contiene  $6.44 \pm 5.58$  g de proteína, los cuales aumentan hasta  $9.74 \pm 0.13$  g en los panes adicionados, siendo el de 2% el que obtuvo el mejor contenido.

**Palabras clave:** *Chlorella vulgaris*, textura, efecto antimicrobiano.

### ABSTRACT

Microalgae are a potential source of natural compounds that can be used as functional ingredients. Therefore, the microalgae *Chlorella vulgaris* was incorporated into a gluten-free bread to compensate for the protein levels and a preferential treatment was carried out to improve the viscoelastic capacity of the dough and thus be able to generate a higher acceptability in the parameters of the final product. Different percentages of *Chlorella vulgaris* (2, 4 and 6%) were incorporated and color, microbial activity, bromatological and Texture Profile Analysis (TPA) analyzes were performed on the final product. The results showed that the microalgae affected the texture, presenting a hardness of  $2160 \pm 690$  g in the bread added with 4% microalgae compared to  $1365 \pm 668$  g in the control bread and the color decreasing in luminosity as the percentage of microalgae increased, reaching  $31.00 \pm 2.46$  in the 6% bread. The bromatological analysis concludes that the protein content increases by adding the bread with microalgae, the control sample contains  $6.44 \pm 5.58$  g of protein, which increases to  $9.74 \pm 0.13$  g in the added panels, with 2% being the one that obtained the best content.

**Key words:** *Chlorella vulgaris*, texture, antimicrobial effect.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años la ingeniería en alimentos a podido ofrecer alternativas de consumo para sectores específicos como lo son los individuos que padecen alguna patología que les impida el poder ingerir algún producto o derivado. Un sector de la población al cual se ha buscado poder brindar alternativa de alimentos procesados es a los pacientes con enfermedad celíaca (EC). Este padecimiento se caracteriza por ser una enfermedad autoinmune donde su afectación principal es el tracto digestivo de los individuos que la padecen, se centra en la inflamación crónica y difusa de la mucosa del intestino delgado asociado a múltiples manifestaciones clínicas. La EC afecta al 1% de la población manifestándose principalmente en pacientes femeninas, su detección varía dependiendo de rasgos culturales y de alimentación, sin embargo, se caracteriza por ser detectada en adultos entre 30-50 años. Esta patología se desarrolla en individuos genéticamente predispuestos y los principales síntomas se desencadenan por el consumo e interacción con el gluten que se encuentra en trigo, la cebada y el centeno principalmente. Aunque también hay una población con mayor índice de riesgo como lo son pacientes con Síndrome Down, déficit selectivo, Diabetes Mellitus, Tiroiditis autoinmune, así como otras enfermedades autoinmunes (Saez, 2010).

El trigo es el cereal más cultivado alrededor del mundo, se le considera el alimento básico para más del 35% de la población mundial (ASERCA, 2018). Por lo tanto, dada las cifras de consumo y del porcentaje de pacientes diagnosticados, la fabricación e industrialización de productos para este sector es relativamente pequeño, pero ahora su demanda ha crecido poco a poco debido a la difusión de los síntomas, lo que la hace más común y ayuda a que más pacientes no diagnosticados acudan con su especialista.

Se han descubierto indicios de que antiguos pobladores utilizaban las microalgas como fuente de alimento. Recientemente se ha incrementado el estudio e implementación en diversas áreas como fármacos, bioenergía y alimentos, esto representa un gran avance para poder cubrir las deficiencias en estas áreas. En el área de alimentos se han mostrado grandes avances para lograr el consumo diario de estas y así cubrir las necesidades de la población además de conseguir un mejoramiento nutricional en la dieta diaria. La microalga *Chlorella vulgaris* se ha vuelto muy popular entre los consumidores debido a la difusión de sus beneficios por su consumo diario. Es notoria la diversidad de productos en el mercado de la microalga, desde poder adquirirla en polvo hasta en capsulas de gel. El atractivo principal radica en su nivel alto de proteínas, así como ser una fuente rica en vitaminas esenciales para el buen funcionamiento del cuerpo (Safi, 2014). Debido a que no todos los productos que pueden ser consumidos por la población celíaca cumplen con las expectativas nutricionales y sensoriales, se busca compensar esas propiedades añadiendo microalgas. La *Chlorella vulgaris* es reconocida por su excepcional contenido de proteínas y ácidos grasos esenciales (OMS, 2017), lo cual la hace una opción para contrarrestar la ausencia de estas en productos libres de gluten.

La implementación de un pre-fermento se centra en la finalidad de contrarrestar la carencia de una viscoelasticidad adecuada para generar un producto con un mayor índice de aceptabilidad. Los aditivos alimentarios brindan características similares a un producto elaborado con harina de trigo. El gluten es esencial en la panificación porque ayuda a la absorción del agua dando lugar a la característica elasticidad del pan blanco, esto deriva en un mejor volumen del producto final y da una mejor migaja lo cual se interpreta como una consistencia y dureza aceptables (Trejo, 2022). Incluso se ha investigado que, debido al pH del pre-fermento, se realiza en el consumidor un proceso de digestión más sencillo desde que comienza la masticación generando un aumento de salivación para comenzar el proceso de digestión (Castiblanco, 2020).

Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue incrementar las propiedades nutricionales de un pan sin gluten a base de pre-fermento y mejorar la aceptabilidad de los consumidores.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Formulación y crecimiento de pre-fermento

Se formuló un pre-fermento con proporciones de 2:1 de agua potable y harina de arroz integral, el pre-fermento se realizó en un frasco de vidrio cerrado herméticamente. Se integraron los ingredientes de manera homogénea (Tabla 1) y se realizó una limpieza a las paredes del recipiente para poder evaluar el proceso de fermentación. El pre-fermento se dejó cerrado a una temperatura de 22 a 26 °C. En 24 h se mezcló la masa para “refrescar” el pre-fermento, después de 24 h se realizó una “alimentación” integrando 50 g de harina y 100 g de agua, este proceso se realizó durante 48 h, al terminar este tiempo se realizó un mezclado para “refrescar” el pre-fermento y se continuaron con las alimentaciones al pre-fermento por las siguientes 48 h (Fig. 1) (Marqués, 2007).



**Figura 1.** Actividad de levaduras de pre-fermento en 48 h.

### Formulación y elaboración del pan

Se realizó una formulación para el pan blanco (Tabla 1) y se integró en proporción al contenido seco el 2%, 4% y 6% en cantidad de la microalga *C. vulgaris* lo cual se interpretaron como 4, 7 y 10 g respectivamente. Se utilizó un batidor de pedestal Hamilton Beach® 63266-MX, se inició mezclando los materiales secos incluyendo la microalga proporcional para cada tratamiento, después se agregaron los líquidos como el pre-fermento y el agua potable. Por último, se añadió la grasa, que fue el aceite de canola. Se realizó el amasado a máquina hasta una correcta integración de los ingredientes, se colocó la masa en los moldes respectivos (Fig. 2) y se realizó un fermento de 90 min a una temperatura de 24 a 26 °C. Una vez pasado el tiempo se llevaron los moldes al proceso de horneado (Glutendence, 2017).

**Tabla 1.** Formulación principal del pan sin gluten.

Ingredientes	g
Harina de trigo sarraceno*	50
Harina de arroz integral*	50
Almidón de maíz*	50
Fécula de papa*	16
<i>Plantago Syllium</i> *	6
Sal*	3

Goma Xantana*	4
Levadura	4
Agua	150
Aceite	24
Pre-Fermento	70

\*materiales secos para determinar proporción de microalga.



**Figura 2.** Masa en moldes antes de la fermentación

### **Horneado**

El proceso de horneado se realizó a 200 °C, se manejó un horneado con presencia de vapor colocando una charola doble sobre la bandeja en el segundo nivel del horno, esta bandeja se llenó de agua potable al momento del precalentamiento del horno. Una vez que el horno alcanzó los 200 °C se colocaron los moldes, pasados 15 min se retiró la bandeja con agua y se continuó el proceso por 30 min más.

### **Análisis del Perfil de Textura (TPA)**

Para el perfil de textura se utilizó el texturómetro TAX2i comprimiendo 20% de su altura original. Las muestras se comprimieron dos veces consecutivamente con el plato de compresión de 75 mm a una velocidad de 1.7 mm/s. Las evaluaciones de TPA se realizaron por triplicado para cada tratamiento (García Segovia, 2017).

### **Color**

Las lecturas de color se realizaron por triplicado para cada uno de los tratamientos con el colorímetro (SC20) SADT®, se colocaron las muestras en una base blanca para evitar factores que influyan en las lecturas, cubriendo por completo el perímetro del lector del disparo (García, 2017).

### **Actividad microbiana**

Se evaluó el poder fungicida que se adjudica a la *C. vulgaris* colocando en una incubadora las muestras a 25 °C durante 3 y 6 días para observar el crecimiento de hongos y el comportamiento correlacionado al contenido de algas proporcional (Danielli, 2015).

### **Proteína cruda**

Se pesó un gramo de muestra y se colocó la muestra en el matraz Kjeldahl, se le agregó selenio y perlas de vidrio. Posteriormente se agregó 30 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, se mezcló y se colocó el matraz en el digestor Kjeldahl. Después que se enfrió el matraz Kjeldahl se le agregó agua destilada y NaOH más un catalizador y se colocó en la parte superior para realizar la destilación, el nitrógeno se recibió en un matraz Erlenmeyer que contenía una solución de ácido bórico con indicador para observar el vire en el momento de la titulación. La titulación se realizó con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 N. Se analizó un testigo (sin muestra) y después se realizó la titulación de las muestras.

### Extracto etéreo

En un papel filtro se pesaron 3 g de muestra y se colocaron en un dedal de celulosa. Un matraz bola de fondo plano se mantuvo a peso constante registrando el peso en una bitácora. Al matraz se le agregaron 250 ml de hexano y se colocaron el dedal en el sifón Soxhlet, junto con el matraz bola del refrigerante y después de 8 h de reflujo constante se recuperó el solvente y se colocó en la estufa para tenerlo a peso constante pero ahora con muestra.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de TPA se muestran en la Tabla 2, éstos mostraron que los tratamientos fueron afectados por el contenido de microalga. La elasticidad y cohesividad no mostraron diferencia, lo que indica que el pan puede recuperarse después de la compresión. Sin embargo, la masticabilidad mostró un incremento conforme aumentó la concentración de la microalga, pero en el tratamiento de 6% disminuyó. Los tratamientos con 4 y 6% no presentaron valores de adhesividad, lo que indica que a mayores concentraciones de microalga va disminuyendo (González, Alvis & Arrázola, 2015). En la dureza se vio un incremento en comparación con el control, pero esta fue disminuyendo conforme se aumentó la concentración de microalga (Hleap & Velasco, 2010).

**Tabla 2.** Resultados de Análisis de Perfil de Textura.

Tratamiento	Dureza	Adhesividad	Elasticidad	Cohesividad	Gomosidad	Masticabilidad
Control	1365 ± 668 <sup>a</sup>	-20.2 ± 27.8 <sup>a</sup>	0.946 ± 0.029 <sup>a</sup>	0.830 ± 0.051 <sup>a</sup>	1141 ± 597 <sup>a</sup>	1083 ± 565 <sup>a</sup>
2%	1565 ± 684 <sup>a</sup>	-0.47 ± 0.34 <sup>a</sup>	0.895 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.802 ± 0.052 <sup>a</sup>	1254 ± 550 <sup>a</sup>	1123 ± 491 <sup>a</sup>
4%	2160 ± 690 <sup>a</sup>	-	0.968 ± 0.008 <sup>a</sup>	0.846 ± 0.043 <sup>a</sup>	1772 ± 522 <sup>a</sup>	1723 ± 491 <sup>a</sup>
6%	14480 ± 472 <sup>a</sup>	-	0.951 ± 0.021 <sup>b</sup>	0.835 ± 0.035 <sup>a</sup>	1217 ± 446 <sup>a</sup>	1158 ± 432 <sup>a</sup>

\* Superíndice en minúscula significa diferencia estadística significativa entre tratamientos en el mismo día de medición.

En la Tabla 3 se muestran los resultados del análisis colorimétrico según el espacio de color L\*a\*b\*. El tratamiento control manifestó un color naranja oscuro mayormente desaturado, mientras que las muestras con contenido de microalga demostraron un color naranja desaturado muy oscuro. Conforme aumentó el contenido de microalga, disminuyó la luminosidad en los panes, y el color verde y azul aumentan. Se notan ligeros cambios en los panes con contenido de microalga, pero de igual forma a comparación del control el color se ve severamente afectado.

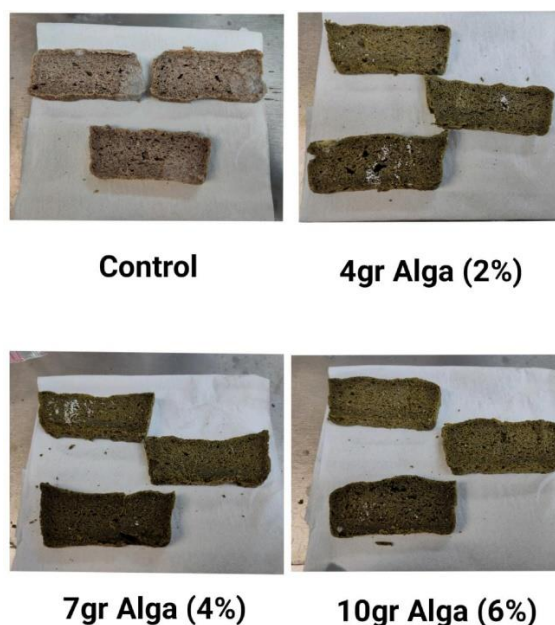
**Tabla 3.** Resultados de color de los tratamientos.

Tratamiento	L	a	b	C	H
Control	44.77 ± 2.26 <sup>a</sup>	4.77 ± 0.21 <sup>a</sup>	11.07 ± 0.35 <sup>b</sup>	11.33 ± 0.42 <sup>b</sup>	60.73 ± 5.86 <sup>b</sup>
2%	35.97 ± 0.65 <sup>b</sup>	2.17 ± 1.48 <sup>b</sup>	18.93 ± 1.81 <sup>a</sup>	19.13 ± 1.70 <sup>a</sup>	83.03 ± 4.67 <sup>a</sup>
4%	31.00 ± 3.08 <sup>b</sup>	2.40 ± 0.30 <sup>b</sup>	18.43 ± 1.36 <sup>a</sup>	18.60 ± 1.39 <sup>a</sup>	82.40 ± 0.62 <sup>a</sup>
6%	31.00 ± 2.46 <sup>b</sup>	3.00 ± 0.26 <sup>ab</sup>	16.90 ± 1.48 <sup>a</sup>	17.53 ± 2.06 <sup>a</sup>	79.87 ± 0.38 <sup>a</sup>

\* Superíndice en minúscula significa diferencia estadística significativa entre tratamientos en el mismo día de medición.

### Acción microbiana

Se tiene como antecedente que la *C. vulgaris* puede inhibir la actividad de los hongos y bacterias, esto puede ser reevaluado para considerarlo un conservante natural debido a esta característica. En la Figura 3 se muestran los tratamientos al tercer día, se encontró que mientras más se incrementa el contenido de microalgas se puede tener una acción antimicrobiana visible, no por completo, pero a comparación de la muestra de pan control si hay un cambio visible de manera significativa. Por último, se observa en la Figura 4 el comportamiento de crecimiento en la muestra con 10gr de alga (6%) al sexto día y la muestra control donde se puede analizar que si tiene una acción significativa como factor antimicrobiano el alga *C. vulgaris*.



**Figura 3.** Crecimiento microbiano a 25°C al tercer día.



**Figura 4.** Crecimiento microbiano a 25°C en el día 6, tratamiento control y 6%.

### Análisis bromatológico

**Tabla 4.** Resultados del análisis bromatológico.

Componente químico	Control	2%	4%	6%
Humedad (%)	1.13 ± 0.08	1.38 ± 0.01	1.09 ± 0.10	1.71 ± 0.02
Proteína	6.44 ± 5.58	9.74 ± 0.13	5.32 ± 4.61	5.08 ± 4.41
Grasa	7.41 ± 0.02	8.59 ± 0.08	8.09 ± 0.03	8.73 ± 0.06
Cenizas	97.41 ± 0.01	96.80 ± 0.07	97.14 ± 0.03	97.49 ± 0.04
Cenizas totales	2.59 ± 0.01	3.20 ± 0.07	2.86 ± 0.03	2.51 ± 0.04
Materia Seca total	98.87 ± 0.08	98.62 ± 0.01	98.91 ± 0.10	98.29 ± 0.02
Materia orgánica	97.41 ± 0.01	96.80 ± 0.07	97.14 ± 0.03	97.49 ± 0.04

Como se muestra en la tabla 4, los resultados del análisis bromatológico, se observa cómo hay una diferencia significativa en comparación del pan de control en diversos resultados, como se observan los resultados de la proteína se analizó que se tiene un incremento de proteína al incorporarle microalga lo cual resulta en un gran atractivo como sustituto para este tipo de productos que debido a su naturaleza no poseen un buen nivel de proteína, de igual forma se observa que el mayor nivel se manifestó en el pan con menor contenido en porcentaje, esto puede resultar atractivo debido a que es el pan con mejor contenido visual y de textura de las muestras analizadas. Se debe tomar a considerar como el contenido de grasa igual aumenta de manera en que aumenta el porcentaje de microalga. Los resultados concuerdan con los establecidos en la literatura. (Qazi *et.al.*, 2022)

### CONCLUSIÓN

Los resultados mostraron que al incorporar microalga a un pan sin gluten puede afectar según el porcentaje agregado en la textura y color. De igual forma se concluyó que el efecto del pre-fermento fue un factor clave en la capacidad de la viscoelasticidad del producto dado los resultados de elasticidad y cohesividad del análisis TPA. También la capacidad antimicrobiana nos indica que esta microalga puede ser utilizada como conservante natural en alimentos. A pesar de los buenos resultados obtenidos es recomendable continuar con la investigación en esta área para mejores resultados y en un futuro incorporar las microalgas con éxito a más productos alimenticios.

## BIBLIOGRAFÍA

- ASERCA. (2018). Trigo cereal más cultivado alrededor del mundo. Gobierno de México.
- Castiblanco, E. (2020). Procesos y técnicas de panificación. *PALMA Express*, 68-113.
- Danielli M.M. Dantas, Romero M.P.B. Costa, Carneiro-da-Cunha, M. G., Galvez, A. O., Drummond, A. R., & Bezerra, R. S. (2015). Bioproduction, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Compounds from *Chlorella vulgaris*. *Research & Reviews: Journal of Botanical Sciences*.
- El superalimento avalado por la OMS y la ONU» Aizea», consultoría en nutrición y seguridad alimentaria. (2017).
- Francisco Tejero - Asesoría Técnica en Panificación - El gluten en la panadería. (2022). Francisco Tejero - Asesoría Técnica En Panificación.
- García-Segovia, P., Pagán-Moreno, M. J., Lara, I. F., & Martínez-Monzó, J. (2017). Effect of microalgae incorporation on physicochemical and textural properties in wheat bread formulation. *Food Science and Technology International*, 23(5), 437-447.
- García-Segovia, P., Pagán-Moreno, M. J., Lara, I. F., & Martínez-Monzó, J. (2017). Effect of microalgae incorporation on physicochemical and textural properties in wheat bread formulation. *Food Science and Technology International*, 23(5), 437-447.
- González, A., Alvis, A., & Arrázola, G. (2015). Efecto del recubrimiento comestible en las propiedades de trozos de batata (*Ipomoea batatas* Lam) fritos por inmersión: Parte 1: Textura. *Información tecnológica*, 26(1), 95-102.
- Güemes Vera, N., Totosaus, A., Hernandez, J. F., Soto, S., & Aquino Bolaños, E. N. (2009). Propiedades de textura de masa y pan dulce tipo "concha" fortificados con proteínas de suero de leche. *Food Science and Technology*, 29(1), 70-75.
- Hleap, J. I., & Velasco, V. A. (2010). Análisis de las propiedades de textura durante el almacenamiento de salchichas elaboradas a partir de tilapia roja (*Oreochromis* sp.). *Bioteología en el Sector agropecuario y agroindustrial*, 8(2), 46-56.
- Marqués, C. B., Albiñana, M. L., & Lacueva, C. P. (2007). La masa madre: el secreto del pan. *Alimentaria*, 380, 51.
- Pan. (2017). Pan de masa madre sin gluten. Método sencillo. GLUTENDENCE.
- Peña, A. S., & Rodrigo Saez, L. (2013). Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca. *OmniaScience Monographs*.
- Qazi, M. W., de Sousa, I. G., Nunes, M. C., & Raymundo, A. (2022). Improving the nutritional, structural, and sensory properties of gluten-free bread with different species of microalgae. *Foods*, 11(3), 397.
- Sáez, M. L., García, R. Á. B., & Almendros, M. T. (2010). Enfermedad celiaca. *SESIONES HOSPITALARIAS 2011-2012 COMPLEJO HOSPITALARIO TORRECÁRDENAS*, 53.
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P. Y., & Vaca-García, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265-278.
- Von Atzingen, M. C., & Machado Pinto e Silva, M. E. (2005). Evaluación de la textura y color de almidones y harinas en preparaciones sin gluten. *CyTA-Journal of Food*, 4(5), 319-323.



## Análisis fitoquímico y evaluación antidiabética de los palmitos de *Chamaedorea tepejilote*

S. Fernández-Avalos<sup>1</sup>, A. Bernardino-Nicanor<sup>1</sup>, G. Teniente-Martínez<sup>1</sup>, J.M.S. Juárez-Goiz<sup>1</sup> y L. González-Cruz\*<sup>1</sup> <sup>1</sup> Departamento de Ingeniería Bioquímica, Tecnológico Nacional de México / IT de Celaya, Antonio García Cubas Pte #600 esq. Av. Tecnológico. Celaya, Gto. México, C. P. 38010.

\*[leopoldo.gonzalez@itcelata.edu.mx](mailto:leopoldo.gonzalez@itcelata.edu.mx)

### RESUMEN

En México el tepejilote es utilizado como alimento tradicional en el cual es consumido mediante tratamientos térmicos, sin embargo, algunas personas utilizan el tepejilote con fines farmacológicos para contrarrestar patologías como la diabetes, uno de los mecanismos importantes para la disminución de la glucosa postprandial en pacientes diabéticos es la inhibición de la enzima  $\alpha$ -amilasa, no obstante diversos estudios científicos han demostrado que ciertos metabolitos secundarios de las plantas medicinales pueden servir como inhibidores enzimáticos. Por lo tanto, en el presente trabajo se realizó un análisis fitoquímico de los extractos acuosos y hexánicos de los palmitos de tepejilote tratados térmicamente y sin tratamiento, se evaluó su participación en la inhibición de la enzima  $\alpha$ -amilasa, en el cual observamos que los metabolitos secundarios como flavonoides, cumarinas y quinonas son más abundantes en las muestras tratadas térmicamente, así como el contenido de fenoles totales es menor en la muestra sin tratamiento. Por otra parte, los extractos acuosos mostraron una inhibición de la enzima  $\alpha$ -amilasa, siendo las muestras tratadas térmicamente las que mostraron un mayor efecto inhibitorio al compararse con la muestra en crudo (38.67% de inhibición de  $\alpha$ -amilasa).

**Palabras clave:** Tepejilote, antidiabético,  $\alpha$ -amilasa, tratamientos térmicos, fitoquímicos.

### ABSTRACT

In Mexico, tepejilote is used as a traditional food in which it is consumed through thermal treatments, However, some people use tepejilote for pharmacological purposes to counteract pathologies such as diabetes, one of the important mechanisms for the reduction of postprandial glucose in diabetic patients is the inhibition of the enzyme  $\alpha$ -amylase, however, several scientific studies have shown that certain secondary metabolites of medicinal plants can serve as enzyme inhibitors. Therefore, in the present work we performed a phytochemical analysis of aqueous and hexanic extracts of fresh and heat-treated tepejilote palm hearts and evaluated their participation in the inhibition of the enzyme  $\alpha$ -amylase, in which we observed that secondary metabolites such as flavonoids, coumarins and quinones are more abundant in the heat-treated samples, as well as the content of total phenols is lower in the fresh sample. On the other hand, the aqueous extracts showed an inhibition of the enzyme  $\alpha$ -amylase, being the heat-treated samples the ones that showed a higher inhibitory effect when compared to the fresh sample (38.67% inhibition of  $\alpha$ -amylase).

**Key Words:** Tepejilote, antidiabetic,  $\alpha$ -amylase, thermal treatments, phytochemicals.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad el uso de plantas medicinales para el tratamiento de enfermedades sigue siendo alto; por lo tanto, uno de los temas de interés en la investigación científica es descubrir y comprobar las propiedades farmacológicas que puedan brindar las plantas en el ser humano. Debido a la gran diversidad de flora que existe, a la fecha no ha sido posible el estudiarla por completo; por lo que el hombre sólo ha descubierto ciertos beneficios de una minoría de plantas. En el presente trabajo se estudia la planta *Chamaedorea tepejilote* que es originaria del sur de México, América central y Colombia, se le conoce comúnmente como pacaya o tepejilote, en México se utiliza como alimento tradicional, en el cual generalmente lo consumen tratado térmicamente, por otra parte, algunas personas utilizan el tepejilote para el tratamiento de enfermedades como la diabetes (Robles & Carranza, 2013).

Debido a que el tepejilote es tratado térmicamente para su consumo, se han realizado investigaciones para verificar las modificaciones estructurales de algunos componentes nutricionales del tepejilote, en el cual dichas modificaciones estructurales podrían ser benéficas para generar moléculas bioactivas con interés terapéutico (Hernández-Castillo *et al.*, 2020) por otra parte, los tratamientos térmicos pueden ayudar a extraer componentes de interés en la matriz alimenticia y así verse intensificada su propiedad biológica en el organismo.

Uno de los mecanismos de acción para disminuir los niveles de glucosa en sangre es inhibir la actividad de la enzima  $\alpha$ -amilasa, responsable de la descomposición del almidón en azúcares más simples (Probhakar & Doble, 2011). A ello contribuyen los inhibidores de la  $\alpha$ -amilasa como la acarbosa, que retrasan la tasa de absorción de la glucosa, manteniendo así la glucemia sérica en individuos hiperglucémicos (Wadkar *et al.*, 2008). Diversos estudios científicos han demostrado que algunos fitoquímicos pueden estar involucrados en la inhibición de la  $\alpha$ -amilasa de modo que tienen potencial para contribuir en la fisiopatología de la diabetes (Ranilla *et al.*, 2010). Por lo tanto, en el presente trabajo se realizó un análisis fitoquímico de los extractos acuosos y hexánicos de los palmitos del tepejilote tratado térmicamente y sin tratamiento, con la finalidad de identificar la presencia de metabolitos secundarios, se determinó la participación de los extractos acuosos de los palmitos de tepejilote en la inhibición de  $\alpha$ -amilasa evaluando el efecto de los tratamientos térmicos en la actividad antidiabética, de igual forma se analizaron las harinas (muestras pulverizadas) sin extracción previa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

El tepejilote fue obtenido en un mercado local de Tapachula, Chiapas, México; En el laboratorio se eliminaron las brácteas y raquis de la parte comestible obteniendo sólo los palmitos de tepejilote (Fig. 1) en el cual se cortaron y empaquetaron en bolsas al vacío.



**Figura 1.** Parte comestible del tepejilote. A) Palmito, B) Inflorescencias masculinas.

### Tratamientos térmicos

Hervido: 300 g de palmitos de tepejilote se empaquetaron en una bolsa de PVC y se colocaron en un baño de agua a 90 ° C durante 15 min.

Vapor a presión elevada: una muestra de palmitos de tepejilote (300 g) en bolsa de PVC se colocó en una olla a presión y se sometió al vapor durante 15 minutos a 125° C a una presión de 124.106 Pa.

Microondas: se colocó una muestra de 300 g de tepejilote en un horno de microondas alimentado a 1500 W y con una frecuencia de 2450 MHz durante 15 min.

### Preparación de extractos

Las muestras tratadas térmicamente y una muestra sin tratamiento fueron liofilizadas, posteriormente se molieron en un mortero y tamizaron. Se realizó una disolución de harina-disolvente (agua o hexano) con una relación de 1:20 de cada muestra tratada térmicamente y la muestra sin tratamiento, se dejaron en agitación por 24 h, transcurrido este tiempo se filtraron al vacío, para los extractos hexánicos se eliminó el disolvente en un rotavapor, en el caso de los extractos acuosos se liofilizaron, las muestras obtenidas fueron almacenadas a 4°C para su posterior análisis.

### Análisis fitoquímico

El análisis fitoquímico se llevó a cabo siguiendo los procedimientos de Bañuelos-Valenzuela y colaboradores (2018) con algunas modificaciones, los metabolitos que se analizaron fueron saponinas (prueba de espuma), flavonoides (NaOH 2N), Quinonas (test de Borntrager), Glucósidos cardiacos (test de Baljet), Terpenoides (test de Liebermann-Burchard), cumarinas (NaOH 10%) y taninos (FeCl 5%).

### Determinación del contenido de fenoles totales

Se llevó a cabo la técnica de Follin-Ciocalteau siguiendo la metodología de Ganeshpurkar y colaboradores (2013). Paralelamente se realizó una curva patrón de ácido gálico en concentraciones de 0 a 0.005 mg/mL, los resultados se expresaron como µg de GAE/g de extracto.

### Evaluación de la actividad inhibidora de la enzima $\alpha$ -amilasa

Siguiendo la metodología de Nair y colaboradores (2013) se incubaron 20 µl de la enzima  $\alpha$ -amilasa con 200 µL de muestra a 250 µg/mL y 500 µg/mL por 20 min a 25°C, se añadió almidón soluble como sustrato en el cual se dejó incubar por 10 min, posterior a ello se añadió 400 µL del reactivo DNS y se dejó incubar por 5 min en un baño de agua a 85°C- 96°C. La mezcla se diluyó con 15 mL de agua destilada y se leyó la absorbancia a 540 nm, como control negativo se utilizó agua destilada y como control positivo acarbosa a 250 µg/mL y 500 µg/mL

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis fitoquímico de los extractos acuosos y hexánicos de los palmitos de tepejilote

El análisis fitoquímico de los extractos acuosos y hexánicos de los palmitos de tepejilote mostraron presencia de metabolitos secundarios en el cual las quinonas, flavonoides, cumarinas y fenoles se mostraron en mayor abundancia en ambos extractos como se observa en la Tabla I y II. También se puede observar que tanto en los extractos acuosos y hexánicos no hubo presencia de glucósidos y taninos, comparando con otras plantas de la misma familia *Aracaceae*, Vanaja y colaboradores (2016) también reportan la ausencia de taninos de los extractos acuosos y hexánicos de *Rhapis excelsa*.

**Tabla I.** Metabolitos secundarios identificados en los extractos acuosos de palmitos de tepejilote en diferentes tratamientos

Metabolito	Muestra			
	Sin tratamiento	Microondas	Hidrotérmico	Vapor a presión elevada
Saponinas	-	+	+	+
Flavonoides	+	++	+	++
Quinonas	++	+++	++	+++
Glucósidos	-	-	-	-
Glucósidos Cardiacos	-	-	-	-
Terpenoides	+	+	+	+
Cumarinas	++	++	+	++
Taninos	-	-	-	-
Fenoles	++	++	+++	+++

-, ausente; +, ligeramente presente; ++, abundante; +++, muy abundante

Por otra parte, en la identificación de flavonoides, quinonas, fenoles y cumarinas estos son más abundantes en las muestras tratadas térmicamente, en el cual los tratamientos térmicos pueden ayudar a la liberación de dichos metabolitos secundarios, Kadja y colaboradores (2020) reportan un aumento de cumarinas de sus extractos hexánicos de *Cocos nucifera* en sus muestras tratadas térmicamente a 50 y 70° C, en el cual mencionan que el aumento de la temperatura favorece la extracción de dichos compuestos, cabe mencionar que *Cocos nucifera* también pertenece a la familia *Aracaceae*.

**Tabla II.** Metabolitos secundarios identificados en los extractos hexánicos de palmitos de tepejilote en diferentes tratamientos

Metabolito	Muestra			
	Fresco	Microondas	Hidrotérmico	Vapor a presión elevada
Saponinas	+	+++	-	+
Flavonoides	+	++	+++	++
Quinonas	++	+	+++	+++
Glucósidos	-	-	-	-
Glucósidos Cardiacos	-	-	-	-
Terpenoides	+	+	++	++
Cumarinas	-	+	+++	++
Taninos	-	-	-	-
Fenoles	+	++	++	++

-, ausente; +, ligeramente presente; ++, abundante; +++, muy abundante

### Contenido de fenoles totales

Al determinar la concentración de fenoles totales en los extractos hexánicos (Tabla III) se observó una diferencia muy significativa comparando los tratamientos hidrotérmico, vapor a presión elevada con la muestra sin tratamiento ( $P < 0.001$ , ANOVA de una vía, seguida de una Prueba de Tukey), el tratamiento con microondas también mostró una mayor cantidad de fenoles, por lo tanto, la concentración de fenoles totales en todos los tratamientos térmicos aumentó considerablemente.

**Tabla III.** Concentración de fenoles totales de los extractos hexánicos de palmitos de tepejilote

Muestra	$\mu\text{g EAG/g de extracto}$
Sin tratamiento	197.71 <sup>a</sup> $\pm$ 22.21
Microondas	330.04 <sup>b</sup> $\pm$ 42.50
Hidrotérmico	629.16 <sup>c</sup> $\pm$ 10.00
Vapor a presión elevada	660.30 <sup>c</sup> $\pm$ 29.15

Media de tres repeticiones  $\pm$  D.E. Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ ).

En los extractos acuosos del tepejilote, todos los tratamientos térmicos mostraron una diferencia significativa al compararse con la muestra sin tratamiento (Tabla IV), siendo el tratamiento hidrotérmico el que mostró una diferencia muy significativa ( $P < 0.001$ , ANOVA de una vía seguida de una Prueba de Tukey). En el cual fue un comportamiento similar al de los extractos hexánicos.

**Tabla IV.** Concentración de fenoles de los extractos acuosos de palmitos de tepejilote

Muestra	$\mu\text{g EAG/g de extracto}$
Sin tratamiento	14340.17 <sup>a</sup> $\pm$ 38.52
Microondas	14518.09 <sup>b</sup> $\pm$ 66.72
Hidrotérmico	14851.68 <sup>c</sup> $\pm$ 66.72
Vapor a presión elevada	14651.53 <sup>d</sup> $\pm$ 66.72

Media de tres repeticiones  $\pm$  D.E. Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ ).

Nuestros resultados confirman lo demostrado por otros autores, referente a que los tratamientos térmicos aumentan la liberación de algunos componentes fitoquímicos en este caso de fenoles en muestras vegetales. Esto se debe a que algunos tratamientos térmicos, como vapor a presión elevada e hidrotérmico provocan que las pectinas de la lámina media de la pared celular se solubilizan, provocando que la pared perteneciente de la célula vegetal quede más sensible y permeable, generando de esta manera la fuga de material intercelular al exterior (Chaudhary *et al*, 2020).

### **Inhibición de la enzima $\alpha$ -amilasa de los extractos acuosos y las harinas sin extracción previa de los palmitos de tepejilote tratado térmicamente y sin tratamiento**

El tratamiento con mayor porcentaje de inhibición de  $\alpha$ -amilasa fue hidrotérmico, mostrando un 57.33%, siendo un porcentaje de inhibición mayor que acarbosa ( $P < 0.001$ , ANOVA de una vía seguida de una prueba de Tukey) como se observa en la Tabla V, de modo que confirmamos la participación de los extractos acuosos del tepejilote en la disminución de la glucosa postprandial, debido a su efecto inhibitorio contra  $\alpha$ -amilasa. Todos los tratamientos térmicos mostraron una diferencia muy significativa respecto a la muestra sin tratamiento ( $P < 0.001$ , ANOVA de una vía seguida de una prueba de Tukey), por lo tanto, los tratamientos térmicos aumentaron el efecto inhibitorio de  $\alpha$ -amilasa. Nuestros resultados se relacionan con lo reportado en otras investigaciones, se ha reportado un aumento de la actividad

inhibidora de  $\alpha$ -amilasa al tratar térmicamente al frijol, en el cual se reporta que la harina cruda del frijol tiene un 28% de inhibición y la harina con un tratamiento de tostado un 40% de inhibición de  $\alpha$ -amilasa (Moussou *et al.*, 2016).

**Tabla V.** Efecto de los extractos acuosos de tepejilote a una concentración de 250 y 500  $\mu\text{g/ml}$  sobre la inhibición de  $\alpha$ -amilasa

Muestra	Porcentaje (%) de inhibición de $\alpha$ -amilasa	
	250 $\mu\text{g/mL}$	500 $\mu\text{g/mL}$
Acarbosa (control positivo)	42.67 <sup>a</sup> $\pm$ 2.31	73.33 <sup>e</sup> $\pm$ 2.31
Sin tratamiento	38.67 <sup>a</sup> $\pm$ 2.31	70.67 <sup>e</sup> $\pm$ 2.31
Microondas	53.33 <sup>b,d</sup> $\pm$ 2.31	69.33 <sup>e</sup> $\pm$ 2.31
Hidrotérmico	57.33 <sup>d,c</sup> $\pm$ 2.31	85.33 <sup>f</sup> $\pm$ 2.31
Vapor a presión elevada	54.67 <sup>c,b</sup> $\pm$ 2.31	81.33 <sup>f</sup> $\pm$ 2.31

Media de tres repeticiones  $\pm$  D.E. Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ ).

Al utilizar una concentración de 500  $\mu\text{g/mL}$  se obtuvo un mayor porcentaje de inhibición en todas las muestras en comparación con la concentración de 250  $\mu\text{g/mL}$ , como se observa en la Tabla V, por lo que se considera que el efecto inhibitorio de  $\alpha$ -amilasa puede ser dependiente de la dosis. Nuestros resultados demuestran que los extractos acuosos de tepejilote inhiben eficazmente la actividad de la enzima  $\alpha$ -amilasa. Al utilizar el agua como disolvente, permitió la extracción de compuestos como polifenoles, flavonoides y terpenoides (Chelladurai & Chinnachamy, 2018), en el cual, pueden estar participando en la inhibición enzimática.

Por otra parte, al trabajar con las harinas de tepejilote sin una extracción previa, estas mostraron un porcentaje de inhibición de  $\alpha$ -amilasa menor en comparación con los extractos acuosos (Tabla VI), por lo tanto, comprobamos que las etapas de extracción son importantes, ya que para la obtención de los extractos acuosos las muestras pulverizadas se sometieron a un proceso de maceración por 24 h con agitación constante, seguida de una filtración al vacío y por último a un proceso de liofilizado, en el cual estos procesos son importantes para una correcta extracción de los compuestos fitoquímicos que estén participando en la inhibición enzimática; sin embargo, los porcentajes de inhibición de  $\alpha$ -amilasa en las harinas sin extracción fueron también muy favorables, ya que las muestras de tepejilote tratadas térmicamente mostraron un porcentaje de inhibición de  $\alpha$ -amilasa similar a acarbosa, lo que comprueba que el tepejilote tiene una participación importante en la patología de la diabetes.

**Tabla VI.** Efecto de las harinas de tepejilote sin extracción previa a una concentración de 250 y 500 µg/ml sobre la inhibición de α-amilasa.

Muestra	Porcentaje (%) de inhibición de α-amilasa	
	250 µg/mL	500 µg/mL
Acarbosa (control positivo)	42.67 <sup>a,d</sup> ± 2.31	73.33 <sup>a</sup> ± 2.31
Sin tratamiento	25.33 <sup>b</sup> ± 2.31	40.00 <sup>b</sup> ± 2.31
Microondas	49.33 <sup>d,c</sup> ± 2.31	54.67 <sup>c</sup> ± 2.31
Hidrotérmico	54.67 <sup>e,d</sup> ± 2.31	66.67 <sup>d,a</sup> ± 2.31
Vapor a presión elevada	46.67 <sup>c,a</sup> ± 2.31	69.33 <sup>d,a</sup> ± 2.31

Media de tres repeticiones ± D.E. Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ ).

## CONCLUSIÓN

Los extractos acuosos de los palmitos de tepejilote muestran una elevada actividad inhibidora de la enzima α-amilasa, por lo tanto, tienen potencial para contribuir en el tratamiento de la diabetes. Los tratamientos térmicos de microondas, hidrotérmico y vapor a presión elevada aumentaron la actividad antidiabética de los palmitos de tepejilote. Por lo tanto, se considera que el tepejilote es un alimento funcional, ya que además de su aporte nutrimental que brinda en el organismo puede generar un efecto antidiabético y dicho efecto puede verse aumentado por los tratamientos térmicos que se utilizan para su consumo. Los compuestos fitoquímicos del tepejilote como polifenoles aumentan considerablemente debido a los tratamientos térmicos, dichos compuestos pueden ser los responsables de la inhibición enzimática, sin embargo, es importante realizar una técnica de identificación específica de los compuestos responsables de la actividad antidiabética del tepejilote, así como realizar una técnica in vivo para complementar con nuestros resultados obtenidos respecto a la inhibición de α-amilasa.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bañuelos-Valenzuela, R., Delgadillo-Ruiz, L., Echavarría-Cháirez, F., Delgadillo-Ruiz, O., & Meza-López, C. (2018). Composición química y FTIR de extractos etanólicos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisa ludoviciana* y *Ruta graveolens*. *Agrociencia*, 52 (3), 309-321.
- Chaudhary, N., Sabikhi, L., Hussain, S. A., & Kumar M H, S. (2020). A comparative study of the antioxidant and ACE inhibitory activities of selected herbal extracts. *Journal of Herbal Medicine*, 22, 100343. DOI: 10.1016/j.hermed.2020.100343.
- Chelladurai, G. R. M., & Chinnachamy, C. (2018). Alpha amylase and Alpha glucosidase inhibitory effects of aqueous stem extract of *Salacia oblonga* and its GC-MS analysis. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54(1). <https://doi.org/10.1590/s2175-9790201800011715>.
- Ganeshpurkar, A., Bhardwaj, Y., & Diwedi, V. (2013). In vitro α -amylase and α-glucosidase inhibitory potential of *Trigonella foenum-graecum* leaves extract. *AYU (An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda)*, 34(1), 109. DOI: 10.4103/0974-8520.115446.
- Hernández-Castillo, J. B. E., Bernardino-Nicanor, A., Vivar-Vera, M. D. L. Á., Montañez-Soto, J. L., Teniente-Martínez, G., Juárez-Goiz, J. M. S., & González-Cruz, L. (2020). Modifications of the protein characteristics of pacaya caused by thermal treatment: A spectroscopic, electrophoretic and morphological study. *Polymers*, 12(5), 1016.

- Kadja, A. B., Atsain-Allangba, R. M., Kouadio, K. B., Mamyrbékova-Békro, A. J., y Yves-Alain, B. (2020). Influence of temperature on the phytochemical composition and the antioxidant and anticariogenic activities of extracts from the husk of the fruit of *Cocos nucifera* L. (Arecaceae). *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 12(2), 179–187. Doi:10.30574/gscbps.2020.12.2.0265.
- Moussou, N., Corzo-Martínez, M., Sanz, M. L., Zaidi, F., Montilla, A., & Villamiel, M. (2016). Assessment of Maillard reaction evolution, prebiotic carbohydrates, antioxidant activity and  $\alpha$ -amylase inhibition in pulse flours. *Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 890–900. DOI: 10.1007/s13197-016-2298-5.
- Nair, S. S., Kavrekar, V., & Mishra, A. (2013). In vitro studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts. *European Journal of Experimental Biology*, 3(1), 128-132.
- Prabhakar, P. K., & Doble, M. (2011). Mechanism of action of natural products used in the treatment of diabetes mellitus. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 17(8), 563–574. DOI: 10.1007/s11655-011-0810-3.
- Ranilla, L. G., Kwon., Apostolidis, E., & Shetty, K. (2010). Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresource Technology*, 101(12), 4676–4689. DOI:10.1016/j.biortech.2010.01.093.
- Robles, R. D. J., y Carranza, S. E. R. (2013). Actividad hipoglucemiante de *Chamaedorea tepejilote* Liebm. (pacaya). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(1), 27-33.
- Vanaja., & Kavitha. S. (2016). A study on phytochemicals, antioxidant activity and ft-ir analysis of *rhapis excelsa* (thunb.) a. Henry. *European journal of pharmaceutical and medical research*, 3(7), 390-394.
- Wadkar, K. A., Magdum, C.S., Patil, S.S., & Naikwade N.S. (2008). Anti-diabetic potential and Indian medicinal plants. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, 2 (1), 45-50.



## Obtención de fermentados de chía con actividad antihipertensiva

H. Atonal-Sánchez\*<sup>1</sup> y S. Luna-Suárez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada – Instituto Politécnico Nacional, Carretera estatal Santa Inés Tecuexcomac – Tepetitla km 1.5, C.P. 90700, Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, México.

\*[silvials2004@yahoo.com.mx](mailto:silvials2004@yahoo.com.mx)

### RESUMEN

La presencia de compuestos bioactivos en los alimentos ha tomado una gran relevancia, ya que se ha visto que contienen propiedades antioxidantes, antihistamínicas, anticancerígenas, antihipertensivas, etc., que podemos aprovechar para mejorar la salud. Sin embargo, es necesario extraerlos de la fuente original. En este trabajo vamos a mostrar como una fermentación de harina de chía con bacterias del género *Lactococcus* ayuda a liberar compuestos con actividad antihipertensiva ya que tienen la facultad de inhibir la actividad de la enzima convertidora de angiotensina ECA (una de las enzimas responsables de elevar la presión arterial).

**Palabras clave:** Antihipertensivo, ECA, *Lactococcus*, *Salvia hispánica*, Chía.

### ABSTRACT

The presence of bioactive compounds in food has taken relevance, since it has been seen that they contain antioxidant, antihistamine, anticancer, antihypertensive, etc., properties that we can take advantage to improve health. However, it is necessary to extract them from the original source. In this work we are going to show how a fermentation of chia flour with bacteria of the *Lactococcus* gender helps to release compounds with antihypertensive activity. Because they could inhibit the activity of the angiotensin converting enzyme (ACE) (one of the enzymes responsible for raising up the blood pressure).

### INTRODUCCIÓN

La semilla de la chía ha sido considerada por miles de años como un alimento, contiene una gran cantidad de omega 3 (ácidos  $\alpha$ -linolenico), proteínas, fosforo, magnesio, potasio, hierro, cobre y zinc, con concentraciones tres veces mas altas que alimentos como las espinacas, vegetales y leche, además de antioxidantes, vitaminas y fibra (Segura-campos et al., 2016), lo que la convierte en un alimento multifacético. También es considerada una fuente capaz de controlar la glucosa en el organismo por su contenido de ácido rosmarínico, compuesto relacionado con efectos hipoglucémicos (Enes et al., 2020). La liberación de compuestos bioactivos específicos es muy compleja, ya que se requiere de una herramienta tan habil para distinguir de entre todos los compuestos que existen naturalmente en la fuente de obtención. Esto no se podría lograr por métodos puramente químicos o físicos, es decir, liberación por medios ácidos, altas presiones o temperaturas. Sin embargo, la naturaleza misma nos brinda esta herramienta. Nos referimos a los microorganismos, los cuales son capaces de liberar estos compuestos de interés, sin la necesidad de recurrir a realizar pasos tan costosos para su liberación. Las bacterias ácido lácticas son comúnmente usadas en el tratamiento de alimentos ya que se caracterizan por tener un sistema proteolítico capaz de poder liberar dichos compuestos. Esta propiedad de las bacterias ya ha sido probada y una gran variedad de productos fermentados las usan en su producción (Raveschot et al., 2020). Esto las convierte en mejor alternativa para realizar esta tarea.

Así, en este trabajo se hicieron fermentaciones de harina de chía utilizando *Lactococcus* sp y se analizó la actividad inhibitoria sobre la enzima convertidora de angiotensina.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Obtención de harina de chía**

Una muestra de chía comprada en la región Puebla, México, se trituró con ayuda de un molino de aspas a alta velocidad por 5 minutos, posteriormente se tamizó usando un tamiz Mont Inox® de 841µm de tamaño de poro.

#### **Determinación proximal de la composición de la harina de chía**

Este análisis se realizó con el objetivo de conocer principalmente la cantidad de proteína y carbohidratos presentes en esta harina para emular las características que los medios comerciales como el medio de Man Rogosa & Sharpe tienen (Aguirre et al., 2014). Los compuestos a evaluar fueron: ceniza, humedad, lípidos, fibra, proteína y por diferencia, carbohidratos. Para estos se utilizaron las técnicas del AOAC (AOAC, 1984).

#### **Fermentación de la harina de chía con *Lactococcus* sp.**

Una vez conocida la composición de la harina, se buscó semejar la cantidad de proteína y carbohidratos presente en el medio comercial MS o en el medio M17.

Se preparó el medio de cultivo utilizando harina de chía, sacarosa y agua.

Posteriormente se inoculó el medio con el 5.5% de un preinóculo fresco de 12h de crecimiento de *Lactococcus* sp en medio M17.

La fermentación se llevó a cabo en matraz Erlenmeyer de 2L a 37°C por 48h con una agitación de 150rpm, se tomaron muestras a las 0, 24 y 48 h de fermentación.

A las diferentes muestras tomadas de la fermentación se les determinó la concentración de proteínas, y se evaluó la actividad inhibitoria sobre la ECA.

#### **Cuantificación de proteína presente en el fermentado de harina de chía**

Para este ensayo utilizamos el ácido bicinonónico (BCA) que nos ayuda a cuantificar la cantidad de proteína total presente, es una prueba colorimétrica donde la muestra con BCA tiene un color purpura que cambia en función de la concentración de proteína total. Se usó la técnica reportada por (Cortés-Ríos et al., 2020). Para ello se realizó una curva de calibración con concentraciones conocidas de BCA y se compararon las lecturas obtenidas por espectrofotometría medidas a 562nm.

#### **Determinación de la actividad inhibitoria sobre la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) en fermentados de harina de chía**

En esta técnica se usó como sustrato HHL el cual en presencia de la enzima (ECA) libera ácido hipúrico, en presencia de algún inhibidor la actividad disminuye. Se utilizó la técnica reportada por (Cushman & Cheung, 1971). La absorbancia se leyó a 492nm

Se utilizó la siguiente ecuación para determinar el porcentaje de inhibición.

$$\% \text{inhibición} = 100 * \left( \frac{B-A}{B-C} \right)$$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición bromatológica general de la semilla de chía se muestra en la tabla 1.

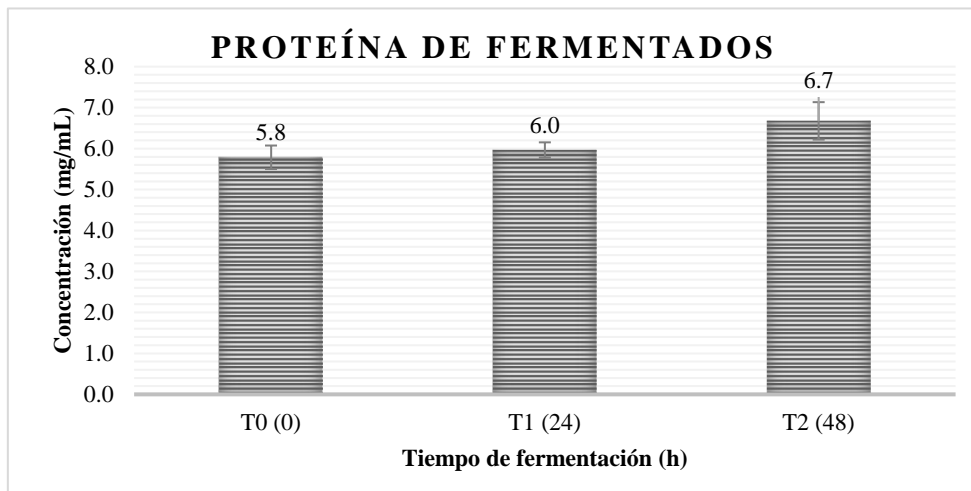
**Tabla I.** Composición general de la semilla de chía utilizada

Componente	%	(+/-)
Proteína	23.3	0.5
Lípidos	8.3	0.3
Fibra	12.3	1.2
Humedad	3.6	0.2
Cenizas	4.3	0.1
Carbohidratos	48.0	2.2

Los resultados obtenidos son similares a lo reportado por (Ding et al., 2018) quienes reportan 56% de carbohidratos en la semilla, similares a (Ayerza et al., 2002) que reportan 10% de contenido de lípidos totales. Estos datos nos indican también que esta semilla tiene un aporte proteico mayor que la leche, ya que (El Khoury et al., 2019) reporta solo un 3.1%.

### **Proteína de fermentados de chía.**

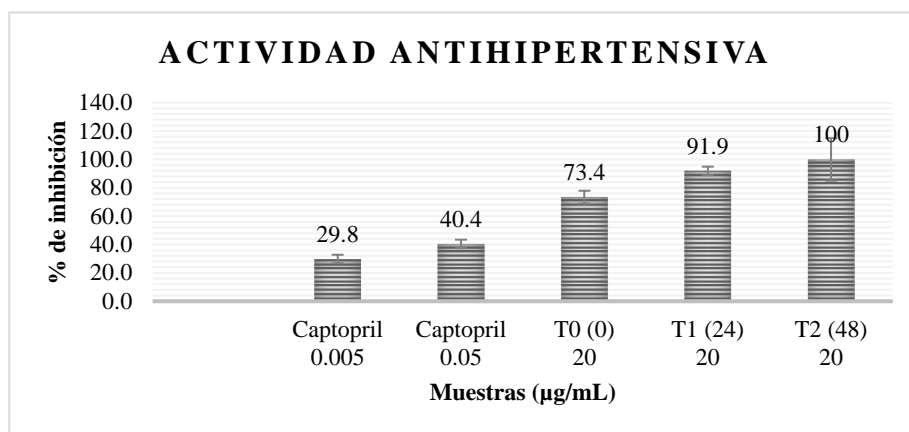
En la figura 1 se muestran los resultados de la concentración obtenida en los tres tiempos de fermentación que se muestrearon. Se puede observar que éste contenido se mantiene constante a lo largo del tiempo, lo que nos puede indicar que la proteína no está siendo consumida en gran medida por la bacteria.



**Figura 1.** Concentración de proteína en los diferentes tiempos de fermentación de la harina de chía.

### Actividad antihipertensiva de fermentados

En la figura 2 se muestran los resultados de la actividad inhibitoria de los diferentes tiempos de fermentación de la harina de chía. Se tomó como control el medicamento captopril. Los resultados indican que, al pasar el tiempo de fermentación aumenta la actividad inhibitoria frente a la ECA, esto nos puede indicar que la bacteria utilizada (*Lactococcus* sp) posee enzimas que pueden escindir algunos enlaces peptídicos de secuencias de proteínas de la semilla de chía y que probablemente se estén liberando algunos péptidos que tienen la capacidad de inhibir a la ECA. Los resultados encontrados son similares a los reportados por o mejores a los reportados por (Segura-campos et al., 2016) que reportan un IC50 de 8.86µg/mL, esto utilizando enzimas comerciales para la obtención de los hidrolizados de chía. Los valores obtenidos son mejores a los reportados por (Baba et al., 2021) que reportó un IC50 de 197µg/mL para hidrolizados de proteína de camello con pepsina.



**Figura 2.** Actividad antihipertensiva in vitro de los fermentados de chía mediante *Lactococcus* sp

## CONCLUSIÓN

La fermentación de semillas de chía con *Lactococcus* sp tiene efecto positivo en la actividad antihipertensiva. En las muestras tomadas a las 24 y 48 horas de fermentación se obtiene la mejor actividad, incluso en la muestra a las 48 horas se logra inhibir por completo la actividad de la enzima, Otro punto importante a destacar es que, no solamente este producto fermentado tiene actividad antihipertensiva, además de ello contiene otros compuestos como proteína, vitaminas, antioxidantes, entre otros. Lo que convierte a este producto en un alimento nutracéutico.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, L., Hebert, E. M., Garro, M. S., & Savoy de Giori, G. (2014). Proteolytic activity of *Lactobacillus* strains on soybean proteins. *LWT - Food Science and Technology*, *59*(2P1), 780–785. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.061>
- Ayerza, R., Coates, W., & Lauria, M. (2002). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) as an  $\omega$ -3 fatty acid source for broilers: Influence on fatty acid composition, cholesterol and fat content of white and dark meats, growth performance, and sensory characteristics. *Poultry Science*, *81*(6), 826–837. <https://doi.org/10.1093/ps/81.6.826>
- Baba, W. N., Baby, B., Mudgil, P., Gan, C. Y., Vijayan, R., & Maqsood, S. (2021). Pepsin generated camel whey protein hydrolysates with potential antihypertensive properties: Identification and molecular docking of antihypertensive peptides. *Lwt*, *143*(February), 111135. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111135>
- Bradstreet, R. B. (1940). A review of the kjeldahl determination of organic nitrogen. *Chemical Reviews*, *27*(2), 331–350. <https://doi.org/10.1021/cr60087a002>
- Cortés-Ríos, J., Zárate, A. M., Figueroa, J. D., Medina, J., Fuentes-Lemus, E., Rodríguez-Fernández, M., Aliaga, M., & López-Alarcón, C. (2020). Protein quantification by bicinchoninic acid (BCA) assay follows complex kinetics and can be performed at short incubation times. *Analytical Biochemistry*, *608*(July). <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.113904>
- Cushman, D. W., & Cheung, H. S. (1971). Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*, *20*(7), 1637–1648. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(71\)90292-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(71)90292-9)
- Ding, Y., Lin, H. W., Lin, Y. L., Yang, D. J., Yu, Y. S., Chen, J. W., Wang, S. Y., & Chen, Y. C. (2018). Nutritional composition in the chia seed and its processing properties on restructured ham-like products. *Journal of Food and Drug Analysis*, *26*(1), 124–134. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.12.012>
- El Khoury, D., Vien, S., Sanchez-Hernandez, D., Kung, B., Wright, A., Goff, H. D., & Anderson, G. H. (2019). Increased milk protein content and whey-to-casein ratio in milk served with breakfast cereal reduce postprandial glycemia in healthy adults: An examination of mechanisms of action. *Journal of Dairy Science*, *102*(8), 6766–6780. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16358>
- Enes, B. N., Moreira, L. de P. D., Toledo, R. C. L., Moraes, É. A., Moreira, M. E. de C., Hermsdorff, H. H. M., Noratto, G., Mertens-Talcott, S. U., Talcott, S., & Martino, H. S. D. (2020). Effect of different fractions of chia (*Salvia hispanica* L.) on glucose metabolism, in vivo and in vitro. *Journal of Functional Foods*, *71*(December 2019). <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104026>
- Fitzpatrick, J. J., & Bremenkamp, I. (2019). Investigation of the effect of time on the humidity caking of food powder binary mixes using a cake strength tester and visual techniques. *Journal of Food Engineering*, *263*(June), 195–203. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.06.021>
- Lee, S. C., Prosky, L., & Vries, J. W. De. (1992). Determination of Total, Soluble, and Insoluble Dietary Fiber in Foods—Enzymatic-Gravimetric Method, MES-TRIS Buffer: Collaborative Study.

- Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 75(3), 395–416. <https://doi.org/10.1093/jaoac/75.3.395>
- Leng, L., Bogush, A. A., Roy, A., & Stegemann, J. A. (2019). Characterisation of ashes from waste biomass power plants and phosphorus recovery. *Science of the Total Environment*, 690, 573–583. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.312>
- Raveschot, C., Cudennec, B., Deracinois, B., Frémont, M., Vaeremans, M., Dugersuren, J., Demberel, S., Drider, D., Dhulster, P., Coutte, F., & Flahaut, C. (2020). Proteolytic activity of *Lactobacillus* strains isolated from Mongolian traditional dairy products: A multiparametric analysis. *Food Chemistry*, 304(April 2019), 125415. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125415>
- Schmid, M., Guihéneuf, F., & Stengel, D. B. (2016). Evaluation of food grade solvents for lipid extraction and impact of storage temperature on fatty acid composition of edible seaweeds *Laminaria digitata* (Phaeophyceae) and *Palmaria palmata* (Rhodophyta). *Food Chemistry*, 208, 161–168. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.123>
- Segura-campos, M. R., Chel-guerrero, L. A., Rosado-rubio, J. G., & Betancur-ancona, D. A. (2016). Functional Properties of Traditional Foods. *Functional Properties of Traditional Foods*, 199–206. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7662-8>

## Evaluación de metabolitos de interés en barra de chocolate (*Theobroma cacao*) adicionada con jengibre

Y.I.S. López-Haro<sup>1</sup>, R. Cruz-Muñoz<sup>1,2</sup>, T.J. Ariza-Ortega<sup>1</sup> y N.R. Román-Cortés\*<sup>1</sup>

**1** Universidad Politécnica del Valle de México, División de Ingeniería en Nanotecnología, Laboratorio de Tecnología de Alimentos, Av. Mexiquense s/n esquina Av. Universidad Politécnica, Col. Villa Esmeralda, C.P. 54910, Tultitlán, Estado de México, México. **2** Universidad Mexiquense del Bicentenario, Unidad de Estudios Superiores Tultitlán, Laboratorio de Investigación, San Antonio s/n, Villa Esmeralda, 54910 Tultitlán de Mariano Escobedo, Estado de México, México. \*[romco\\_dsr@hotmail.com](mailto:romco_dsr@hotmail.com)

### RESUMEN

La elevada prevalencia de sobrepeso y obesidad y algunas enfermedades derivadas de éstas como la diabetes presentes en la población, son resultado de un ambiente obesogénico, por lo que es necesario la implementación de alimentos nutraceuticos. En las últimas décadas se han realizado estudios de los productos obtenidos del grano del cacao que han demostrado que aportan energía y son ricos en antioxidantes y poseen propiedades antiinflamatorias debido a su contenido de flavonoides; de la misma forma que estudios acerca del jengibre han demostrado que contiene gingerol, compuesto responsable de los efectos antiinflamatorios, antimicrobianos, hipoglucémicos anticancerígenos, antioxidantes y desintoxicantes de este alimento. Este proyecto planteó el objetivo de evaluar el contenido de fenoles, flavonoides y antocianinas de barras de chocolate adicionadas con jengibre con y sin azúcar, como una propuesta de alimento funcional dirigido a la población anteriormente mencionada. Para ello se realizaron barras de chocolate con jengibre en diferentes concentraciones, de ellas se obtuvieron extractos metanólicos con la finalidad de cuantificar mediante métodos estandarizados la cantidad de metabolitos de interés; resultando que las muestras contienen hasta:  $1.390 \pm 0.127$  mg  $100\text{g}^{-1}$  p.f. de antocianinas,  $50.969 \pm 0.876$  mg  $100\text{g}^{-1}$  p.f. y  $623.492 \pm 4.832$  mg  $100\text{g}^{-1}$  p.f. de fenoles.

**Palabras clave:** Cacao, jengibre, chocolate, antocianinas, flavonoides, fenoles.

### ABSTRACT

The overweight and obesity prevalence and some common diseases derived such as diabetes present in the population, are the result of an obesogenic environment, for which the implementation of nutraceutical foods is necessary. In the last decades, studies have been carried out on the products obtained from the cocoa bean, which have shown that they provide energy and are rich in antioxidants and have anti-inflammatory properties due to their flavonoid content; in the same way, that studies on ginger have shown that it contains gingerol, a compound responsible for the anti-inflammatory, antimicrobial, hypoglycemic, anticancer, antioxidant and detoxifying effects of this food. This project raised the objective of evaluating the content of phenols, flavonoids and anthocyanins of chocolate bars added with ginger with and without sugar, as a functional food proposal aimed at the aforementioned population. For this, chocolate bars with ginger were made in different concentrations, from which methanolic extracts were obtained in order to quantify the amount of metabolites of interest by means of standardized methods; resulting in samples containing up to:  $1.390 \pm 0.127$  mg  $100\text{g}^{-1}$  f.w. of anthocyanins,  $50.969 \pm 0.876$  mg  $100\text{g}^{-1}$  f.w. and  $623.492 \pm 4.832$  mg  $100\text{g}^{-1}$  f.w. of phenols.

**Keywords:** Cocoa, ginger, chocolate, flavonoids, phenols, anthocyanins.

## INTRODUCCIÓN

Desde hace varios años, México ha incrementado la producción del cacao, siendo Chiapas y Tabasco los principales productores (Salas-Tornés & Hernández-Sánchez, 2015). Este cultivo además de ser ancestral, es indispensable para la elaboración de chocolates, además, de otros productos como bebidas, galletas, platillos tradicionales, barras entre otros representativos del sureste del país (Gobierno de México, 2020); la planta del cacao es un árbol cuyo fruto contiene entre 30 y 40 semillas que son sometidas a diferentes procesos como el tostado, el molido y mezclado con otros ingredientes como por ejemplo azúcar, vainilla y canela para poder formar el chocolate (Sol-Sánchez *et al.* 2016; Avendaño-Arrazate *et al.*, 2011), cabe mencionar que éste es consumido en todo el mundo por su agradable sabor pero también por sus propiedades funcionales, ya que se emplea tanto en la industria de los alimentos como en la farmacéutica y cosmetológica (Chávez-Rivera & Ordoñez-Gómez, 2013).

En las últimas décadas se han realizado estudios de los productos obtenidos del grano del cacao que han demostrado que además de aportar una gran cantidad de energía, son ricos en antioxidantes, y que los compuestos principales son catequinas y epicatequinas (Gutiérrez-Maydata, 2002); se han detectado polifenoles similares a los encontrados en los vegetales y el té que le confieren a la grasa del chocolate una particular resistencia a la peroxidación lipídica que representa una disminución de radicales libres y la quelación de metales (Negaresh & Marín, 2013); además de las características ya mencionadas, gracias a distintas investigaciones, se ha comprobado que posee propiedades antiinflamatorias debido a su contenido principalmente de flavonoides (Salas-Tornés & Hernández-Sánchez, 2015).

El jengibre, ha sido empleado durante años, debido a sus grandes propiedades, para el tratamiento digestivo o náuseas, pero diversos estudios han demostrado ser eficaz como antiinflamatorio, antiulceroso e inclusive puede llegar a influir en la disminución del colesterol y nivelar la presión arterial medicinales (Salgado, 2011). Cuenta con componentes bioactivos como los fenólicos y terpénicos los compuestos fenólicos más abundantes son gingeroles, shogaoles y paradoles (Mao *et al.*, 2019), los primeros son los más sobresalientes ya que se caracterizan por tener efectos analgésicos, sedantes e inclusive bacterianos y son los responsables de las diferentes funciones benéficas para la salud (Moghaddasi & Kashani, 2012).

México reporta una elevada prevalencia de sobrepeso y obesidad que se han convertido en detonadores de enfermedades cardiovasculares, diabetes e inclusive algunos tipos de cáncer (Herrera-Chalé *et al.*, 2014). Una de las principales causas es un predominante ambiente obesogénico (FAO, 2020), donde los alimentos nutritivos son menos accesibles y asequibles para algunas comunidades que, tienden a centrar su atención gracias a la publicidad en productos que son perjudiciales para la salud. Ahora bien, hay que considerar que la diabetes se está convirtiendo rápidamente en la epidemia de este siglo y en desafío para la salud mundial (Hernández-Ávila *et al.*, 2013); de acuerdo con los datos proporcionado por la OMS (2021) se sabe que, a nivel global, de 1980 a 2014 casi cuatuplicó su cifra a 422 millones de personas padecen diabetes, y en la industria alimentaria, hay pocos productos que están enfocados en esta problemática, por lo que es gran importancia la implementación de alimentos funcionales como en este caso una barra de chocolate adicionada con jengibre la cual podría aportar grandes beneficios para salud dado que cuentan con la presencia de polifenoles que actúan principalmente como antioxidantes que se caracterizan por llegar a tener efectos anticancerígenos, antiinflamatorios, inmunomoduladores, antimicrobianos entre otros (Castro *et al.*, 2016; Hii *et al.*, 2009).

Por las cualidades benéficas presentadas por ambos alimentos se decidió elaborar como producto una barra de chocolate adicionada con jengibre mínimamente procesada que pudiera ser funcional, agradable al paladar y bajo en azúcar ya que podría ser una alternativa para el consumo del público en general



contribuyendo con una sana y adecuada alimentación para personas con enfermedades tales como la diabetes u osteoartritis. Con el producto ya elaborado, en este trabajo, se pretende realizar un análisis por medio de espectrometría para poder cuantificar metabolitos de interés como lo son las antocianinas, flavonoides y fenoles y comprobar un posible efecto antioxidante.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Barras de chocolate

#### *Maridaje y prueba de palatabilidad*

Se realizaron pruebas sensoriales de maridaje y palatabilidad con un panel semientrenado para determinar la formulación más aceptada para la elaboración de la barra de chocolate empleando dos concentraciones y dos diluyentes distintos de acuerdo con el diseño experimental del Cuadro I. De esta etapa del proyecto se determinó el uso de la muestra 11 como mezcla base para continuar con las demás pruebas debido a su aceptación.

**Cuadro I.** Maridaje con dos concentraciones y disolventes.

<b>Muestra</b>	<b>Agua (mL)</b>	<b>Leche (mL)</b>	<b>Chocolate (g)</b>	<b>Jengibre (g)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
M1	100	-	40	-	25
M2	100	-	40	1	25
M3	100	-	40	2	25
M4	100	-	40	-	94
M5	100	-	40	1	94
M6	100	-	40	2	94
M7	-	100	40	-	25
M8	-	100	40	1	25
M9	-	100	40	2	25
M10	-	100	40	-	94
M11	-	100	40	1	94
M12	-	100	40	2	94

#### *Elaboración de las barras de chocolate*

Tomando como base la formulación de la muestra M11, se realizaron barras de chocolate adicionadas con jengibre con algunas variantes en su formulación para evaluar su contenido de antocianinas, flavonoides y polifenoles, mismas que se presentan el Cuadro II.

**Cuadro II.** Variantes de las barras de chocolate.

Clave de la barra de chocolate	Características
TC-SA	Cacao en polvo sin azúcar
TC-CA	Cacao en polvo con azúcar
TCG-SA	Molido desde el grano sin azúcar

### Extractos

A un gramo de barra de chocolate adicionada con jengibre se agregaron 10 mL de metanol acuoso a 80% (v/v) la mezcla se homogenizó mediante agitación en un vórtex, posteriormente se almacenó en un lugar oscuro y en reposo durante 48 horas. Finalmente, se filtró y aforó a 25 mL con la misma disolución de extracción. El líquido obtenido se almacenó en refrigeración para las pruebas químicas de cuantificación de los metabolitos de interés, de acuerdo con la metodología propuesta por Chang *et al.* (2002).

### Determinación de antocianinas

Para hacer pruebas de antocianinas se emplearon dos soluciones buffer, una con pH de 1.0 (ácido clorhídrico / cloruro de potasio) y la otra con pH de 4.5 (ácido acético / acetato sódico). Por triplicado, a 0.2 mL extracto crudo de cada barra de chocolate se agregaron 1.8 mL de los buffer correspondientes teniendo como resultado 2 muestras equivalentes a estos. Enseguida, las muestras se colocaron en un vórtex de agitación y se leyeron a 510 nm y 700 nm. Esta prueba se realizó por triplicado con la finalidad de cuantificar los flavonoides en las muestras.

Empleando el método de diferencia de pH (Kuskoski *et al.* 2005), se puede calcular la absorbancia final a partir de las siguientes ecuaciones:

Absorbancia

$$A_T = (A_{510} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}=1.0} - (A_{510} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}4.5}$$

Antocianinas finales

$$\text{Antocianinas monomérica} = \frac{A_T * PM * FD * 100}{(\epsilon * 1)}$$

Dónde: A = Absorbancia; PM = peso molecular (449.2 g mol<sup>-1</sup>); FD = factor de dilución;  $\epsilon$  = absortividad molar estándar (26 900).

### Determinación de flavonoides

Por triplicado, a 0.5 mL extracto crudo de cada muestra se le agregó metanol acuoso a 95 %, después se le añadió 0.1 mL de cloruro de aluminio al 10 %, cuando la mezcla estuvo lista, se le incorporó 0.1 mL de acetato de potasio. Finalmente se aforó con agua destilada, se dejó en agitación en vortex y se colocó en incubación durante un periodo de 30 min en oscuridad; finalmente se leyeron los duplicados de todas las muestras a 415 nm. Se elaboró una curva estándar a base de flavonol quercetina en concentración máxima de 1.5 mM (Chang *et al.* 2002).

### Determinación de polifenoles

Por triplicado, a 1 mL de extracto crudo de cada muestra de las barras de chocolate se le agregó 1 mL Folin-Ciocalteu 2 N, cuando la preparación se homogenizó, se añadieron 8 mL carbonato de sodio; enseguida se sometió a agitación en vortex hasta lograr la mezcla correspondiente. Finalmente, se incubó durante dos horas y se leyó a 765 nm. Se elaboró una curva estándar de ácido gálico en concentración máxima 1.0 mM (Waterman y Mole *et al.* 1994).

### Análisis estadístico

El manejo de los datos estadísticos se llevó a cabo en el procesador de datos SAS System 9.0 para Windows mediante un ANOVA simple y diferencia de medias de Tukey ( $p < 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Determinación de antocianinas

Derivado de la lectura de absorbancias obtenidas en el espectrofotómetro a 510 nm y 700 nm se procedió a calcular las antocianinas totales por medio del método por diferencia de pH que sugiere Kuskoski *et al.* (2005). Finalmente se calculó la concentración de pigmentos monoméricos en el extracto correspondientes a cianidina-3-glucósido logrando los valores presentes en el Cuadro III.

**Cuadro III.** Cuantificación de antocianinas.

Clave	mg cianidina-3-glucósido 100 g <sup>-1</sup> p.f.*
TC-CA	0.346 ± 0.172 <sup>b</sup>
TC-SA	0.362 ± 0.010 <sup>b</sup>
TCG-SA	1.390 ± 0.127 <sup>a</sup>

\* El extracto se realizó con barras de chocolate adicionada con jengibre y la cuantificación se realizó en el extracto de peso fresco de la muestra.

Los valores de las barras de chocolate muestran que la TCG-SA obtuvo mayor cantidad de antocianinas; esta diferencia se puede deber al estado de la materia prima. Por otro lado, haciendo una comparación con los datos obtenidos por Nazario *et al.* (2014) en grano seco de cacao los valores de antocianinas conseguidos en la barra de chocolate adicionada con jengibre fueron menores a los esperados. A su vez, según los resultados presentados por Ordoñez *et al.* (2020) en nibs de cacao su rango varió de  $0.219 \pm 0.001$  a  $0.091 \pm 0.001$  mg cianidin-3- glucósido/g muestra mientras que a barra de chocolate adicionada con jengibre obtuvo resultados de  $1.389 \pm 0.13$  a  $0.345 \pm 0.17$ .

### Determinación de flavonoides

Después de obtener las lecturas a 415nm en el espectrofotómetro de las absorbancias se comparó cada una de estas con una curva patrón previamente construida con quercetina para poder cuantificar los valores de flavonoides presentes en cada una de las barras de chocolate consiguiendo los datos mostrado en el Cuadro IV.

**Cuadro IV.** Cuantificación de flavonoides.

Clave	mg EQ 100 g <sup>-1</sup> p. f.*
TC-CA	50.969 ± 0.876 <sup>a</sup>
TC-SA	27.082 ± 2.57 <sup>b</sup>
TCG-SA	25.767 ± 1.2 <sup>b</sup>

\*La referencia empleada fue quercetina y se cuantificó mg equivalentes de quercetina por cada 100 g de peso fresco de la barra de chocolate adicionada con jengibre.

Como se puede observar en el Cuadro IV, la barra que mostró mayor contenido de flavonoides fue la TC-SA, los cuales fueron considerablemente superiores reportados por Núñez-Torres *et al.* (2020), Su presencia hace posible el empleo de este producto con valor agregado ya que se caracterizan por tener una alta capacidad antioxidante (Ochoa & Ayala, 2004).

### Determinación de polifenoles

La cantidad de polifenoles en las muestras fue calculada haciendo uso de la curva patrón de ácido gálico, después de haber leído las muestras a 765 nm en el espectrofotómetro, obteniendo los valores presentados en el Cuadro IV en que se observa diferencia significativa que depende directamente de la formulación analizada.

**Cuadro V.** Cuantificación de fenoles.

Clave	mg EAG 100 g <sup>-1</sup> p. f.*
TC-CA	623.492 ± 4.832 <sup>a</sup>
TC-SA	578.16 ± 17.716 <sup>b</sup>
TCG-SA	531.77 ± 9.206 <sup>c</sup>

\*La referencia empleada fue ácido gálico y se cuantificó mg equivalentes de quercetina por cada 100 g de peso fresco de la barra de chocolate adicionada con jengibre.

De las tres formulaciones de las barras de chocolate, la muestra TC-CA fue la que obtuvo mayor cantidad de polifenoles, esto se debe a la presencia de azúcar, ya que esta diseñada a base de caña de azúcar y de acuerdo con Jiménez *et al.* (2014) cuenta con la presencia de polifenoles antioxidantes. Ahora bien, de acuerdo con los valores de polifenoles totales obtenidos por Nazario *et al.* (2014) en granos de cacao se puede apreciar una considerable disminución de estos.

### CONCLUSIÓN

Se sabe que el cacao y el jengibre por si solos pueden producir efectos benéficos para la salud del ser humano ya que entre sus características principales destacan el poder antiinflamatorio y antioxidante, razón por la cual se realizó la combinación de ambos, obteniéndose con éxito barras de chocolate cuyo consumo podría proveer de efectos positivos para el consumidor.

El consumo habitual de barras de chocolate en la población permite considerar la viabilidad de este proyecto, además de que los de flavonoides, fenoles y antocianinas indican la presencia de estos compuestos en el producto, y al existir se puede dar por hecho que tiene alto potencial antioxidante.

Por otra parte, se realizaron barras con bajo o nulo contenido de azúcar con la intención de llegar a más personas, especialmente las que padecen enfermedades como: la osteoporosis, la diabetes, patologías cardiovasculares; considerándose como un producto saludable y funcional.

## BIBLIOGRAFÍA

- Avendaño-Arrazate, C. H., Villareal-Fuentes, J. M., Campos-Rojas, E., Gallardo-Méndez, R. A., Mendoza-López, A., Aguirre-Medina, J. F., Sandoval-Esquivel, A. S., & Espinosa-Zaragoza, S. (2011). *Diagnóstico del Cacao en México*. Universidad Autónoma de Chapingo.
- Castro, M., Hernández, J. A., Mancilla, S., Córdova, J. S., Solari, F. A. & Chire, G.C. (2016). Efecto del contenido de grasa en la concentración de polifenoles y capacidad antioxidante de *Theobroma cacao* L. "cacao". *Ciencia e investigación*, 19(1): 19-23.
- Chang C. C., Yang, M. H., Wen, H.-M. & Chern, J. C. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10: 78- 182.
- Chávez-Rivera, R. E. & Ordoñez-Gómez, E. S. (2013). Polifenoles Totales, Antocianinas y Capacidad Antioxidante (DPPH y ABTS) durante el procesamiento del licor y polvo de cacao. *ECI Perú*, 10(1): 43-51.
- FAO (2020). *Azúcares añadidos son el 12.5% en la dieta de las y los mexicanos: INSP*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura <https://www.fao.org/mexico/noticias/detail-events/fr/c/1307077/>
- Gobierno de México (2020). Del campo a tu paladar, el cacao, un cultivo tradicional. <https://www.gob.mx/fnd/articulos/del-campo-a-tu-paladar-el-cacao-un-cultivo-tradicional?idiom=es>
- Gutiérrez-Maydata, B. A. (2002). Chocolate, Polifenoles y Protección a la Salud. *Acta Farm Bonaerense*, 21(2): 149-152.
- Hii, C.L., Law C. L. Suzannah S. & Cloke, M. (2009). Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, Vol.2: 702-722.
- Hernández-Ávila, M., Gutiérrez, J. P. & Reynoso-Noverón, N. (2013). *Diabetes mellitus* en México. El estado de la epidemia. *Salud Pública de México*, 55: 129-136.
- Herrera-Chalé, F., Betancur-Ancona, D. & Segura-Campos, M. R. (2014). Compuestos bioactivos de la dieta con potencial en la prevención de patologías relacionadas con sobrepeso y obesidad; péptidos biológicamente activos. *Nutrición Hospitalaria*, (29)1: 10-20.
- Jiménez, R., González, N., Hernández, M. & Ojeda, N. (2014). La caña de azúcar como alimento funcional. *Revista iberoamericana de ciencias*, 1: 31-39.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J. & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4): 726-732.
- Mao, Q. Q., Xiao-Yu, X., Shi Yu, C., Ren-Tú, G., Harold, C. & Hua-Bin, L. (2019). Bioactive Compounds and Bioactivities of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Foods*, 8(6): 1-21.
- Moghaddasi, M. S. & Kashani, H. H. (2012). Ginger (*Zingiber officinale*): A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(26): 4255-4258.
- Nazario, O., Ordóñez, E., Mandujano, Y. & Arévalo, J. (2014). Polifenoles totales, antocianinas, capacidad antioxidante de granos secos y análisis sensorial del licor de cacao (*Theobroma cacao* L.) criollo y siete clones. *Investigación y Amazonia*, 3(1), 51-59.
- Negaraesh, S. & Marín. I. y (2013). El cacao y la salud humana: propiedades antioxidantes del cacao nicaragüense y productos alimenticios comercializados. *Agroforestería en las américas*. 49, 93-98.
- Núñez-Torres, D., Bayas-Morejon, F. & Ramón-Curay, E. R. (2020). Desarrollo de barras de cacao (*Theobroma cacao*) "chocolate", para aprovechar sus propiedades bioactivas, en la asociación de mujeres de "San Gerardo" del Cantón Echeandía. *Revista Pertinencia académica*, 4: 1-10.
- Ochoa, M. & Ayala, A. (2004). Los Flavonoides: Apuntes Generales y su Aplicación en la Industria de Alimentos. *Ingeniería y competitividad*, 6: 93-104.
- OMS (2021). *Diabetes*. Organización Mundial de la Salud. who.int. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>

- Ordoñez, E. S., Quispe, Y. & García, L. F. (2020). Cuantificación de fenoles, antocianinas y caracterización sensorial de nibs y licor de cinco variedades de cacao, en dos sistemas de fermentación. *Scientia Agropecuaria*, 11(4): 473-481.
- Salas-Tornés, J. & Hernández-Sánchez, L.Y. (2015). Cacao, una aportación de México para el mundo. *Ciencia*. 32-39.
- Salgado, F. (2011). El jengibre (*Zingiber officinale*). *Revista Internacional de Acupuntura*. 5: 167-173.
- Sol-Sánchez, A., Naranjo-González, J.A, Córdova-Ávalos, V., Ávalos de la Cruz, D. A., & Zaldívar-Cruz, J. M. (2016). Caracterización bromatológica de los productos derivados de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Chontalpa, Tabasco, México. *Revista Mexicana de ciencias agrícolas*, 7(14): 2817-2830.
- Waterman, P.G. & S. Mole. (1994) *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Methods in Ecology. Black well Scientific Publications. Oxford, UK. 238 p.

## Obtención de aislados e hidrolizados proteicos de grillo (*Acheta domesticus*) y evaluación de su actividad antioxidante

M.L. Sosa-Flores<sup>1</sup>, D.G. García-Hernández<sup>2</sup>, C.A. Amaya-Guerra<sup>3</sup>, M. Bautista-Villarreal<sup>3</sup> y A.R. González-Luna\*<sup>1</sup>

**1** Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Botánica, Av. Pedro de Alba s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. **2** Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Química, Av. Pedro de Alba s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. **3** Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Alimentos, Av. Pedro de Alba s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. \*[agonzalezl@uanl.edu.mx](mailto:agonzalezl@uanl.edu.mx)

### RESUMEN

La harina desengrasada de *A. domesticus* posee una concentración proteica del 61.3%. Se evaluó la concentración proteica de los aislados proteicos de *A. domesticus* utilizando el método de Kjeldahl, obteniendo como resultado un 71.7% de proteínas. Los hidrolizados proteicos de *A. domesticus* se obtuvieron utilizando la enzima Alcalasa a 0.22 UA/g obteniendo un contenido proteico de 57.97 mg/mL. Para evaluar la actividad antioxidante se realizó el ensayo que evalúa la capacidad para secuestrar el radical DPPH de acuerdo con la metodología descrita por Gómez *et al.*, (2013), por espectrofotometría a 517 nm, empleando un lector de microplacas de 96 pocillos; se evaluaron los hidrolizados proteicos en los tiempos 0, 15, 30, 45, y 60 minutos, utilizando distintas concentraciones proteicas (1, 2, 3, 4, y 5 mg/mL), así como una prueba para el control positivo con Trolox a distintas concentraciones (100, 200, 300, 400 y 500 µg/mL). La actividad antioxidante se observó levemente favorecida con un 31 al 52% de inhibición para el tiempo 0 (min) y 14 al 38% para el tiempo 15 (min), esto en comparación con el control positivo Trolox el cual tuvo un porcentaje de inhibición mayor al 80%.

**Palabras clave:** Aislado proteico, hidrolizado, solubilidad de proteínas, actividad antioxidante, grillo común.

### ABSTRACT

The defatted flour of *A. domesticus* has a protein concentration of 61.3%. The protein concentration of protein isolates of *A. domesticus* was evaluated using the Kjeldahl method, obtaining as a result 71.7% protein. Protein hydrolysates from *A. domesticus* were obtained using the enzyme Alcalase at 0.22 AU/g, obtaining a protein content of 57.97 mg/mL. The antioxidant activity was evaluated through the assay that evaluates the capacity of scavenging the DPPH radical, this was carried out according to the methodology described by Gómez *et al.*, (2013), by spectrophotometry at 517 nm, using a 96-well microplate reader; evaluated protein hydrolysates at times 0, 15, 30, 45, and 60 minutes, using different protein concentrations (1, 2, 3, 4, and 5 mg/mL), as well as a positive control test with Trolox at different concentrations (100, 200, 300, 400 and 500 µg/mL). The antioxidant activity was slightly favored with a 31 to 52% inhibition for time 0 (min) and 14 to 38% for time 15 (min), this in comparison with the positive control Trolox which had a percentage of inhibition greater than 80%.

**Kew words:** Protein isolates, hydrolysate, protein solubility, antioxidant activity, house cricket.

## INTRODUCCIÓN

Desde el año 1950 se han estado realizando investigaciones enfocadas en la búsqueda de nuevas alternativas agroalimentarias para el hombre. En el año 2013, la FAO informó que se reconoce el potencial alimenticio de los insectos como una opción viable de fuente proteica, sostenible y eco amigable que puede contribuir con la seguridad alimentaria, sin embargo, en dicho informe no se hizo referencia a ningún insecto en específico. El contenido energético de los insectos es comparable al de la carne (en peso fresco), excepto en el caso de la carne de cerdo, debido a su contenido de grasa especialmente elevado (Sirimungkarat *et al.*, 2010). Teniendo en cuenta que los insectos tienen una alta fecundidad, tienen una alta eficiencia de conversión alimenticia, poco espacio requerido y son omnívoros además de su valor nutritivo, los insectos comestibles pueden contribuir a la seguridad alimentaria mundial y representar un alimento como una interesante alternativa, especialmente a los productos cárnicos y a la harina de pescado (Rumpold & Shulter, 2013). Es por ello, que el objetivo de este estudio se basa en la necesidad de explorar una nueva alternativa alimentaria, realizando aislados proteicos del grillo común *Acheta domesticus* a partir de la obtención de harina, para posteriormente realizar hidrolizados proteicos que puedan contener actividades biológicas importantes que tengan beneficios para el ser humano, como lo puede ser la actividad antioxidante.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material biológico

Por medio de un proveedor se obtuvieron 10 botes de aproximadamente 50-60 grillos vivos cada uno.

### Procesamiento y desengrasado de *Acheta domesticus*

Se basa en lo descrito por Hall *et al.* (2017) con algunas modificaciones en cuanto a cantidades o tiempos. Primeramente, se colocaron 20 grillos adultos en un recipiente con tapa y se congelaron durante 30 minutos. Posteriormente, los 20 grillos congelados se colocaron en un mortero de cerámica llevándolo al horno a 60 °C por 2 horas, para posteriormente moler los grillos deshidratados hasta que quede una harina fina, la cual se desengrasará con hexano en un equipo Soxhlet entre 4 a 6 horas. Una vez evaporado el hexano, la harina desengrasada se almacena en recipientes herméticamente cerrados.

### Obtención de aislados proteicos de *Acheta domesticus*

La metodología utilizada para la obtención del aislado proteico se realizó con base en lo mencionado por Vioque *et al.*, 2001 con ligeras modificaciones, quien menciona que se realiza en una relación 1:10 p/v (dicho dato se modificó a 1:20 p/v debido a que en la homogenización de la muestra se notaba una alta viscosidad que impedía la realización óptima del aislado de la proteína). Es por ello que, a partir de la harina desengrasada de grillo, se extrajeron las proteínas en una relación 1:20 p/v con Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 0.25% (p/v) en medio básico a pH 12.5 durante 60 minutos a temperatura ambiente. Esta mezcla se llevó a centrifugar a 8500 rpm durante 25 minutos a 4 °C y luego se recuperó el sobrenadante, mientras que el sólido se desechó. El sobrenadante se llevó al punto isoeléctrico calculado (pI 4.5) durante 1 hora para luego centrifugarse como se mencionó anteriormente. Producto de la segunda centrifugación se desecha esta vez el sobrenadante y se recupera el precipitado con ayuda de pequeños lavados con agua destilada al mismo pH con el que fue obtenido. Finalmente, las proteínas precipitadas fueron almacenadas en congelación en un bote hermético, para posteriormente liofilizar el aislado proteico de grillo y continuar con su procesamiento.

### Hidrolisis de proteínas de *Acheta domesticus*

Se realizó con el aislado proteico obtenido, el cual tenía un pH inicial de 3.80. Debido a la cantidad tan pequeña obtenida de muestra se optó por realizar los experimentos a microescala. La muestra se mantuvo en agitación en un vaso de precipitado de 50mL manteniéndose en agitación magnética suave durante



todo el proceso hidrolítico. Se ajustaron las condiciones de ensayo a una concentración de sustrato al 5%, pH 8 (pH óptimo para la enzima Alcalasa, relación enzima sustrato 0.22 UA/g) a 50 °C. Los derivados obtenidos fueron inactivados a baño maría a 85 °C por 15 minutos y posteriormente centrifugados a 10,000 rpm por 10 minutos recuperando el sobrenadante. Alícuotas de la hidrólisis fueron tomadas cada 15 minutos iniciando desde el tiempo 0.

### **Determinación cuantitativa de proteínas en harinas y aislados proteicos de *Acheta domesticus* por método de Bradford**

Se determinó la concentración proteica tomando 1g de cada muestra y diluyéndolo en 10 mL de agua destilada; enseguida se homogenizó por 5 minutos empleando vortex y posteriormente se centrifugó a 10,000 rpm. Se recuperó el sobrenadante, se depositó en tubos cónicos de 15 mL y llevo al congelador hasta su posterior uso. Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 595 nm interpolando los valores resultantes en una curva patrón estándar de BSA 2 mg/mL (0.10, 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.25, 1.40, 1.50 y 1.75 mg/mL).

### **Curva de solubilidad y determinación del punto isoeléctrico**

Se realizó un análisis en microplaca de 96 pocillos según el método realizado por Brogan (2018), el cual se realiza con reactivo de Bradford, solución estándar de BSA y harina desengrasada de grillo a distintos pH desde 1 hasta 14 en intervalos de 0.5.

### **Capacidad para secuestrar el radical DPPH**

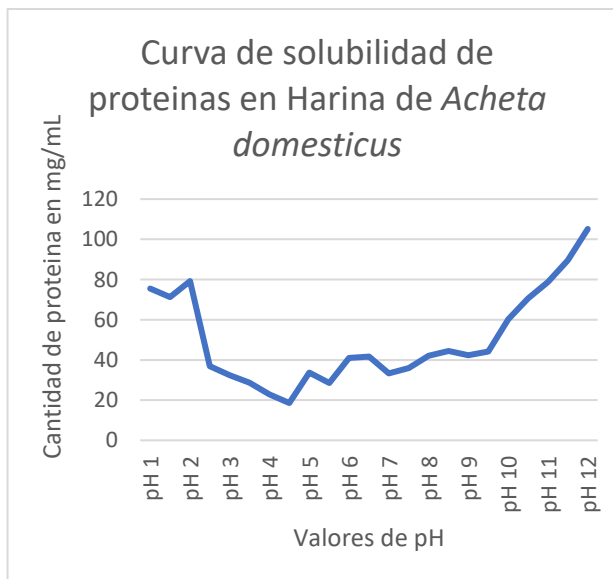
La evaluación de la actividad antioxidante se llevó a cabo según el método de Gómez *et al.*, (2013). Se realizó un ensayo en microplaca de 96 pocillos, 100 µL de muestra fueron añadidos a 100 µL de DPPH 0.1 mM en etanol 96%. Como referencia se utiliza un blanco con agua, como control negativo una solución compuesta por 100 µL de agua con 100 µL de DPPH 0.1 mM y como control positivo una solución de 100 µL de Trolox a 200 mg/mL con 100 µL de DPPH 0.1 mM. La microplaca se incubó en total oscuridad por 30 minutos y se mide la absorbancia a 517 nm en lector espectrofotométrico de microplaca. Los resultados se refirieron en % captación de DPPH ( $[\text{Abs blanco} - \text{Abs muestra}] \times 100 / \text{Abs blanco}$ ).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Harina de *Acheta domesticus*.**

Se encontró que la harina de *Acheta domesticus* inicial posee un contenido proteico del 58.7%. Este resultado es similar a lo observado por Igual *et al.* (2020), quienes analizaron el contenido proteico de la harina de grillo y encontraron que el valor fue de 60%. En otros dos estudios realizados por Finke (2002) y Finke (2007), quien realizó en ambas ocasiones estudios comparativos de las propiedades funcionales al realizar harinas de distintos insectos comestibles, observó que el contenido de proteínas de *Acheta domesticus* es considerablemente alto con un valor de 64.38%.

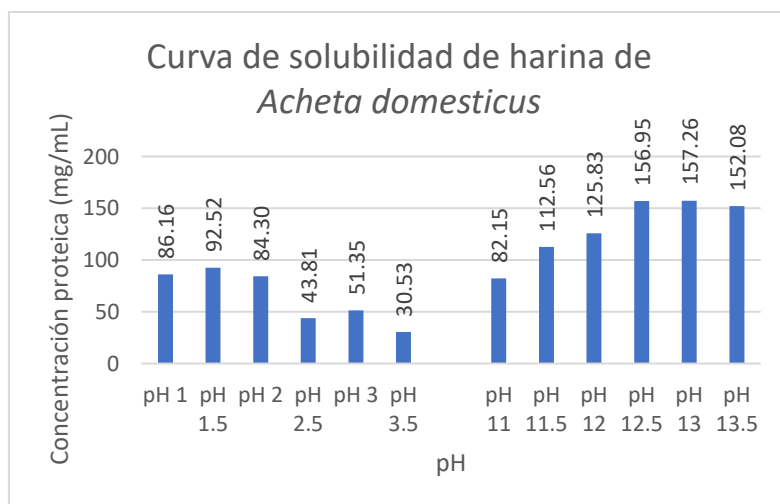
Se realizó una curva de solubilidad de proteínas de harina de *Acheta domesticus* y se encontró que el pH de menor solubilidad de las proteínas fue a pH 4.5 con un valor de 18.56 mg/mL y el punto de mayor solubilidad fue a pH 12.0 con un valor de 105 mg/mL (Figura 1). Esto se compara con lo observado por Udomsil *et al.* (2019), quienes realizaron una curva de solubilidad de pH 5.0 al 12.0 a intervalos de 1.0, comparando también a tres distintas temperaturas (30°, 40° y 50 °C); tomando solamente los valores a temperatura de 30°C, los autores encontraron que a pH 5.0 (el valor más cercano a 4.5) la concentración proteica fue de 7 mg/100g y para el pH 12 se encontró que la concentración proteica fue de 23 mg/100g.



**Figura 1.** Curva de solubilidad proteica de harina de *Acheta domesticus*

Como se puede observar en la figura 1, se tiene una tendencia en la que los pH de los extremos tienen una mayor solubilidad de proteína, preferentemente por el pH alcalino. En un estudio realizado por Kim *et al.* (2017) la solubilidad proteica de la harina de *Acheta domesticus* se vio significativamente influenciada por el pH y la concentración de NaCl, dichos autores encontraron que la solubilidad proteica más baja de la harina de grillo doméstico se observó a pH ácido, particularmente a pH 4, lo que podría atribuirse a la proximidad al pH isoelectrico de las proteínas predominantes contenidas en la harina de grillo doméstico. Esto es consistente con observaciones de las proteínas obtenidas por otros autores Hall *et al.* (2017) y Adeyeye & Awokunmi (2010) quienes encontraron un pH isoelectrico a 3.0 para la proteína del grillo *Grylloides sigillatus* (Hall *et al.*, 2017), un pH a 3,5 (macho) y pH 4,4. (hembra) para la proteína del grillo africano gigante (*Brachytrypes membranaceus* L) (Adeyeye & Awokunmi, 2010) y un pH a 4.5 para *Acheta domesticus* (Gresiana *et al.*, 2015)

En las evaluaciones de la solubilidad de proteínas en los extremos de los valores de pH (Figura 2), se encontró que el punto de mayor concentración fue a pH 13.0 Sin embargo, se decidió utilizar el valor a pH 12.5 como punto de extracción alcalina para la realización del aislado proteico; esto es debido a que por encima de este valor se observó que la viscosidad se incrementó, lo cual impedía la manejabilidad de la muestra.

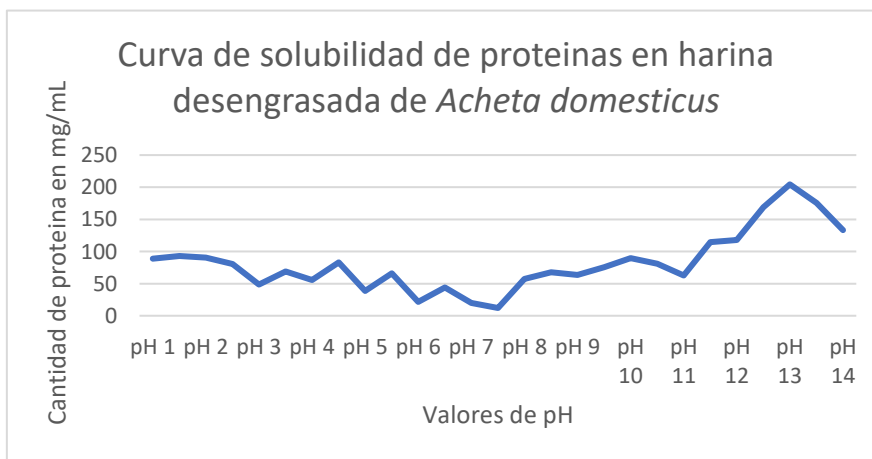


**Figura 2.** Curva de solubilidad proteica de harina de *Acheta domesticus*

**Harina desengrasada de *Acheta domesticus*.**

Posterior a la obtención de harina de grillo común, se procedió a desengrasarla con hexano. La extracción con hexano tiene como objetivo eliminar la grasa y, en consecuencia, que el contenido de proteína del concentrado pueda ser mayor. De acuerdo con Ndritu *et al.* (2017) otros solventes orgánicos utilizados para la eliminación de la grasa y, en consecuencia, la concentración de proteínas además del hexano, son el etanol y el metanol. El etanol ha demostrado una eficacia de desgrasado comparable a la del hexano, sin embargo, el metanol ha demostrado ser una mala opción (L'hocine *et al.*, 2006). La extracción con hexano demuestra ser un método más eficaz y se ha utilizado previamente en la extracción de dulces, proteína de altramuz y proteínas de soya (L'hocine *et al.*, 2006; Jayasena *et al.*, 2010).

Se realizó una curva de solubilidad de la harina desengrasada de grillo (Figura 3) con la finalidad de analizar la cantidad de proteínas a diferentes pH's. El punto isoeléctrico (PI) de las proteínas de *Acheta domesticus* y el punto de extracción alcalina se determinan a partir de estos resultados, ya que implican que el punto más bajo de solubilidad de la proteína es muy cercano al punto isoeléctrico de precipitación, por lo tanto, es el valor de pH al que ocurrirá la precipitación de proteínas. En cuanto al punto de mayor solubilidad que se observa en la Figura 3, es el valor al cual existe una mayor solubilidad comparada con los pH's ácidos, dicho valor será el punto en el que las proteínas estén más disponibles y por lo tanto al que se le realizará la extracción alcalina.

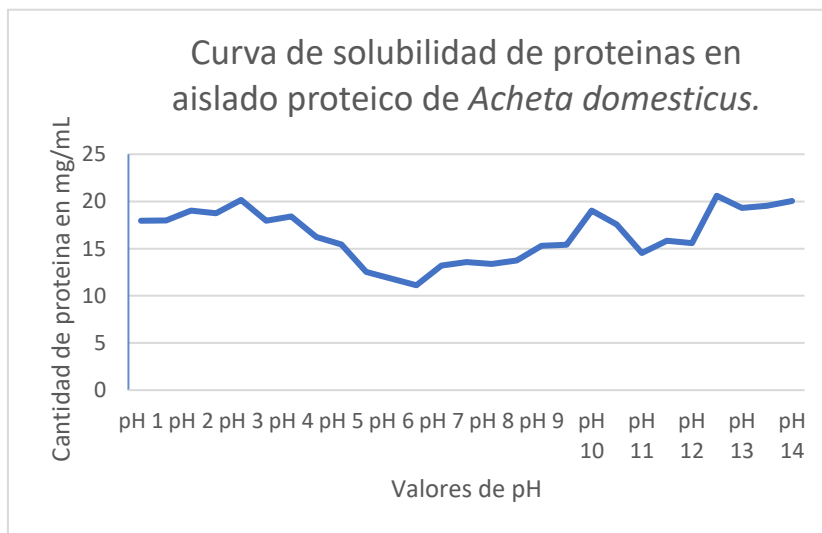


**Figura 3.** Curva de solubilidad proteica de la harina desengrasada de *Acheta domesticus*

Se encontró que la harina desengrasada de *Acheta domesticus* posee una concentración proteica del 61.3%. Este resultado es similar por lo descrito por Ribeiro *et al.* (2019), quienes encontraron que el porcentaje de contenido proteico en harina desengrasada de *A. domesticus* fue del 64.4% y un contenido de fibra del 6.9%. Gresiana *et al.* (2015) también realizaron un análisis del contenido proteico en harina desengrasada para el mismo género de grillos; ellos obtuvieron un contenido proteico de 64.94%, dichos autores también reportaron un contenido de 9% de carbohidratos, fibra y vitaminas. Estos resultados también son consistentes con lo reportado por Rumpold & Shulter (2013) quienes observaron una concentración proteica del 64.38% de *A. domesticus* en harina desengrasada, así como un 19.10% de fibra y un contenido de grasa del 22.80%.

**Aislados proteicos de *Acheta domesticus*.**

Al realizar la curva de solubilidad de proteínas en aislado proteico de *Acheta domesticus* se encontró que, en el punto de mayor solubilidad de las proteínas, pH 12.5, se obtuvo un valor proteico de 20.60 mg/mL (Figura 4). Estos resultados se comparan con lo obtenido por Ndiritu *et al.*, (2019), quienes realizaron un estudio de los efectos del NaCl y del pH en las propiedades funcionales de aislados proteicos de *Acheta domesticus*, y encontraron que el punto de mayor solubilidad de las proteínas fue de 19.46% a pH 12.0, el cual fue similar al valor del punto máximo de solubilidad proteica obtenido en el ensayo. Hall *et al.*, (2017), en su estudio sobre propiedades funcionales de los aislados proteicos del grillo *G. sigillatus*, mencionan que estos cambios en el pH también afectan la carga neta general de hidrolizados que influye en las fuerzas de atracción y repulsión a nivel de estructura química, y es debido a ello que la solubilidad se ve afectada. Estas observaciones en cuanto a la solubilidad son similares a las de otros hidrolizados de proteínas tratados con alcalasa; mostrando una solubilidad mejorada en relación con la proteína no hidrolizada, así como un porcentaje de solubilidad más alto con el aumento del pH (Chalamaiah *et al.*, 2010; Ghribi *et al.*, 2015).



**Figura 4.** Curva de solubilidad de proteínas en aislado proteico de *Acheta domesticus*

Al utilizar medios alcalinos para la extracción proteica, se ha demostrado que se obtienen mayores rendimientos de extracción y solubilidad de proteínas a partir de varias especies de insectos (Foo *et al.*, 2006; Yi *et al.*, 2013; Bußler *et al.*, 2016). También así, los resultados de la precipitación alcalina se comparan con lo encontrado por Zhao *et al.*, 2016; Józeiak *et al.*, 2016; quienes mencionan que los insectos que son aptos para consumo usualmente tienen un pI entre pH 4,0 y 6,5. Esto concuerda con las observaciones en el que el pI se encontró en un pH de 4.5. Dichos autores mencionan que la optimización de los parámetros de extracción como el pH, la temperatura, el tiempo de ejecución y la proporción de agua a muestra son específicos de la especie y se requieren para maximizar el rendimiento de proteínas de insectos solubles.

Una vez estandarizados estos parámetros para la realización del aislado, se analizó el contenido de proteínas del aislado de grillo por medio de digestión de Kjeldahl obteniendo que el contenido proteico es de 82.6%. Estos resultados son similares a los obtenidos por Udomsil *et al.* (2019), quienes analizaron su aislado proteico de *A. domesticus* y de *G. bimaculatus* por método de Kjeldahl, obteniendo como resultados un aislado del 71.7% de proteínas para *A. domesticus*, valor que concuerda con los resultados obtenidos por Brogan (2018) quien realizo aislados de *A. domesticus* y obtuvo un 72% de proteína, por lo que se ha obtenido un incremento en el contenido proteico de los aislados de grillo que pudo haber sido dado a los parámetros de extracción que se mencionaron anteriormente por Zhao *et al.*, 2016, los cuales son pH, temperatura, tiempo de ejecución y proporción de agua.

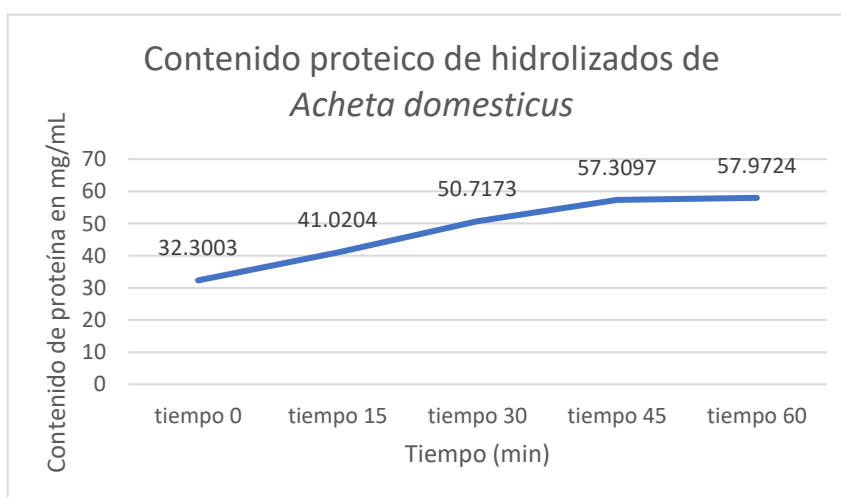
Por otra parte, en un estudio realizado por Hall *et al.*, (2017) se encontró que empleando un pH de precipitación de 3.0 se obtuvo un contenido proteico de 77% en aislado proteico del género *Acheta*; este valor es menor pero similar a los obtenidos. Los autores también mencionan que no se recomienda usar

un pH superior a 5 para la precipitación isoelectrica debido a que, por encima de esta cifra, los grupos carboxilo tienden a desplazarse hacia formas desionizadas que reducen la afinidad del péptido por las moléculas de agua.

### Hidrolizado proteico de *Acheta domesticus*

El hidrolizado proteico se obtuvo a partir del aislado proteico de *Acheta domesticus* utilizando la enzima Alcalasa a una concentración enzima/sustrato (E/S) de 5% y pH 8 a 50°C. La relación enzima-sustrato de la enzima Alcalasa fue de 0.22UA/g. Se realizaron varias extracciones a distintos tiempos (0, 15, 30, 45 y 60 minutos), se encontró que el grado de hidrólisis fue de 32.3%, 41%, 50.7%, 57.3% y 57.9% respectivamente. De acuerdo con Hall *et al.* (2017) quienes realizaron el hidrolizado de proteína de *Acheta domesticus* encontraron que al realizar la hidrólisis utilizando Alcalasa como enzima, se obtuvo un grado de hidrólisis mayor a medida que aumenta la concentración relativa de enzima; las pruebas que realizaron dichos autores fueron a una concentración de E/S del 0.5, 1.5% y 3%, con grados de hidrolisis del 36.3%, 43.2%, y 52.4% respectivamente a un tiempo de 60 minutos.

En los resultados obtenidos del contenido proteico de los hidrolizados de grillo se observó una meseta después del minuto 45 y 60 (Figura 5). Estos tiempos son comparables con los resultados encontrados en la hidrólisis proteica realizada por Hall *et al.* (2017), quienes en sus observaciones de los ensayos tratados con 1,5 y 3,0% de enzima, alcanzaron la hidrólisis máxima después de 30 y 60 min, respectivamente. Este

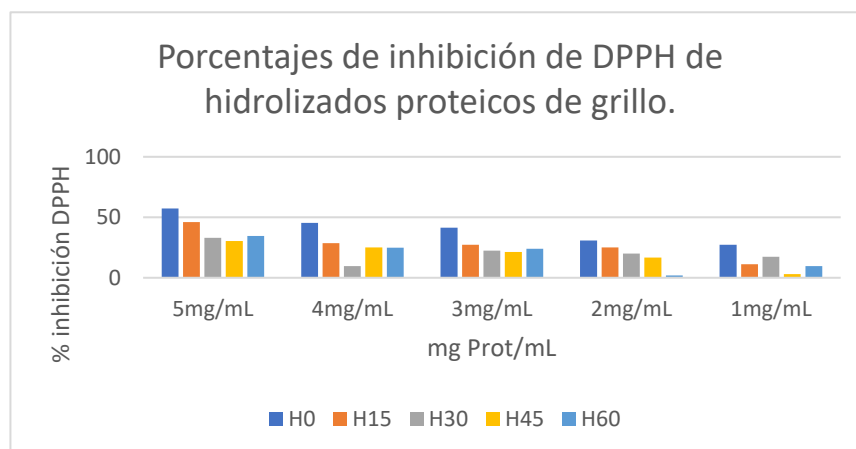


**Figura 5.** Contenido proteico de hidrolizados obtenidos a partir de aislados proteicos de *Acheta domesticus*.

comportamiento es consistente con los principios básicos de la cinética enzimática, donde después de aumentar constantemente la fase de hidrólisis, la velocidad de reacción tiende a disminuir, entrando en un estado de meseta (Mackie *et al.*, 1985). Esta reacción de estancada podría indicar la saturación enzimática de los sitios activos del sustrato evitando cualquier hidrólisis adicional.

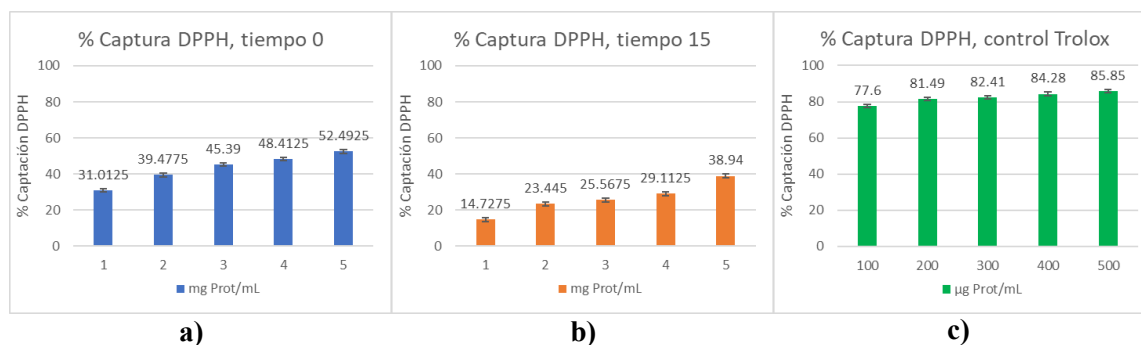
### Capacidad para secuestrar el radical DPPH

Para analizar la actividad antioxidante se evaluó la capacidad para secuestrar el radical 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH) según el método de Gómez *et al.*, (2013) por espectrofotometría a 517 nm. Se evaluaron los hidrolizados proteicos en los tiempos 0, 15, 30, 45, y 60 minutos. En la Figura 6 se puede observar que se encontró, al evaluar todas las muestras de tiempo a distintas concentraciones, que los mejores resultados de porcentaje de inhibición del DPPH se obtuvieron en el tiempo 0 min a una concentración de proteína de 5 mg/mL fue del 57.32%, y al tiempo 15 min a una concentración de 5 mg/mL fue de 46.04%, esto en comparación con el control positivo con el antioxidante Trolox el cual tuvo una inhibición del DPPH del 84.28% a una concentración de 200 µg/mL.



**Figura 6:** Porcentajes de inhibición de DPPH de hidrolizados proteicos de grillo.

Con base a estos resultados, se volvió a realizar una segunda prueba de actividad antioxidante con DPPH por triplicado para el tiempo 0 y 15 (Figura 7) utilizando distintas concentraciones proteicas (1, 2, 3, 4, y 5 mg/mL), así como una prueba también para el control positivo con Trolox a distintas concentraciones (100, 200, 300, 400 y 500 µg/mL).



**Figura 7.** Porcentaje de captura de DPPH, a) hidrolizado tiempo 0, b) hidrolizado tiempo 15, c) control Trolox

Como se puede observar en los resultados en la Figura 7, se muestra una mayor actividad antioxidante de acuerdo con el grado de concentración de la proteína, conforme esta es mayor, mayor su porcentaje de inhibición de DPPH. Para el tiempo 0 (min) se encontraron valores de porcentaje de inhibición de DPPH que van desde el 31% al 52%. Para el tiempo 15 (min) se encontraron valores de porcentaje de inhibición de DPPH que van desde el 14% al 38%. El control positivo de Trolox arrojó resultados mayores a 80% de inhibición del DPPH en todas sus concentraciones excepto en la menor, de 100 µg/mL.

De acuerdo con de Castro *et al.*, (2018) quienes realizaron un análisis de las propiedades biológicas y funcionales de insectos comestibles, afirmaron obtener hidrolizados de proteínas con la mayor actividad

de captación de radicales con un 14% de actividad antioxidante medida por FRAP y 24% de captación de DPPH, que se consideraron bajas en comparación con sus antioxidantes estándar BHT y vitamina C. Lee *et al.*, (2021) en su estudio de la actividad antioxidante para diversos insectos comestibles, reportaron que no se reveló ningún cambio significativo en la actividad de eliminación de radicales DPPH de los hidrolizados de *A. domesticus*.

Una de las razones por lo que esto puede suceder puede ser debido a que el proceso del hidrolizado remueve algunas de los péptidos antioxidantes en su proceso, esto fue comprobado por Hall *et al.*, (2018), quienes analizaron el efecto de la hidrólisis enzimática sobre las propiedades bioactivas de la proteína de grillo (*G. sigillatus*), y encontraron que los hidrolizados utilizando alcalasa mostraron valores de captación de ABTS y DPPH más bajos (entre el 15 y el 40%) en comparación con la proteína de grillo no hidrolizada (entre el 50 y el 85%).

Como se ha observado en los resultados obtenidos el grado de hidrólisis puede afectar los resultados de la actividad antioxidante, de acuerdo con Messina *et al.*, (2019) la actividad antioxidante de los hidrolizados se puede ver influida por el nivel de hidrólisis que estos tienen, esto puede darse debido a la presencia de una gran cantidad de péptidos activos de bajo peso molecular (Picot *et al.*, 2010; Raghavan & Kristinsson, 2008; Thiansilakul *et al.*, 2007). Ahn *et al.*, (2014) afirmaron que el peso molecular de los péptidos estaba relacionado con sus propiedades funcionales, con mayor eficacia en los péptidos bioactivos con un peso molecular de aproximadamente 1,0–3,0 kDa. Taheri *et al.*, (2014) demostraron que las fracciones de hidrolizado de proteína entre 1,0 y 10 kDa tenían un mayor poder antioxidante que las fracciones de mayor peso molecular.

## CONCLUSIÓN

El hidrolizado proteico obtenido del aislado de grillo de *A. domesticus* resulta no tener una actividad antioxidante significativa. La enzima Alcalasa, la cual es una endoproteasa, no genera péptidos del adecuado peso molecular en el que la actividad antioxidante pueda ser demostrada. Se necesita de una enzima que genere péptidos de menor peso molecular con el fin de que pueda explorarse si dicha actividad antioxidante pudiera estar presente.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adeyeye, E., & Awokunmi, E. (2010). Chemical composition of female and male giant African crickets, *Brachytrypes membranaceus* L.. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(4), 125–136.
- Ahn C, Kim J, Je J, Yin J., (2014), Purification and antioxidant properties of octapeptide from salmon byproduct protein hydrolysate by gastrointestinal digestion. *Food Chem.*, 147, 78–83
- Brogan, E. N. (2018). *Protein and Lipid Characterization of Acheta domesticus, Bombyx Protein and Lipid Characterization of Acheta domesticus, Bombyx mori, and Locusta migratoria Dry Flours mori, and Locusta migratoria Dry Flours*. 57. <https://researchrepository.wvu.edu/etd/7498>
- Bußler, S., Rumpold, B. A., Jander, E., Rawel, H. M., and Schlüter, O. K. (2016). Recovery and techno-functionality of flours and proteins from two edible insect species: Meal worm (*Tenebrio molitor*) and black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Heliyon*, 2, e00218
- Castro R, Ohara A, Aguilar J, dos S & Domingues M, (2018). Nutritional, functional and biological properties of insect proteins: Processes for obtaining, consumption and future challenges. *Trends in Food Science and Technology*, 76(March), 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.04.006>
- Chalamaiah M, Rao G, Rao D, Jyothirmayi T, (2010). Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. *Food Chemistry*, 120(3), 652–657.

- Finke M, (2007) Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo Biol.* 26, 93–104. <https://doi.org/10.1002/zoo>
- Finke M, (2002), Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biol.* 21, 269–285. <https://doi.org/10.1002/zoo.10031>
- Foo, C., Bini, E., Hensman, J., Knight, D., Lewis, R., and Kaplan, D. (2006). Role of pH and charge on silk protein assembly in insects and spiders. *Appl. Phys. A.*, 82, 223–233
- Ghribi A, Gafsi, I, Sila A, Blecker C, Danthine S, Attia H, Besbes, S. (2015). Effects of enzymatic hydrolysis on conformational and functional properties of chickpea protein isolate. *Food Chemistry*, 187, 322–330.
- Gómez, Leidy J, Figueroa, Omar A, & Zapata, José E. (2013). Actividad Antioxidante de Hidrolizados Enzimáticos de Plasma Bovino Obtenidos por Efecto de Alcalasa® 2.4 L. *Información tecnológica*, 24(1), 33-42. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642013000100005>
- Gresiana, F., Muzi Marpaung, A., & Sutanto, H. (2015). Protein isolation from cricket (*Gryllusmitratus*). *Proceedings of the International Conference on Innovation, Entrepreneurship and Technology, November 2015*, 214–221.
- Hall F, Jones O, O’Haire M, & Liceaga A. (2017). Functional properties of tropical banded cricket (*Gryllobes sigillatus*) protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 224, 414–422.
- Jayasena V, Chih H, Nasar-Abbas S., (2010) Functional properties of sweet lupin protein isolated and tested at various pH levels *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 6, 130–137
- Kim H, Setyabrata D, Lee Y, Jones O, Kim Y, (2017) Effect of house cricket (*Acheta domesticus*) flour addition on physicochemical and textural properties of meat emulsion under various formulations. *Journal of Food Science* 82: 2787-2793
- Lee J, Koo N, Min DB, (2021) Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals, *Compilation Food Science Saf*; 3:21-33
- L’hocine, L., Boye, J. I., & Arcand, Y. (2006). Food Chemistry and Toxicology Composition and Functional Properties of Soy Protein Isolates Prepared Using Alternative Defatting and Extraction Procedures. *Food Chemistry and Toxicology*, 71(3), C137–C145.
- Mackie K., Brownell H., West K., & Saddler J., (1985) Effect of Sulphur Dioxide and Sulphuric Acid on Steam Explosion of Aspenwood, *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 5:3, 405-425, DOI: 10.1080/02773818508085202
- Messina CM, Gaglio R, Morghese M, Tolone M, Arena R, Moschetti G, Santulli A, Francesca N, Settanni L. (2019) Microbiological profile and bioactive properties of insect powders used in food and feed formulations. *Foods* 8: 400
- Ndiritu A, Kinyuru J, Gichuhi N & Kenji G, (2019). Effects of NaCl and pH on the functional properties of edible crickets (*Acheta domesticus*) protein concentrate. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3), 1788–1796. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00097-5>
- Picot, L.; Ravallec, R.; Fouchereau-Péron, M.; Vandanjon, L.; Jaouen, P.; Chaplain-Derouiniot, M.; Guérard, F.; Chabeaud, A.; LeGal, Y.; Alvarez, O.M.; 2010, Impact of ultrafiltration and nanofiltration of an industrial fish protein hydrolysate on its bioactive properties. *J. Sci. Food Agric.* 90, 1819–1826
- Ribeiro, J. C., Lima, R. C., Maia, M. R. G., Almeida, A. A., Fonseca, A. J. M., Cabrita, A. R. J., & Cunha, L. M. (2019). Impact of defatting freeze-dried edible crickets (*Acheta domesticus* and *Gryllobes sigillatus*) on the nutritive value, overall liking and sensory profile of cereal bars. *Lwt*, 113(May), 10833530(8), 1003–1023.
- Raghavan, S.; Kristinsson, H.G. 2008 Antioxidative Efficacy of Alkali-Treated Tilapia Protein Hydrolysates: A Comparative Study of Five Enzymes. *J. Agric. Food Chem.* 56, 1434–1441. [CrossRef]
- Rumpold B, & Schlüter O. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular nutrition & food research*, 57(5), 802–823
- Sirimungkarat S, Saksirirat W, Nopparat T, Natongkham A, Durst P, Johnson D, Leslie R, Shono K, (2010) Forest Insects as Food: Humans Bite Back, *FAO, Bangkok, Thailand*, pp 189-200



- Taheri, A.; Sabeena Farvin, K.H.; Jacobsen, C.; Baron, C.P., 2014, Antioxidant activities and functional properties of protein and peptide fractions isolated from salted herring brine. *Food Chem.* 142, 318–326.
- Thiansilakul, Y.; Benjakul, S.; Shahidi, F. 2007, Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*). *Food Chem.*, 103, 1385–1394
- Udomsil, N., Imsoonthornruksa, S., Gosalawit, C., & Ketudat-Cairns, M. (2019). Nutritional Values and Functional Properties of House Cricket (*Acheta domesticus*) and Field Cricket (*Gryllus bimaculatus*). *Food Science and Technology Research*, 25(4), 597–605. <https://doi.org/10.3136/fstr.25.597>
- Vioque J, Sánchez-Vioque R, Pedroche J, Del Mar M, Millán F, (2001), Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados proteicos, *Instituto de la Grasa, Grasas y Aceites Vol. 52*, 127-131
- Yi, L., Lakemond, C., Sagis, L., Eisner-Schadler, V., van Huis, A., and van Boekel, M. (2013). Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. *Food Chem.*, 141, 3341–3348.
- Zhao, X., Vázquez-Gutiérrez, J. L., Johansson, D. P., Landberg, R., and Langton, M. (2016). Yellow Mealworm Protein for Food Purposes - Extraction and Functional Properties. *PLOS ONE*, 11, e0147791

## Obtención de aislados e hidrolizados proteicos de Teff (*Eragrostis tef* (Zuccagni) Trotter) y evaluación de su actividad antioxidante

V.G. Ruiz-Camacho<sup>1</sup>, C.A. Amaya-Guerra<sup>2</sup>, M. Bautista-Villarreal<sup>2</sup> y A.R. González-Luna\*<sup>1</sup>

**1** Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Botánica, Av. Pedro de Alba s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. **2** Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Alimentos, Av. Pedro de Alba s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. \*[agonzalezl@uanl.edu.mx](mailto:agonzalezl@uanl.edu.mx)

### RESUMEN

*Eragrostis tef*, conocido como teff, es un antiguo cereal originario de Etiopía, el cual es utilizado en la elaboración de un pan plano llamado injera. Su valor nutritivo es similar al de otros cereales, además no contiene gluten lo que resulta beneficioso en la elaboración de productos alimenticios. El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad antioxidante de los productos proteicos de teff y así determinar su uso potencial como aditivo en la elaboración de alimentos funcionales. La concentración proteica de la harina desengrasada y el aislado proteico de teff resultó en un 45.29% y 88.29%, mientras que el hidrolizado con la enzima alcalasa y flavourzima resultó en 381.26 mg prot/mL y 390.78 mg prot/mL, respectivamente. En lo que respecta a la actividad antioxidante de los hidrolizados proteicos, los valores más elevados resultaron en un 66.61% a los 45 minutos con la enzima flavourzima y a los 30 minutos de iniciado el proceso de hidrólisis con un 66.61% con la alcalasa.

**Palabras clave:** Hidrolizado, aislado, actividad antioxidante, proteínas, teff.

### ABSTRACT

*Eragrostis tef*, known as teff, is an ancient cereal native to Ethiopia, which is used in the preparation of a flat bread called injera. Its nutritional value is similar to that of other cereals, it also does not contain gluten, which is beneficial in the production of food products. The objective of this work is to evaluate the antioxidant activity of teff protein products and thus determine their potential use as an additive in the production of functional foods. The protein concentration of the defatted flour and the teff protein isolate resulted in 45.29% and 88.29%, while the hydrolyzate with the enzyme alcalase and flavourzyme resulted in 381.26 mg prot/mL and 390.78 mg prot/mL, respectively. Regarding the antioxidant activity of protein hydrolysates, the highest values were 66.61% at 45 minutes with the enzyme flavourzyme and 30 minutes after starting the hydrolysis reaction with 66.61% with alcalase.

**Key words:** Hydrolyzed, isolated, antioxidant activity, protein, teff.

## INTRODUCCIÓN

El Teff (*Eragrostis tef* (Zuccagni) Trotter) es un cereal perteneciente a la familia *Poaceae*, originario de Etiopía el cual es utilizado como base para la elaboración de injera. A pesar de que el cultivo de teff es endémico de Etiopía, su cultivo se ha introducido en varios países como Australia, India, Sudáfrica, Argentina, Ucrania, Canadá, Estados Unidos y partes de Asia, cultivándose principalmente como cultivo forrajero (Abebe, 2015). Su harina no produce gluten y tiene un alto contenido de hierro, de vitamina B y de lisina, por lo que su perfil nutricional sugiere que podría usarse en la producción de cereales saludables (Umaña *et al.*, 2012). El contenido proteico de la semilla de teff representa el 13%, el cual es similar y en algunos casos superior al de otros cereales. Se ha reportado que la composición fraccionaria de las proteínas de teff está conformada por glutelinas y albuminas principalmente, por lo que en orden de importancia están las glutelinas con 44.55%, albuminas 36.6%, prolaminas 11.8% y globulinas con 6.7% (Ketema, 1997).



**Figura 1.** Variedades de la harina de teff (*Eragrostis tef*)

En años recientes, el incremento en la población mundial ha impulsado la búsqueda de nuevas fuentes proteicas de menor costo con el fin de obtener una mayor disponibilidad y calidad de proteínas a partir de diversas fuentes proteicas existentes ya que se ha demostrado que las proteínas juegan un papel muy importante en la alimentación debido a la aportación de aminoácidos en la dieta, así como de sus propiedades funcionales; por consiguiente, uno de los procesos más comunes para la obtención de proteínas son los aislados proteicos los cuales son empleados en las industrias alimenticias con el fin de ser utilizados como aditivos en alimentos para consumo humano y así poder conferir diversas propiedades funcionales mejorando su valor nutricional y la calidad del producto final (Chaparro *et al.*, 2014). Otro proceso utilizado de manera similar es la elaboración de hidrolizados proteicos, los cuales son empleados para mejorar las propiedades funcionales o nutricionales de los alimentos, tales como la solubilidad, el poder emulsificante y la capacidad espumante (Benítez *et al.*, 2008). Además, los hidrolizados pueden conferir grandes beneficios debido a la producción de péptidos con actividad biológica, tales como la actividad antioxidante, antimicrobiana y antihipertensiva. Por lo que, el objetivo de este trabajo es evaluar la actividad antioxidante de los productos proteicos de teff y así determinar su uso potencial como aditivo en la elaboración de alimentos funcionales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material biológico

Se utilizaron semillas obtenidas a través de la empresa Maskal Teff, las cuales posteriormente fueron limpiadas.

### Procesamiento y desengrasado de la harina de teff

Las semillas fueron molidas siguiendo la metodología descrita por Martínez *et al.* (2011) y, por último, la harina obtenida fue tamizada empleando una malla no. 40. La harina fue desengrasada siguiendo la metodología descrita por Colunga (2008), utilizando el equipo Soxhlet con hexano como solvente durante 4 horas. Pasado este tiempo la muestra obtenida se secó en estufa para eliminar el hexano residual.

### Determinación cuantitativa de las fracciones proteicas de teff por el método de Bradford

La determinación se realizó por el método de Bradford según Herrera *et al.* (2016) con ligeras modificaciones. En una microplaca de 96 pocillos se agregaron 250  $\mu$ L del reactivo de Bradford y 5  $\mu$ L de las muestras a evaluar (harinas, aislados e hidrolizados proteicos). Así mismo, se utilizó la Albumina de Suero Bovino (BSA) como curva patrón a diferentes concentraciones para interpolar los resultados; por último, se realizó la lectura de absorbancia a una longitud de onda de 595 nm.

### Curva de solubilidad de la harina desengrasada de teff por el método de Bradford

Se realizó según Martínez *et al.* (2011) con ligeras modificaciones. Se disolvieron 4 g de harina desengrasada de teff en 40 mL de agua destilada manteniendo una agitación constante; posterior a eso, se fue ajustando el pH a valores que iban desde 1.0 a 14.0 tomando alícuotas de 1 mL de cada uno de estos valores. Las muestras se centrifugaron a 8500 rpm durante 5 minutos, recuperando el sobrenadante, y una vez homogeneizadas en vortex, se realizó la determinación proteica por el método de Bradford.

### Obtención de aislados proteicos de teff

El aislado proteico de teff se realizó de acuerdo con lo descrito por Almazán *et al.* (2016) con ligeras modificaciones. Se disolvieron 10 g de la harina desengrasada de teff en 100 mL de bisulfito de sodio manteniendo una agitación constante; posterior a eso, se mantuvo a pH 10.5 (pH de extracción) durante una hora. Se centrifugó a 4°C a 8500 rpm durante 25 minutos y el sobrenadante se ajustó a pH 4.0 (pH de precipitación) manteniéndolo durante una hora en agitación constante. Se centrifugó y se recuperó el precipitado mediante lavados con agua destilada a pH 4.0, para posteriormente liofilizarlo.

### Determinación proteica del aislado proteico de teff por el método de micro Kjeldhal

De acuerdo con lo descrito por Colunga (2008) con ligeras modificaciones. Debido a lo poco soluble del aislado, se utilizó el método de Kjeldhal para determinar el porcentaje de nitrógeno y de proteínas pertenecientes al aislado proteico de teff, empleando el factor de conversión 6.25.

### Hidrolisis de proteínas de teff

El hidrolizado proteico se elaboró en base a lo descrito por Quelal *et al.* (2019) con ligeras modificaciones. De acuerdo con las condiciones óptimas de pH, concentración de sustrato, relación enzima sustrato y temperatura de las enzimas a utilizar (alcalasa: pH 8, 5%, 0.3 UA/g proteína, 50°C; flavourzima: pH 7, 5%, 50 LAPU/g proteína, 50°C), se tomaron alícuotas de 6 mL cada 15 minutos

durante el proceso de hidrolisis que fue por una hora; posterior a eso, las alícuotas se inactivaron en un baño maría a 85°C durante 15 minutos. Las muestras obtenidas se centrifugaron a 8500 rpm durante 10 minutos recuperando el sobrenadante, el cual se congeló hasta su posterior uso.

**Evaluación biológica: actividad antioxidante**

La determinación de la actividad antioxidante por el método basado en la captación del radical DPPH se realizó de acuerdo con lo descrito por Echeverria *et al.* (2020) con algunas modificaciones. En un lector de microplacas de 96 pocillos utilizando agua destilada como blanco, una solución compuesta por 150 µL de agua y 150 µL de DPPH 0.1mM como control negativo, y una solución de 150 µL de BHT y 150 µL de DPPH 0.1mM como control positivo. Para la determinación, se depositaron 150 µL de las muestras a evaluar con 150 µL de DPPH 0.1mM, dejando incubar por 30 minutos a 25°C en ausencia de luz, para finalmente medir la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La determinación proteica de la harina desengrasada de teff se muestra en la Fig. 2, observando el valor de concentración proteica más elevado en la muestra original (sin dilución) el cual oscila alrededor del 45.29%. De acuerdo con Baye (2014) el contenido proteico del teff representa hasta el 13% lo que indica que el proceso de desengrasado de la harina de teff aumentó considerablemente el valor proteico.

La Fig. 3 muestra la variación de la solubilidad de la harina desengrasada de teff a diferentes valores de pH, mostrando una mayor solubilidad a pH 12, sin embargo, los valores altos o bajos de pH pueden alterar la conformación de las proteínas, por tal motivo, se optó por trabajar a pH 10.5 el cual presenta la segunda concentración proteica más elevada siendo de 86.59 mg prot/mL, siendo considerado como el pH óptimo de extracción proteica. Por otro lado, el punto isoelectrico se mostró cercano al pH 4.0 con una concentración de 17.46 mg prot/mL. De acuerdo con González (1999) el punto isoelectrico se refiere al valor de pH en el cual las proteínas presentan una solubilidad mínima debido a que la carga

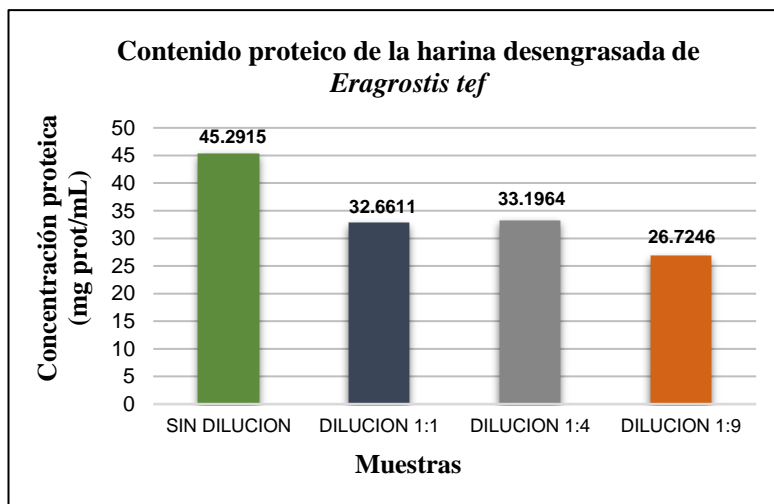


Figura 2. Concentración proteica de la harina desengrasada

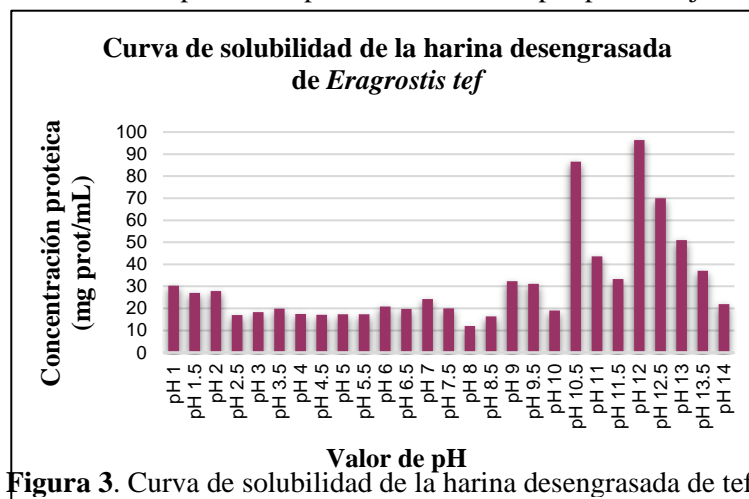


Figura 3. Curva de solubilidad de la harina desengrasada de teff

eléctrica neta de los polímeros a ese determinado pH es cero, lo que favorece en mayor grado la interacción proteína-proteína obteniendo así una máxima

acuerdo con Quelal *et al.* (2019), obtuvieron un aislado proteico de la harina desengrasada de quinua, empleando agua destilada en una relación 1:10 (p/v), realizando la extracción de proteínas a pH 9.0 durante una hora y una vez obtenido el sobrenadante realizaron la precipitación isoelectrica a pH 4.5, obteniendo así un aislado con una concentración proteica de 72.81%. Por otra parte, en un estudio realizado por Qi *et al.* (1997), obtuvieron un aislado proteico de la harina desengrasada de soya realizando la extracción de proteínas a pH 9.0 y precipitándolas a pH 4.5, obteniendo un aislado que contenía el 92% de proteínas. Comparando con los resultados obtenidos por Quelal *et al.* (2019) y Qi *et al.* (1997) se puede concluir que la determinación de los pH de extracción y de precipitación del sustrato a emplear, son factores determinantes a la hora del proceso de aislamiento; comparando las concentraciones proteicas resultantes, estas son muy cercanas a la obtenida en este estudio, recordando que un aislado proteico es aquel que contiene cerca del 90% de proteínas, por lo cual se denota la eficiencia del proceso realizado para la obtención de la fracción proteica.

Como se mencionó anteriormente, los aislados proteicos son altamente insolubles, por ello que en la Fig. 4 se muestre la curva de solubilidad del aislado proteico de teff empleando el método de Bradford para dicha determinación. Se observa precipitación proteica. Quelal *et al.* (2019) señala que los rangos de mayor precipitación de proteínas suelen ser entre 4.0 y 4.5, por lo que se decidió utilizar el pH 4.0. Una vez obtenidos los valores del pH de extracción y de precipitación se realizó la obtención del aislado proteico.

Para la determinación proteica basada en el método de micro Kjeldhal, considerando el factor de conversión de 6.25 y el contenido de nitrógeno obtenido de 14.12%, la concentración proteica del aislado de teff fue del 88.29%. Cabe resaltar que el método ha sido empleado en

lugar del método de Bradford debido a la gran insolubilidad de las muestras, lo cual ocasionaba un alto margen de error con las lecturas de proteínas por espectrofotometría. De que las muestras parecieran tener un alto contenido proteico (que van desde 15.71 mg prot/mL hasta 108.59 mg prot/mL), incluso más que el obtenido en la harina desengrasada, sin embargo, este método no es el más apto para este tipo de muestras ya que puede haber interferencias entre la unión del colorante (azul de coomassie) y las proteínas debido a la poca solubilidad que presentan, lo cual generaría resultados imprecisos sobre la concentración proteica. Por esta razón, se optó por utilizar el método de Kjeldhal debido a su alta confiabilidad.

Con el aislado proteico obtenido y adecuadamente liofilizado, se realizó la hidrolisis empleando la enzima Alcalasa (pH óptimo: 8.0, temperatura: 50°C, concentración de sustrato: 5%, y cumpliendo con la relación enzima-sustrato: 0.3 UA/g de proteína) y la enzima Flavourzima (pH óptimo: 7.0,

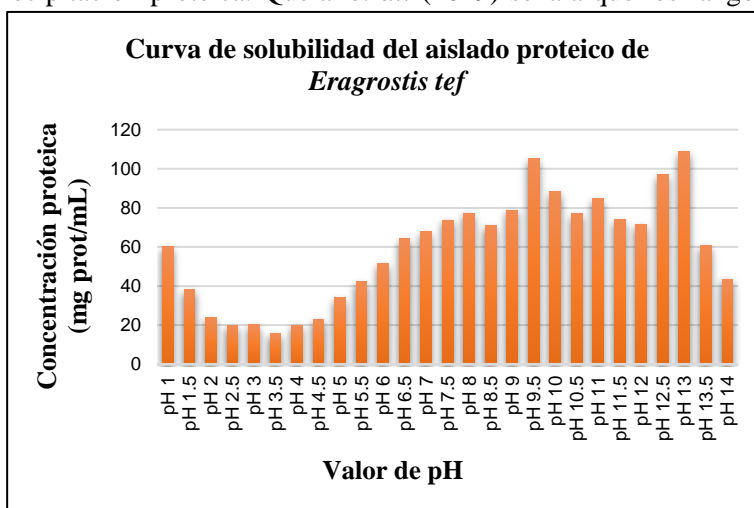
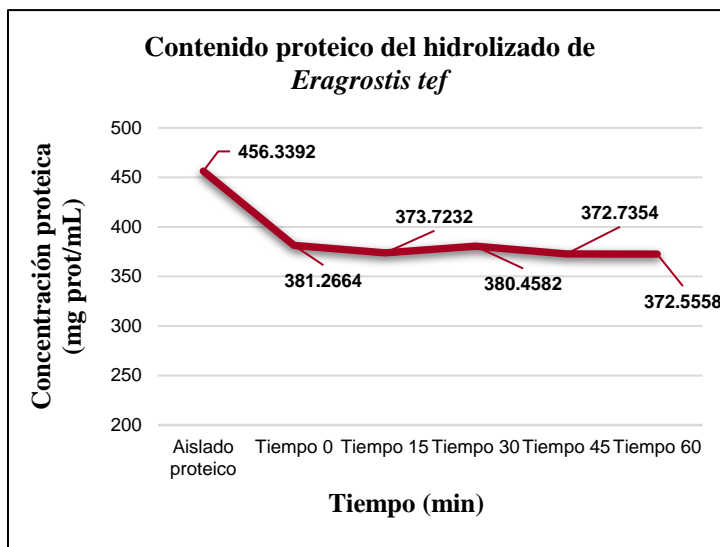


Figura 4. Curva de solubilidad del aislado proteico de teff



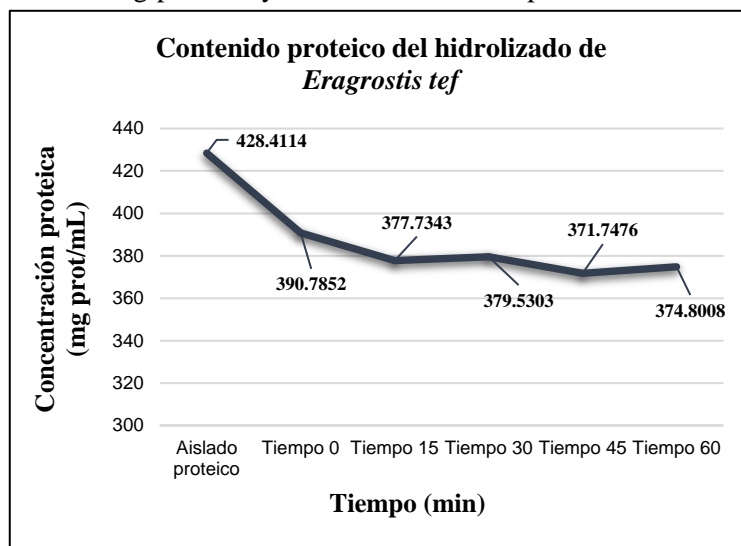
temperatura: 50°C, concentración de sustrato: 5%, y cumpliendo con la relación enzima-sustrato: 50 LAPU/g de proteína).

La concentración proteica de los distintos hidrolizados obtenidos utilizando la enzima Alcalasa se muestra en la Fig. 5, donde es posible apreciar la disminución del contenido proteico al transcurrir el tiempo durante proceso de hidrolisis con respecto a la concentración inicial (456.3392 mg prot/mL), siendo evidente el aumento de la concentración proteica con respecto a las fracciones previamente analizadas, lo cual denota el efecto de la enzima y de la temperatura con el paso del tiempo con respecto a la conformación proteica del complejo.



**Figura 5.** Concentración proteica del hidrolizado de teff empleando Alcalasa con respecto al tiempo

Por otro lado, en la Fig. 6 se muestra la determinación proteica utilizando la enzima Flavourzima, en la cual se puede apreciar que al inicio el contenido proteico fue de 428.4114 mg prot/mL y al transcurrir el tiempo se vuelve a reflejar una disminución, ya que a los 60 minutos de hidrolisis se reportó una concentración final de 374 mg prot/mL. De acuerdo con el estudio realizado por Nazate (2016), obtuvo un hidrolizado proteico de quinua empleando la enzima papaína con una relación enzima sustrato del 0.159 UA/g de proteína, a una temperatura de 65°C a pH 6.5, el cual tuvo una concentración proteica de 73.41%, lo cual denota la importancia de la selección enzimática para realizar los hidrolizados, donde una endoproteasa y una exoproteasa terminarán generando péptidos con diferente conformación y tamaño, a lo cual se le podrá atribuir su posible actividad biológica.



**Figura 6.** Concentración proteica del hidrolizado de teff empleando flavourzima con respecto al tiempo

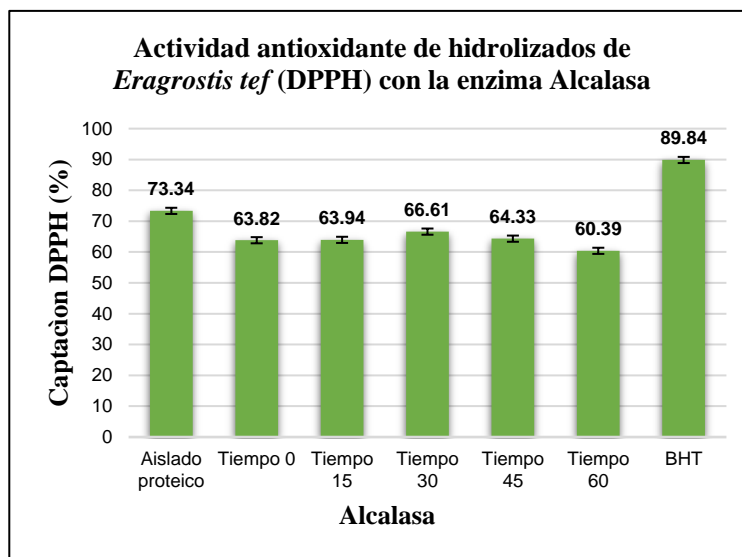
El hidrolizado de soya realizado por Munive (2009) presentó un contenido de proteína del 80.28% siendo menor al encontrado en el aislado de soya (84.79%), mostrando una disminución en el contenido proteico la cual puede deberse a que el hidrolizado fue sometido a congelación antes de ser liofilizado.

Comparando con Munive (2009), la disminución de la concentración proteica en este trabajo puede deberse a lo mismo, ya que antes de realizar el hidrolizado, el aislado proteico se mantuvo en congelación para posteriormente liofilizarlo, por lo cual al momento de ajustar la temperatura óptima para la enzima existe la posibilidad de que algunas proteínas se desnaturalizaran.

Edwards (2019) menciona que las enzimas o proteasas más utilizadas para la hidrólisis enzimática de proteínas son la tripsina, quimiotripsina, pepsina y alcalasa, donde la especificidad de las enzimas afecta el tamaño, la composición de los aminoácidos libres y sus secuencias peptídicas, por lo que el uso de ellas puede influir en la bioactividad o en la naturaleza antioxidante de los hidrolizados resultantes.

Para la determinación de la actividad antioxidante se empleó el método DPPH, el cual consiste en que este radical posee un electrón desapareado de color azul-violeta que se decolora a amarillo pálido debido a la reacción en presencia de sustancias antioxidantes, midiendo la absorbancia a 517 nm (Ramos *et al.*, 2008).

En la Fig. 7 se muestran los valores obtenidos de captación de DPPH de la actividad antioxidante utilizando la enzima alcalasa, los cuales oscilan entre el 60 y 66%, registrando su valor más elevado a los treinta minutos después de agregar la enzima (tiempo 30) con un 66.61% en comparación con el BHT con un 89.84%. De acuerdo con Niño *et al.* (2019), la actividad antioxidante está relacionada con las secuencias peptídicas que se liberan durante la hidrólisis, debido a que entre más pequeño sea el péptido mayor actividad tendrá. También su actividad biológica puede estar relacionada con la composición de aminoácidos, el grado de hidrólisis y la distribución de los péptidos donantes de electrones capaces de reaccionar con los radicales libres para así poder convertirlos en productos más estables (Islam *et al.*, 2021).



**Figura 7.** Actividad antioxidante de los hidrolizados de teff empleando la enzima alcalasa



Por otro lado, en la Fig. 8 se muestran los resultados obtenidos de la actividad antioxidante empleando la enzima flavourzima, en la cual se observa mayor actividad a los 45 minutos del proceso de hidrolisis presentando una captación del 66.61% en comparación al BHT. El porcentaje de captación varía de acuerdo con el tiempo de reacción observando valores entre el 58 y 66%.

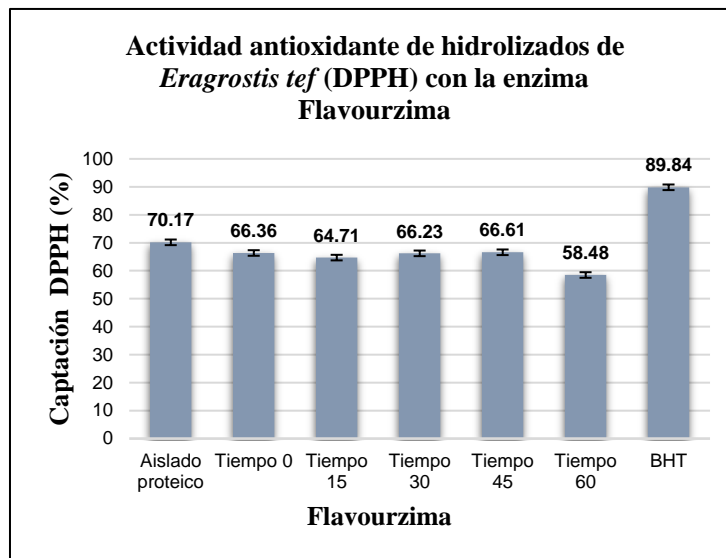
En un estudio realizado por Niño *et al.* (2019) determinaron la actividad antioxidante del amaranto empleando el método DPPH. Para esto, utilizaron hidrolizados de amaranto realizados con las enzimas alcalasa y flavourzima resultando con una actividad antioxidante de 340.17  $\mu\text{mol ET/mL}$  y 281.92  $\mu\text{mol ET/mL}$  ( $\mu\text{mol}$  equivalente de Trolox por mililitro) respectivamente. En otro estudio realizado por Islam *et al.* (2021) se empleó el método DPPH en hidrolizados de proteína de musculo de tortuga empleando enzimas como flavourzima y alcalasa, dando como resultado un porcentaje de captación del 68.32% y 57.45% respectivamente, obteniendo así una mayor actividad con el uso de la flavourzima.

En base a los resultados de la Fig. 7 y 8, es evidente que existe una mayor captación del radical DPPH en el aislado proteico, lo cual indica que el aislado de teff posee una actividad antioxidante del 70-73%, siendo mayor a la obtenida por los hidrolizados que fue de 66.61%. Dicho comportamiento es similar a lo reportado por Cárdenas (2016) donde el aislado proteico de chíá presentó una actividad antioxidante del 95.98%.

De acuerdo con los resultados obtenidos en la presente investigación, se demostró que la hidrolisis enzimática favorece la producción de biopéptidos con potencial actividad antioxidante, destacando los hidrolizados obtenidos empleando flavourzima a los 45 minutos (66.61%), seguidos de la alcalasa a los 30 minutos de iniciada la hidrolisis (66.61%).

## CONCLUSIÓN

Los productos proteicos provenientes de teff presentaron una buena actividad antioxidante por lo que se sugiere su utilización en la elaboración de alimentos funcionales empleándolos como aditivos en la industria agroalimentaria. Esto podría aumentar el valor nutricional de los mismos, trayendo consigo beneficios para la salud humana, además de conferir diversas propiedades tecnofuncionales en los productos elaborados.



**Figura 8.** Actividad antioxidante de hidrolizados de teff empleando la enzima flavourzima

## BIBLIOGRAFIA

- Abebe, W. (2015). El Tef: cultivo de interés en el desarrollo de alimentos: estudio de sus características y potencial industrial. Universidad de Valladolid. 11-19. Recuperado de <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/12341>
- Almazán, L., González, F., Mora, R., & Robles, M. (2016). Influencia del método desengrasado en las características fisicoquímicas y estructurales de aislados proteicos de cacahuete. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 1(1): 91
- Baye, K. (2014). Teff: nutrient composition and health benefits. Working Paper 67 Ethiopian Strategy Support Program. Addis Ababa Ethiopia. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/266316373\\_Teff\\_Nutrient\\_Composition\\_and\\_Health\\_Benefits](https://www.researchgate.net/publication/266316373_Teff_Nutrient_Composition_and_Health_Benefits)
- Benítez, R., Ibarz, A., & Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 42(2): 227-232.
- Cárdenas, M. (2016). Obtención de aislados proteicos de chía (*Salvia hispánica* L.) y evaluación in vitro de su digestibilidad gastrointestinal, actividad antiinflamatoria y antioxidante. Ecuador: Universidad Técnica de Ambato. 46. Recuperado de: <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/23819/1/AL606.pdf>
- Chaparro, S., Tavera, M., Martínez, J., & Gil, J. (2014). Propiedades funcionales de la harina y de los aislados proteicos de la semilla de guanábana (*Annona muricata*). *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 17(1): 152.
- Colunga, J. (2008). Estudio del tratamiento de la fruta de *Jatropha curcas* L para la obtención de aceite y co-productos. Tecnológico de Monterrey. Monterrey, Nuevo León. 44-46.
- Echeverría, S., Ramírez, B., Medina, C., Magaña, E., Torres, P., & Ledesma, A. (2020). Actividad antioxidante de harinas de amaranto obtenidas por extrusión y análisis parcial de su calidad proteica in vivo. *Biotecnia. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. 22(1): 25.
- Edwards, J. (2019). The physicochemical properties of soy protein hydrolysate and its formulation and stability with encapsulated probiotic. *Graduate Theses and Dissertations*.
- Herrera, F., Mares, E., Del Rincon, M., Ordoñez, Ñ., & León, M. (2016). Analisis proteómico preliminar de las proteínas de reserva de la semilla de chicayota (*Cucurbita argyrosperma sororia*). *Investigación y Desarrollo en Ciencia y tecnología de Alimentos*. 1(2): 432-433.
- Islam, M, Hongxin, W., Admassu, H., Mahdi, A, Chaoyang, M. & Wei, F. (2021). In vitro Antioxidant Cytotoxic and Antidiabetic Activities of Protein Hydrolysates Prepared from Chinese Pond Turtle (*Chinemys reevesii*) *Food Technology and Biotechnology*. 59 (3), 360–375.
- Ketema, S. (1997). Teff. *Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 12. Institute of plant genetics and crop plant research, Gatersleben/Int. plant genetic resources institute, (IPGRI) Rome Italy. 7-19. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/245268437\\_Tef\\_Eragrostis\\_tef\\_Zucc\\_Trotter](https://www.researchgate.net/publication/245268437_Tef_Eragrostis_tef_Zucc_Trotter)
- Martínez, J., Medina, O., & Zambrano, R. (2011). Estudio fisicoquímico funcional de los aislados proteicos en semillas de maracuya (*Passiflora edulis* f). *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 9(1): 72.
- Munive, P. (2009). Elaboración de un suplemento alimenticio en polvo para consumo humano a partir de una mezcla de hidrolizado de soya y almidón de maíz. Escuela Politecnica Nacional. p. 68. Recuperado de <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1666/1/CD-2258.pdf>
- Nazate, K. (2016). Obtención de proteína hidrolizada de quinua *Chenopodium quinoa* willd a partir de un aislado proteico. Universidad Técnica del Norte. Recuperado de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/5314>
- Niño, A., Sebastian, J., Pérez, E., Añorve, J., Rodríguez, G., Jiménez, R., Bautista, M., & González, L. (2019). Actividad antioxidante de proteína de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) hidrolizada por alcalasa y flavourzyme. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 4. 11.

- Qi, M.; Hettiarachchy, N., & Kalapathy, U. (1997). Solubility and emulsifying properties of soy protein isolates modified by pancreatin. *J. Food Sci.* 62(6): 1110-1115.
- Quelal, M., Nazate, K., Villacrés, E., & Cuarán, J. (2019). Obtención y caracterización de un hidrolizado proteico de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd). *Revista Enfoque UTE*, 10(2): 80-83.
- Ramos, E., Castañeda, B., & Ibañez, L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *Rev. Acad Peru Salud.* 15(1). 43.
- Umaña, G., Restrepo, L., Lopera, C., S., & Gallardo, C., (2012). Caracterización de harina de teff (*Eragrostis tef*) como materia prima alternativa para panificados libres de gluten. *Vitae*, 19(1): 228.

## Componentes funcionales aplicados a bebidas

C.K. Ruiz-Mata\*<sup>1,3</sup>, J.G. Báez-González<sup>1</sup> y E. García-Márquez<sup>2</sup>

**1** Departamento de Alimentos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León.

**2** Departamento de Desarrollo de Nuevos Productos, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Subsele Noreste. **3** Departamento de Alimentos.

\*[caroline.ruizmataxc@uanl.edu.mx](mailto:caroline.ruizmataxc@uanl.edu.mx)

### RESUMEN

El consumo de alimentos poco nutritivos con alto aporte calórico se encuentran asociados a las principales causas de defunción de México, debido a enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus. Es por esto que se ha planteado el consumo de alimentos naturales y productos minimamente procesados y más nutritivos. Las bebidas son el medio perfecto de transporte para compuestos bioactivos con efectos funcionales al ser consumidos. El objetivo de la revisión es el de dar a conocer diversos agentes que pueden ser adicionados a bebidas, necesarios para la prevención o tratamiento de enfermedades, padecimientos o síntomas.

**Palabras clave:** bebidas, fortificación, funcional.

### ABSTRACT

The consumption of low-nutrition foods with a high caloric intake are associated with the main causes of death in Mexico, due to cardiovascular diseases and diabetes mellitus. Therefore, the consumption of natural foods and minimally processed and more nutritious products has been raised. Beverages are the perfect means of transport for bioactive compounds with functional effects when consumed. The objective of the review is to publicize various agents that can be added to beverages, necessary for the prevention or treatment of diseases, conditions or symptoms.

**Keywords:** beverages, fortification, functional.

## INTRODUCCIÓN

El consumo de alimentos poco nutritivos con un alto aporte calórico provocan efectos negativos y el deterioro de la salud del consumidor (Abraham et al., 2018), estos encuentran asociados a las principales causas de defunciones en México. En el periodo enero-junio 2021, el primer puesto de las causas de muerte fue ocupado por las enfermedades cardiovasculares, seguido por la diabetes mellitus (INEGI, 2022). Es por esto por lo que surge la búsqueda de alternativas de productos alimenticios cuyo propósito sea el de prevenir o tratar enfermedades o padecimientos crónicos.

Las bebidas son un producto de alto consumo en el mundo, con amplias aplicaciones en el mercado y que constituye un pilar de la dieta humana. Estas son regularmente consumidas por su buen sabor y sensación, aunque el aporte calórico es excesivo. Sin embargo, también existen bebidas que son consumidas por su aporte nutricional y beneficios a la salud (Corbo et al., 2014). Las bebidas son importantes vehículos para el transporte de sustancias nutritivas a través del cuerpo, que además son consumidas en conjunto con los alimentos (Ahmad & Ahmed, 2019). Las bebidas cuya formulación ha sido modificada mediante la adición de un constituyente como producto de fortificación, o como sustituto parcial o total de un ingrediente del producto original, cuya función es proveer de efectos benéficos a la salud del consumidor, se conocen como bebidas funcionales (Butnariu & Sarac, 2019; Turkmen et al., 2019). El objetivo de esta revisión es el de describir los compuestos activos y su funcionalidad en la salud humana cuando son adicionados a las formulaciones de bebidas.

### **Agentes bioactivos**

Existen una amplia variedad de sustancias, moléculas u macromoléculas capaces de proporcionar efectos benéficos a la salud de los consumidores, como los agentes antioxidantes, prebióticos/probióticos y minerales, entre otros, cuyas aplicaciones han sido reportadas en la literatura. A manera de ejemplo nosotros presentamos aquellas moléculas o mezclas de estos en la **Tabla I**.

#### *Polifenoles*

Se trata de metabolitos secundarios derivados de plantas y cuya presencia varía en concentración, dependiendo de la línea taxonómica o especie vegetal utilizada para su obtención. Entre los grupos más reconocidos se encuentran los ácidos fenólicos, flavonoides y los polímeros de flavonoides. Son moléculas que pueden tener dos o más grupos hidroxilo ligados a los anillos aromáticos, también llamados grupos fenólicos (Harnly et al., 2007). Esta estructura es la responsable de que sean considerados como compuestos antioxidantes, ya que tienen la capacidad de donar un átomo de hidrógeno o electrón a los radicales libres, interrumpiendo así la reacción en cadena de la oxidación (Albuquerque et al., 2021), es decir, los antioxidantes tienen la capacidad de neutralizar los efectos oxidantes de radicales libres, evitando efectos nocivos en las moléculas biológicas.

Los polifenoles pueden ser agregados a las bebidas con fines distintos, como retrasar la oxidación lipídica y la consecuente prolongación en la vida de anaquel; ajuste de color; o como agentes dirigidos a combatir el daño ocasionado por estrés oxidativo en el cuerpo humano (Shahidi & Zhong, 2015).

Se ha reportado (Olas, 2022) que los polifenoles poseen la capacidad de inhibir la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), con actividad antiplaquetas, anticoagulante y antifibrinolítico, asociados a enfermedades cardiovasculares.

**Tabla I.** Bebidas funcionales reportadas en la literatura.

Tipo de bebida	Agente bioactivo	Funcionalidad	Referencia
Sattu	Rutina Calcio Riboflavina	Actividad antioxidante. Fortificación.	Sharma et al. (2021)
Chocolate con leche	Omega-3	Disminución de daño muscular. Disminución de colesterol y triglicéridos. Minimiza efectos de ejercicio exhaustivo.	Morato et al. (2015)
Bebida láctea	Proteína de germinado de soya	Agente antiinflamatorio. Agente antioxidante. Agente de pérdida de peso.	Winarsi et al. (2020)
Bebida de leche de soya y pulpa de durazno	Proteína de soya Isoflavonas Oligosacáridos	Efecto sobre cáncer de colon, mama y próstata. Control de los síntomas de la menopausia. Prevención de enfermedades cardiovasculares. Actividad estrogénica. Actividad antioxidante. Actividad anti-hemolítica. Actividad antitumoral. Actividad antifúngica. Actividad bactericida. Reducción de microbiota nociva. Aumento de bacterias bifidogénicas en el intestino. Actividad anticarginogénica. Reducción de niveles séricos de lípidos.	Rodrigues & Moretti (2008)
Jugo de manzana fermentado con probióticos	<i>Lactobacillus casei</i>	Aumento en contenido de carbohidratos. Mejora en propiedades antioxidantes. Aumento en contenido de enzimas y vitaminas (C y B).	Pereira et al. (2011)

*Polisacáridos*

Los polisacáridos son macromoléculas compuestas de monosacáridos unidos por enlaces glicosídicos en cadenas lineales o ramificadas. Su distribución se extiende en las especies vegetales, microorganismos,

algas y animales (Yu et al., 2018). En la industria son comúnmente utilizados como agentes espesantes, gelificantes, emulsionantes o estabilizantes (Álvarez et al., 2021). Su inclusión en bebidas funcionales se debe principalmente a su potencial prebiótico, aunque también se ha reportado su uso para la prevención de estrés oxidativo y la reducción de la grasa acumulada (Missaoui et al., 2020).

### *Ácidos grasos insaturados*

Los ácidos grasos que en la cadena de carbono contienen un grupo metilado y un grupo carboxilo en sus extremos. Estos pueden clasificarse en dos tipos: ácidos grasos saturados y ácidos grasos insaturados. La primera clasificación debe su nombre a que los átomos de carbono se encuentran unidos a átomos de hidrógeno por medio de un enlace sencillo; mientras que los insaturados son aquellas cadenas donde existe uno o más dobles enlaces entre dos átomos de carbono, debido a la ausencia de un átomo de hidrógeno (Rustan & Drevon, 2005).

Existen una serie de ácidos grasos insaturados que no pueden ser sintetizados en el cuerpo, llamados ácidos grasos esenciales, como el ácido linoleico (AL, 18:2  $\omega$ -6) y ácido alfa-linolénico (ALA, 18:3  $\omega$ -3), que son metabolizados a ácido araquidónico (AA, 20:4  $\omega$ -6) y ácido docosahexanoico (DHA, 22:6  $\omega$ -3), respectivamente. Estos ácidos grasos son comúnmente incluidos en productos para su fortificación con el fin de contribuir a la dieta humana, al ser constituyentes de los fosfolípidos, los cuales se encuentran formando en la membrana celular, especialmente en la retina y en la corteza cerebral (principalmente DHA), y las plaquetas (principalmente AA) (Theobald & Lunn, 2006; Uauy & Dangour, 2006).

### *Proteínas y péptidos*

Las proteínas o péptidos son cadenas de aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos. Cuando son ingeridas, estas macromoléculas son hidrolizadas por proteasas y peptidasas para obtener aminoácidos, componentes esenciales de la dieta humana, ya que aportan nitrógeno y sulfuro, que no pueden ser obtenidos de otra forma por el cuerpo humano. Estas estructuras son esqueletos de cadenas hidrocarbonadas, necesarios para la formación de nuevas moléculas. Existen 20 aminoácidos (aa) diferentes a partir de los cuales se pueden sintetizar proteínas, péptidos y otras moléculas de bajo peso molecular (Wu, 2016). Estos aminoácidos se clasifican en aminoácidos esenciales (fenilalanina, valina, triptófano, treonina, isoleucina, metionina, histidina, leucina y lisina) y no esenciales (alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, prolina, serina y tirosina). Los primeros llamados así ya que el cuerpo humano carece de las rutas metabólicas para sintetizarlos, por lo que deben ser suplementados mediante la dieta (Lopez & Mohiuddin, 2021; Wu et al., 2013).

### *Probióticos*

Definidos como microorganismos que, al ser administrados en dosis adecuada, proporcionan efectos benéficos a la salud del consumidor (Turkmen et al., 2019). Comúnmente, estos son parte de la elaboración de bebidas lácteas como el yogur y sus derivados. Las bacterias probióticas comúnmente usadas en la manufactura de bebidas lácteas son *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, y *Bifidobacterium bifidum* (Corbo et al., 2014). Las bacterias ácido-lácticas (BAL) y, el género *Bifidobacterium* tienen la capacidad de incrementar el perfil nutrimental de la bebida y llegar al colon en un número viable. Se ha sugerido que es aceptable una cantidad  $>10^6$ - $10^7$  UFC/g o UFC/mL (Kasapoğlu et al., 2019). Estos probióticos sintetizan vitaminas *in vivo*, como folato, cobalamina, menaquinona, riboflavina, biotina, piridoxina, ácido nicotínico y tiamina (Dini, 2019), moléculas esenciales para la supervivencia de la vida.

### *Vitaminas y minerales*

Las vitaminas y minerales son nutrientes necesarios en la dieta humana. Las vitaminas se agrupan en dos clases, las liposolubles (A, D, E y K) y las hidrosolubles (C y complejo B) (Dini, 2019; Vincenzetti et al., 2021). Estas moléculas son necesarias para mantener la salud de diferentes maneras, poseen efectos

variados, entre ellos actividad antioxidante, prevención de enfermedades cardiovasculares, retardo del envejecimiento, etc. La demanda de este micronutriente se ve incrementado cuando se sufren ciertas condiciones, etapas o situaciones, como las ciertas patológicas, malnutrición, una dieta deficiente, actividad física elevada, embarazo, estrés y adicción a las drogas. De manera desafortunada, la naturaleza de estos compuestos y su sensibilidad a los factores extrínsecos (luz, calor, oxígeno) e intrínsecos (pH) genera la pérdida de su funcionalidad al ser sometidos a los métodos de conservación o procesamiento de alimentos, ocasionando una disminución en el contenido de vitaminas disponibles en el alimento (Acevedo et al., 2019), por lo que, se requieren procesos de estabilización y mejor aprovechamiento.

Los minerales también son agrupados en dos clases, aquellos llamados micronutrientes, como el cromo, manganeso, hierro, cobre, zinc, entre otros, ya que, se requiere una ingesta diaria pequeña, menor que 100 mg/día; y los macronutrientes, como el sodio, calcio, magnesio, potasio, etc., que, al contrario, son necesarios en cantidades grandes y varían entre 100 mg/día a 1000 mg/día (Fraga, 2005). Estos nutrientes son utilizados ampliamente en la industria de las bebidas deportivas, ya que se adicionan a la formulación con el fin de reemplazar los electrolitos perdidos (Dini, 2019).

Cuando el consumo de vitaminas y minerales es bajo, escaso o nulo, se pueden llegar a presentar síntomas o enfermedades derivados de la deficiencia de nutrientes (Ahmad & Ahmed, 2019), razón por la que, muchos alimentos y bebidas son fortificados con estos componentes, necesarios en dieta humana.

## CONCLUSIONES

Las bebidas son un medio adecuado para la adición de agentes con actividad funcional. Existe una amplia variedad de compuestos bioactivos y microorganismos que exhiben efectos benéficos a la salud que pueden ser agregados a las formulaciones de bebidas para su fortificación, o la sustitución parcial o total de un componente. La elección del tipo de bebida y el agente bioactivo depende ampliamente del público dirigido y la problemática orientada a resolver, utilizando como guía las propiedades y los efectos que proporciona cada tipo de componente funcional.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abraham, S., Martinez, M., Salas, G., & Smith, J. (2018). College student's perception of risk factors related to fast food consumption and their eating habits. *Journal of Nutrition and Human Health*, 02(01). <https://doi.org/10.35841/nutrition-human-health.2.1.18-21>
- Acevedo, C., Gronenberg, L., Mack, M., Commichau, F., & Genee, H. (2019). Microbial cell factories for the sustainable manufacturing of B vitamins. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 18–29. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.07.006>
- Ahmad, A., & Ahmed, Z. (2019). Fortification in Beverages. In *Production and Management of Beverages*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815260-7.00003-1>
- Albuquerque, B. R., Heleno, S. A. S., Oliveira, M. B. P. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2021). Phenolic compounds: Current industrial applications, limitations and future challenges. In *Food and Function* (Vol. 12, Issue 1, pp. 14–29). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/d0fo02324h>
- Álvarez, S. A., Rocha-Guzmán, N. E., Moreno-Jiménez, M. R., Gallegos-Infante, J. A., Pérez-Martínez, J. D., & Rosas-Flores, W. (2021). Functional fermented beverage made with apple, tiburones, and pectic polysaccharides from prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L. Mill) peels. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(9). <https://doi.org/10.1111/jfpp.15745>
- Butnariu, M., & Sarac, I. (2019). Functional Food. *International Journal of Nutrition*, 3(3), 7–16. <https://doi.org/10.14302/issn.2379>



- Corbo, M. R., Bevilacqua, A., Petruzzi, L., Casanova, F. P., & Sinigaglia, M. (2014). Functional Beverages: The Emerging Side of Functional Foods: Commercial Trends, Research, and Health Implications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(6), 1192–1206. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12109>
- Dini, I. (2019). An Overview of functional file:///C:/Users/User/Downloads/10.1016@B978-0-12-815260-7.00003-1.pdfbeverages. In A. Grumezescu & A. Holban (Eds.), *Functional and Medicinal Beverages* (pp. 1–40). Woodhead Publishing.
- Fraga, C. G. (2005). Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. In *Molecular Aspects of Medicine* (Vol. 26, Issues 4-5 SPEC. ISS., pp. 235–244). <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.013>
- Harnly, J. M., Bhagwat, S., & Lin, L. Z. (2007). Profiling methods for the determination of phenolic compounds in foods and dietary supplements. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(1), 47–61. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1424-7>
- Kasapoğlu, K. N., Daşkaya-Dikmen, C., Yavuz-Düzgün, M., Karaça, A. C., & Özçelik, B. (2019). Enrichment of Beverages With Health Beneficial Ingredients. In *Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816687-1.00003-5>
- Lopez, M. J., & Mohiuddin, S. S. (2021). *Biochemistry, Essential Amino Acids*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL). <http://europepmc.org/books/NBK557845>
- Missaoui, M., D'Antuono, I., D'Imperio, M., Linsalata, V., Boukhchina, S., Logrieco, A. F., & Cardinali, A. (2020). Characterization of micronutrients, bioaccessibility and antioxidant activity of prickly pear cladodes as functional ingredient. *Molecules*, 25(9). <https://doi.org/10.3390/molecules25092176>
- Morato, P. N., Rodrigues, J. B., Moura, C. S., e Silva, F. G. D., Esmerino, E. A., Cruz, A. G., Bolini, H. M. A., Amaya-Farfan, J., & Lollo, P. C. B. (2015). Omega-3 enriched chocolate milk: A functional drink to improve health during exhaustive exercise. *Journal of Functional Foods*, 14, 676–683. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.034>
- Olas, B. (2022). The Antioxidant, Anti-Platelet and Anti-Coagulant Properties of Phenolic Compounds, Associated with Modulation of Hemostasis and Cardiovascular Disease, and Their Possible Effect on COVID-19. *Nutrients*, 14(7), 1390. <https://doi.org/10.3390/nu14071390>
- Pereira, A. L. F., Maciel, T. C., & Rodrigues, S. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. *Food Research International*, 44(5), 1276–1283. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.035>
- Rodrigues, R. D., & Moretti, R. H. (2008). PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF PROTEIC BEVERAGE ELABORATED WITH SOYMILK AND PEACHES PULP. *BOLETIM DO CENTRO DE PESQUISA DE PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS*, 26(1), 101–110.
- Rustan, A. C., & Drevon, C. A. (2005). Fatty Acids: Structures and Properties. In *eLS*. Wiley. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0003894>
- Sharma, A., Mazumdar, B., & Keshav, A. (2021). Development, formulation, and analysis of fortified sattu beverage: Relationship between fortificant and additives. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(11). <https://doi.org/10.1111/jfpp.15964>
- Theobald, H. E., & Lunn, J. (2006). *The health effects of dietary unsaturated fatty acids*.
- Turkmen, N., Akal, C., & Özer, B. (2019). Probiotic dairy-based beverages: A review. *Journal of Functional Foods*, 53, 62–75.
- Uauy, R., & Dangour, A. D. (2006). Nutrition in brain development and aging: Role of essential fatty acids. In *Nutrition Reviews* (Vol. 64, Issue 5 SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1301/nr.2006.may.S24-S33>
- Vincenzetti, S., Santini, G., Polzonetti, V., Pucciarelli, S., Klimanova, Y., & Polidori, P. (2021). Vitamins in Human and Donkey Milk: Functional and Nutritional Role. *Nutrients*, 13(5).

- Winarsi, H., Yuniaty, A., & Ramadhan, G. (2020). Anti-inflammatory effects of functional milk drink enriched with soya bean sprout protein in breastfeeding mother. *Malaysian Journal of Nutrition*, 26(2), 289–302. [www.nutriweb.org.my](http://www.nutriweb.org.my)
- Wu, G. (2016). Dietary protein intake and human health. In *Food and Function* (Vol. 7, Issue 3, pp. 1251–1265). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c5fo01530h>
- Wu, G., Wu, Z., Dai, Z., Yang, Y., Wang, W., Liu, C., Wang, B., Wang, J., & Yin, Y. (2013). Dietary requirements of “nutritionally non-essential amino acids” by animals and humans. In *Amino Acids* (Vol. 44, Issue 4, pp. 1107–1113). <https://doi.org/10.1007/s00726-012-1444-2>
- Yu, Y., Shen, M., Song, Q., & Xie, J. (2018). Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. In *Carbohydrate Polymers* (Vol. 183, pp. 91–101). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.009>

## Determinación de actividad antioxidante en alimentos funcionales

E.L. Dorantes-Salazar\*<sup>1</sup>, J.G. Báez-González<sup>1</sup>, É. Gastelúm-Martínez<sup>3</sup>, J.L. Morales-Landa y E. García-Marquez<sup>2</sup>

**1** Departamento de Ciencias de Alimentos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. **2** Departamento de Desarrollos de nuevos productos, Centro de investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C. Subsele Noreste. **3** Departamento de Desarrollos de nuevos productos, Centro de investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C. Subsele sureste.

\*[lizabeth.dorantessl@uanl.edu.mx](mailto:lizabeth.dorantessl@uanl.edu.mx)

### RESUMEN

Los alimentos funcionales son aquellos a los que se les ha adicionado compuestos bioactivos con el objetivo de cumplir una función específica en el organismo. Entre la gran variedad de compuestos bioactivos que pueden ser adicionados se encuentran los compuestos antioxidantes, los cuales tienen la función de inhibir los radicales libres presentes en el organismo, responsables de causar daños en los lípidos de la membrana celular y en el DNA, que propicia diversas enfermedades crónicas degenerativas. Es por esto que resulta de vital importancia conocer las metodologías disponibles para la determinación de actividad antioxidante en alimentos funcionales. Gran parte de los métodos reportados en la literatura hacen uso de técnicas espectrofotométricas a través de mecanismos HAT y SET. Entre ellas se pueden destacar las metodologías de DPPH, ABTS, FRAP, TPC y TFC. No se suele hacer uso de metodologías oficiales debido a que no cuantifican en su totalidad los compuestos antioxidantes presentes, su complejidad o el gran volumen de reactivos empleado. Por lo tanto, la gran mayoría de publicaciones científicas hacen uso de metodologías publicadas en artículos científicos. Adicionalmente, los métodos se ven afectados por distintas sustancias presentes en la matriz, que causan interferencia e incertidumbre en los resultados.

**Palabras clave:** Radicales libres, antioxidantes y alimentos.

### ABSTRACT

Functional foods are those to which bioactive compounds have been added in order to fulfill a specific function in the body. Among the great variety of bioactive compounds that can be added are antioxidant compounds, which have the function of inhibiting the free radicals present in the organism, responsible for causing damage to the lipids of the cell membrane and to the DNA, which promotes various chronic degenerative diseases. This is why it is vitally important to know the methodologies available for the determination of antioxidant activity in functional foods. Much of the methods reported in the literature make use of spectrophotometric techniques through HAT and SET mechanisms. Among them, the DPPH, ABTS, FRAP, TPC and TFC methodologies can be highlighted. Official methodologies are not usually used because they do not fully quantify the antioxidant compounds present, their complexity, or the large volume of reagents used. Therefore, the vast majority of scientific publications make use of methodologies published in scientific articles. Additionally, the methods are affected by different substances present in the matrix, which cause interference and uncertainty in the results.

**Keywords:** Free radicals, antioxidant & food.

## INTRODUCCIÓN

Los alimentos funcionales son aquellos a los que les han sido añadido compuestos bioactivos, con el objetivo de cumplir una función específica dentro del organismo (Zain et al., 2022). Existe una amplia variedad de agentes bioactivos que pueden ser adicionados, entre los que se encuentran los compuestos antioxidantes.

Los antioxidantes son moléculas que tienen la función de inhibir o disminuir el proceso de oxidación de biomacromoléculas. Estos se pueden encontrar en pequeñas concentraciones dentro del cuerpo humano cumpliendo distintos roles fisiológicos. Entre ellos se puede destacar la capacidad para prevenir el estrés oxidativo, causado por un desbalance entre la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y su desintoxicación. Los radicales libres causan daños en los lípidos de la pared celular y en el DNA, propiciando la formación de muchos tipos de enfermedades crónicas degenerativas (Adwas et al., 2019).

Los antioxidantes pueden ser clasificados como endógenos y exógenos. Los antioxidantes endógenos (también conocidos como enzimáticos) lo constituyen los compuestos producidos por el propio organismo como mecanismo de defensa. Mientras que, los antioxidantes exógenos (también conocidos como no enzimáticos) son aquellos obtenidos a través de la dieta. Estas moléculas inhibidoras de radicales libres pueden ser obtenidos de fuentes naturales como los polifenoles, las vitaminas y algunos minerales; o ser de carácter sintético, como el butilhidroxitolueno (BHT) y butilhidroxianisol (BHA) (Flieger et al., 2021; Yadab et al., 2016), aunque estos últimos han sido usados para retardar el proceso de oxidación de lípidos y aceites comestibles. El objetivo de esta revisión es conocer las metodologías disponibles para la determinación de la actividad antioxidante en alimentos funcionales.

### Actividad antioxidante

Gran parte de los métodos para la determinación de la actividad antioxidante hacen uso de técnicas espectrofotométricas a través de mecanismos de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y de transferencia de un solo electrón (SET) (Sirivibulkovit et al., 2018). Pérez-Jiménez & Saura-Calixto (2006) determinaron que ciertos constituyentes no antioxidantes del alimento tales como los aminoácidos y ácidos urónicos pueden interferir con los polifenoles presentes en la matriz alimentaria, generando una capacidad antioxidante diferente al que obtendrían los polifenoles por sí solos, por lo que es necesario tenerlo en consideración para evitar la sobreestimación de antioxidantes.

En adición no existen metodologías oficiales para todos los métodos que se emplean para la determinación de la actividad antioxidante en alimentos funcionales (**Tabla I**). Mientras que aquellas que existen tienen un alto grado de complejidad y emplean un gran volumen de reactivos, como es el caso de la metodología de DPPH. Por otro lado, metodologías como TPC y TFC, de las que existen métodos oficiales, no pueden ser empleadas por sí solas para determinar la capacidad antioxidante de un alimento funcional, debido a que en su elaboración se emplea pulpa, jugo y/o fracciones de especies vegetales (**Tabla II**) que contienen una amplia variedad de compuestos antioxidantes. Por lo tanto, no determinarían en su totalidad todos los compuestos antioxidantes presentes. Debido a esto, la gran mayoría de publicaciones científicas hacen uso de metodologías publicadas en artículos científicos.

### DPPH

El ensayo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) es un método simple y uno de los más utilizados. El radical DPPH es reducido por un mecanismo de acción HAT, teniendo en su forma oxidada una coloración morada que cambia a un amarillo pálido en su forma reducida DPPH-H (Sirivibulkovit et al., 2018). La mayor parte de las metodologías se basan en la propuesta por Brand-Williams et al. (1995), la

cual utiliza 0.1 mL del antioxidante diluido en metanol y 3.9 mL de una solución de DPPH en metanol a  $6 \times 10^{-5}$  mol/L. La disminución de la absorbancia es medida por espectrofotometría en la región VIS, aproximadamente una longitud de onda de 515 a 520 nm. La solución de DPPH es preparada previo a su uso, comúnmente almacenada a bajas temperaturas y desechada el mismo día (Sirivibulkovit et al., 2018). Por su parte Ozgen, et al. (2006) determinaron que el DPPH puede proporcionar una mayor ventaja si los antioxidantes de interés son solubles en solventes orgánicos.

### ABTS

La preformación del radical ABTS (2,2'-azinobis-(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) es obtenida por la oxidación del reactivo por persulfato de potasio y reducido con el mecanismo ET por un antioxidante. Presenta una coloración azul-verdoso en su forma oxidada y es incolora en su forma reducida (Apak et al., 2007). La absorbancia es determinada por espectrofotometría en la región VIS a 734 nm (Ozgen, et al., 2006). Pérez-Jiménez y Saura-Calixto (2006) determinaron que el método ABTS es uno de los métodos más afectados por interferencias del solvente empleado y los constituyentes del alimento analizado. Por su parte Ozgen et al. (2006) determinaron que el radical ABTS en buffer de acetatos a pH 4.5 se mantiene más estable en comparación con el buffer de fosfatos pH 7.4 estándar, pero, debe tenerse en consideración la coloración de antocianinas, puesto que puede causar sobreestimación del resultado de análisis.

### FRAP

La metodología FRAP tiene su principio en la reducción del ion férrico a ferroso a través del mecanismo HAT en medio ácido (pH 3.6). Tras la reacción, la solución originalmente incolora toma coloración azul por la formación del tripiridiltriazina ferrosa. La absorbancia se determina a 593 nm. La solución de FRAP es preparada previo a su uso, almacenada a 37 °C y desechada al final del día. Es un ensayo barato y el reactivo empleado es sencillo de preparar, el procedimiento es rápido y reproducible (Benzie & Strain, 1996; Thaipong et al., 2006). Los autores Pérez-Jiménez y Saura-Calixto (2006) determinaron que el método FRAP y el DPPH son los métodos menos afectados por interferencias del solvente empleado y los constituyentes del alimento analizado, pero, debe cuidarse la concentración de sustancias coloridas para evitar datos sobreestimados.

### Contenido total de fenoles (TPC)

La mayor parte de los métodos empleados para la determinación del contenido de fenoles comprenden métodos redox colorimétricos, basados en las propiedades reductoras de los grupos fenólicos. Uno de los métodos más comúnmente empleados es el método Folin-Ciocalteu el cual, es empleado para la determinación del contenido total de fenoles tanto en extractos de plantas como en alimentos. Tiene su principio en la reducción en medio alcalino de los ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico presentes en el reactivo. Entre las desventajas del uso de este método se encuentra la interferencia de sustancias como el ácido ascórbico, azúcares reductores, ácidos orgánicos, aminas aromáticas y hierro (II). Asimismo, la diversidad de los polifenoles dificulta la estimación del contenido total de fenoles en alimentos, lo que ocasiona que los métodos no sean específicos y que, detecten todos los grupos fenoles presentes dentro de la muestra, incluidos aquellos presentes en proteínas (Nacks & Shahidi, 2004; Pérez-Jiménez et al., 2010; Chen et al., 2015; Singleton & Rossi, 1965).

### Contenido total de flavonoides (TFC)

El acomplejamiento de los compuestos fenólicos con Al(III) ha sido utilizado para el desarrollo de métodos espectrofotométricos para la determinación del contenido total de taninos y flavonoides. La determinación del contenido total de flavonoides se basa en la formación de un complejo coloreado de los flavonoides con AlCl<sub>3</sub> en medio ácido. La absorbancia se determina a una longitud de onda de 407 nm (Nacks & Shahidi, 2004).

**Tabla I.** Metodologías oficiales.

DPPH	AOAC Determination of Antioxidant Activity in Foods and Beverages by Reaction with 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH): Collaborative Study First Action 2012.04
TPC	AOAC Validation of Spectrophotometric Methods for the Determination of Total Polyphenol and Total Flavonoid Content.  AOAC Determination of Total Phenolic Content Using the Folin-C Assay: Single-Laboratory Validation, First Action 2017.13
TFC	AOAC Validation of Spectrophotometric Methods for the Determination of Total Polyphenol and Total Flavonoid Content.

**Tabla II.** Alimentos funcionales.

Alimento	Actividad antioxidante	Referencia
Yogurt enriquecido con fenoles de hoja de olivo.	DPPH	(Tavakoli et al., 2018)
Yogurt enriquecido con pulpa concentrada de fresa.	ABTS, DPPH	(Jaster et al., 2018).
Yogurt enriquecido con jugo de Euterpe oleracea.	DPPH	(Coisson et al., 2005)

Pasta de trigo duro enriquecida con la fracción de descortezado de trigo	ABTS, TPC	(Fares et al., 2010).
Bebida de láctea enriquecida con proteína de suero hidrolizada.	ABTS	(Mann et al., 2015)
Pan al vapor enriquecido con fibra de limón.	TPC, DPPH	(Fu, Chang & Shiau)
Pan con polvo de jengibre.	TPC, DPPH	(Balestra et al., 2011)
Pan enriquecido con cascara de cebolla.	TFC, ABTS	(Świeca et al., 2013)
Pan enriquecido con cebolla deshidratada.	FRAP	(Gawlik et al., 2013)
Pan de trigo adicionado con flavonas tartarias de trigo sarraceno.	TPC, TFC, DPPH	(Gawlik et al., 2009)
Helado, yogurt y mantequilla adicionados con concentrado de zanahoria negra.	TPC, TFC, ABTS, FRAP	(Pandey et al., 2021)

## CONCLUSIONES

Los antioxidantes tienen la función de inhibir los radicales libres que se encuentran en contacto con el organismo, responsables las paredes de la membrana celular y el DNA, y ocasionan efectos adversos a la salud. Es por esto que el desarrollo de alimentos funcionales que los incluya en su formulación, requiere de una adecuada determinación que resulta por demás importante. No se suele hacer uso de metodologías oficiales debido a que difícilmente pueden adaptarse debido a su complejidad o el gran volumen de reactivos empleado. La gran mayoría de publicaciones científicas hacen uso de metodologías publicadas en artículos científicos. Adicionalmente, los métodos carecen de sensibilidad, viéndose afectados por distintas sustancias presentes en la matriz alimentaria, que causan interferencia e

incertidumbre en los resultados. Esto ocasiona no solo una baja precisión, sino que también una estimación poco confiable de los resultados correspondientes a su actividad antioxidante.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adwas, A.; Elsayed, A.; Azab, A. & Quwaydir, F. (2019). Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 6(1), 43–47. <https://doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00173>
- Apak, R.; Güçlü, K.; Demirata, B.; Özyürek, M.; Çelik, S.; Bektaşoğlu, B.; Berker, B. & Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.
- Balestra, F., Cocci, E., Pinnavaia, G. G., & Romani, S. (2011). Evaluation of antioxidant, rheological and sensorial properties of wheat flour dough and bread containing ginger powder. *LWT - Food Science and Technology*, 44(3), 700–705. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.10.017>
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Coisson, J. D., Travaglia, F., Piana, G., Capasso, M., & Arlorio, M. (2005). Euterpe oleracea juice as a functional pigment for yogurt. *Food Research International*, 38(8–9), 893–897. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.03.009>
- Chen, L. Y., Cheng, C. W., & Liang, J. Y. (2015). Effect of esterification condensation on the Folin–Ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols. *Food chemistry*, 170, 10–15.
- Fares, C., Platani, C., Baiano, A., & Menga, V. (2010). Effect of processing and cooking on phenolic acid profile and antioxidant capacity of durum wheat pasta enriched with debranning fractions of wheat. *Food Chemistry*, 119(3), 1023–1029. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.006>
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. *Materials*, 14(15), 4135. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
- Fu, J. T., Chang, Y. H., & Shiau, S. Y. (2015). Rheological, antioxidative and sensory properties of dough and Mantou (steamed bread) enriched with lemon fiber. *LWT - Food Science and Technology*, 61(1), 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.034>
- Gawlik-Dziki, U., Świeca, M., Dziki, D., Baraniak, B., Tomiło, J., & Czyz, J. (2013). Quality and antioxidant properties of breads enriched with dry onion (*Allium cepa* L.) skin. *Food Chemistry*, 138(2–3), 1621–1628. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.151>
- Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., Baraniak, B., & Lin, R. (2009). The effect of simulated digestion in vitro on bioactivity of wheat bread with Tartary buckwheat flavones addition. *LWT - Food Science and Technology*, 42(1), 137–143. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.06.009>
- Jaster, H., Arend, G. D., Rezzadori, K., Chaves, V. C., Reginatto, F. H., & Petrus, J. C. C. (2018). Enhancement of antioxidant activity and physicochemical properties of yogurt enriched with concentrated strawberry pulp obtained by block freeze concentration. *Food Research International*, 104, 119–125. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.006>
- Kupina, S., Fields, C., Roman, M. C., & Brunelle, S. L. (2018). Determination of total phenolic content using the Folin-C assay: Single-laboratory validation, First action 2017.13. *Journal of AOAC International*, 101(5), 1466-1472.
- Mann, B., Kumari, A., Kumar, R., Sharma, R., Prajapati, K., Mahboob, S., & Athira, S. (2015). Antioxidant activity of whey protein hydrolysates in milk beverage system. *Journal of Food Science and Technology*, 52(6), 3235–3241. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1361-3>



- Matić, P., Sabljčić, M., & Jakobek, L. (2017). Validation of spectrophotometric methods for the determination of total polyphenol and total flavonoid content. *Journal of AOAC International*, *100*(6), 1795-1803.
- Naczek, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*, *1054*(1-2), 95-111.
- Ozgen, M., Reese, R. N., Tulio, A. Z., Scheerens, J. C., & Miller, A. R. (2006). Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(4), 1151–1157. <https://doi.org/10.1021/jf051960d>
- Pandey, P., Grover, K., Dhillon, T. S., Kaur, A., & Javed, M. (2021). Evaluation of polyphenols enriched dairy products developed by incorporating black carrot (*Daucus carota* L.) concentrate. *Heliyon*, *7*(5). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06880>
- Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. (2006). Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research International*, *39*(7), 791–800. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.02.003>
- Pérez-Jiménez, J., Neveu, V., Vos, F., & Scalbert, A. (2010). Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the Phenol-Explorer database. *European journal of clinical nutrition*, *64*(3), S112-S120.
- Plank, D. W., Szpylka, J., Sapirstein, H., Woollard, D., Zapf, C. M., Lee, V., ... & Collaborators: Begelman A Camire M DeRito C DeVries JW Dougherty MP Hanson M Liu R Marquard M Ser A Stringer M. (2012). Determination of antioxidant activity in foods and beverages by reaction with 2, 2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH): Collaborative study first action 2012.04. *Journal of AOAC International*, *95*(6), 1562-1569.
- Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., & Sameenoi, Y. (2018). based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Analytical sciences*, *34*(7), 795-800.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144-158.
- Świeca, M., Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., Baraniak, B., & Czyz, J. (2013). The influence of protein-flavonoid interactions on protein digestibility in vitro and the antioxidant quality of breads enriched with onion skin. *Food Chemistry*, *141*(1), 451–458. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.048>
- Tavakoli, H., Hosseini, O., Jafari, S. M., & Katouzian, I. (2018). Evaluation of Physicochemical and Antioxidant Properties of Yogurt Enriched by Olive Leaf Phenolics within Nanoliposomes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *66*(35), 9231–9240. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02759>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis*, *19*(6-7), 669-675.
- Yadav, A., Kumari, R., Yadav, A., Mishra, J. P., Srivastva, S., & Prabha, S. (2016). Antioxidants and its functions in human body-A Review. *Res. Environ. Life Sci*, *9*(11), 1328-1331.
- Zain, M.; Shori, A. & Baba, A. (2022). Potential functional food ingredients in bread and their health benefits. In *Biointerface Research in Applied Chemistry*, *12*(5), 6533–6542. AMG Transcend Association. <https://doi.org/10.33263/BRIAC125.65336542>

## **Cambios estructurales de las lipoproteínas de la pacaya por el efecto de diferentes tratamientos térmicos**

I. Simental-Astudillo<sup>1</sup>, L. González-Cruz, J.A. Hernández-Hernández<sup>1</sup>, G. Teniente-Martínez<sup>1</sup> y A. Bernardino-Nicanor\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico de Celaya, Departamento de Ingeniería Bioquímica, Antonio García Cubas Pte #600 esq. Av. Tecnológico, Fovissste, C. P. 38010, Celaya, Gto. México.

\*[aurea.bernardino@itcelaya.edu.mx](mailto:aurea.bernardino@itcelaya.edu.mx)

### **RESUMEN**

El tepejilote o pacaya (*Chamaedorea tepejilote Liebm*), es una planta perteneciente al género palma teniendo principal interés en sus inflorescencias masculinas, se han realizado investigaciones enfocadas al efecto que el tipo de tratamiento térmico tiene sobre ella, el objetivo del presente trabajo está enfocado a determinar el contenido y características estructurales de las lipoproteínas presentes en la harina de la pacaya antes y después de diferentes tratamientos térmicos. Las lipoproteínas se extrajeron teniendo un mayor porcentaje en el tratamiento de microondas. Por otra parte se analizó la interacción proteína-lípido por medio de la técnica espectroscópica FT-IR, encontrando 4 bandas características de las señales de las lipoproteínas ubicadas en 3282 nm, 1744 nm, 1241 nm y 1068 nm.

**Palabras clave:** Tepejilote, pacaya, espectroscopía, IR, lipoproteínas.

### **ABSTRACT**

The tepejilote or pacaya (*Chamaedorea tepejilote Liebm*), is a plant belonging to the palm genus, having main interest in its male inflorescences, research has been carried out focused on the effect that the type of thermal treatment has on it, the objective of the present work is determine the content and structural characteristics of the lipoproteins present in the pacaya flour before and after different thermal treatments. The lipoproteins were extracted having a higher percentage in the microwave treatment. On the other hand, the protein-lipid interaction was analyzed by means of the FT-IR spectroscopic technique, finding 4 characteristic bands of the lipoprotein signals located at 3282 nm, 1744 nm, 1241 nm and 1068 nm.

**Keywords:** Tepejilote, pacaya, spectroscopy, IR, lipoproteins.

## INTRODUCCIÓN

El tepejilote cuyo nombre científico es *Chamaedorea tepejilote Liebm* se distribuye desde México hasta Colombia, pero se encuentran entre 45 y 50 especies en México, por lo que se considera el país con mayor diversidad de especies de este género. Oaxaca, Chiapas y Veracruz son los estados donde se concentran la mayor parte de las especies mexicanas del género, cuenta con un importante potencial bioeconómico para fines alimentarios, medicinales tradicionales y ornamentales (Castaño *et al.*, 2016). A lo largo de su distribución en México se le conoce con varios nombres como: tepejilote, pacaya, guaya, chi ib, caña verde, ixquil, quib, chimp, bojon, aula-te, chem-chem, ternero pacaya grande y elote de monte. El nombre tepejilote viene del náhuatl y que significa “espiga de monte”, por el parecido de sus inflorescencias masculinas a espigas de maíz (Fuchs *et al.*, 2020).

Es una especie dioica bastante variable con tallos solitarios de entre 2-5 m (a veces hasta 7 m) de altura y de 2-8 cm de diámetro. Sus hojas son pinadas, entre .6 y 1.8 m de longitud, las inflorescencias, ramificadas, aparecen por debajo de las hojas (infrafoliares) envueltas inicialmente por 4 o 5 brácteas erectas y largamente puntiagudas de entre 30 y 60 cm de longitud. (Monaco Nature Encyclopedia, 202; PALMweb, 2018).

Las lipoproteínas se encuentran en el cloroplasto rodeadas por una monocapa lipídica y asociadas con la membrana tilacoide a través de las cuales se encuentran en plastidios que contienen tocoferoles y otros metabolitos derivados de isoprenoides de lípidos, así como proteínas estructurales denominadas plastoglobulinas (Kessler & Wijk., 2007).

Se ha demostrado que sus inflorescencias masculinas presentan actividad biológica, debido a que su consumo se realiza después de un tratamiento térmico, actualmente, se han realizado investigaciones enfocadas al efecto que el tipo de tratamiento térmico tiene sobre la estructura de sus proteínas, encontrándose cambios conformacionales sobre su estructura secundaria, así mismo, se ha observado que también existe efecto sobre las interacciones proteína-lípido, es por ello que el objetivo del presente trabajo está enfocado a determinar el contenido y características estructurales de las lipoproteínas presentes en la harina de la pacaya antes y después de diferentes tratamientos térmicos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material Vegetal

Se analizaron inflorescencias masculinas de la palma *Chamaedorea tepejilote* (pacaya), las cuales fueron recolectadas en un mercado local, obtenidas de la región cercana al volcán Tacaná, localizado al noreste de la Ciudad de Tapachula, Chiapas, México. Las vainas fueron transportadas al laboratorio de investigación en cajas de cartón a temperatura ambiente.

### Acondicionamiento

fueron troceadas en cubos de aproximadamente 0.5 cm de lado. Posteriormente el lote de inflorescencias troceadas, fue dividido en muestras de 300 g aproximadamente, las cuales fueron colocadas en bolsas de polietileno y se sellaron al vacío y almacenadas en refrigeración por no más de 24 h, para su posterior utilización.

### Tratamientos térmicos

#### Fresco

Se utilizó el tepejilote sin tratamiento como control (TF), con la finalidad de comparar el efecto de los tres tratamientos térmicos sobre la estructura de las lipoproteínas de las inflorescencias, así como el efecto de dichas modificaciones sobre sus características biológicas.

### Hervido

El procesamiento hidrotérmico se realizó colocando una muestra de 300 g de pacaya empacada bajo vacío en bolsas de PVC en un baño de agua de acero inoxidable (Marca Casandra), previamente acondicionado a 98° C durante 15 min. Después del tratamiento hidrotérmico, las muestras se enfriaron a temperatura ambiente, posteriormente se congelaron a -20° C (Congelador marca Whirlpool), y se dejó establecer la temperatura durante 24 h hasta que llevó a cabo el proceso de liofilización (Hernández-Castillo *et al.*, 2020).

### Microondas

Para realizar el tratamiento térmico con vapor a presión y temperatura elevada, una muestra de 300 g de pacaya empacada bajo vacío en bolsas de PVC fué colocada en una charola en una olla de presión marca Presto durante 15 minutos a temperatura de 125° y bajo presión de 124.106 Pa. Posterior al tratamiento de presión, las muestras se enfriaron a temperatura ambiente, posteriormente se congelaron a -20° C (Congelador marca Whirlpool), y se dejó establecer la temperatura durante 24 h hasta que se llevó a cabo el proceso de liofilización (Hernández-Castillo *et al.*, 2020).

### Obtención de harina

La muestra sometida al tratamiento hidrotérmico y congeladas a -20°C, fue liofilizada. Una vez que se deshidrató fue molida y tamizada en una malla 80.

### Espectroscopía de infrarrojo

Los espectros de las proteínas de las inflorescencias de tepejilote se obtuvieron por medio de espectroscopía de infrarrojo de transformada de Fourier (FT-IR) en un espectrofotómetro Perkin Elmer FT-IR (Perkin Elmer, Inc., MA, EE. UU.), utilizando discos de bromuro de potasio (KBr) preparados a partir de muestras mezcladas con KBr seco. Los espectros se registraron en modo transparente a una resolución de 4000–400 cm<sup>-1</sup>. (Basilo-Cortés *et al.*, 2019; Bernardino-Nicanor *et al.*, 2017; González-Cruz *et al.*, 2018).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Rendimiento de las harinas después de los tratamientos térmicos

Analizando los datos en la tabla 1 podemos observar que no hubo diferencia significativa en cuanto al peso de las harinas obtenidas con y sin tratamiento térmico, registrando el peso en gramos de harina obtenidos a partir de 100 gramos de tepejilote crudo.

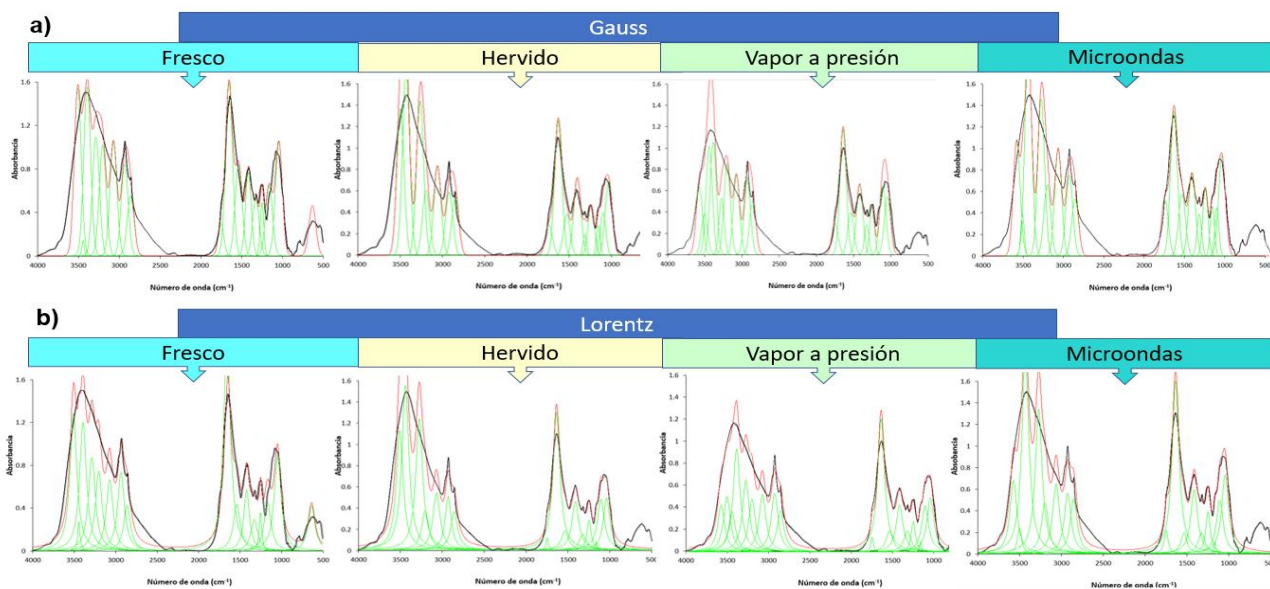
**Tabla I.** Rendimiento de harinas después de los tratamientos térmicos

Tratamiento	Peso (g)
Harina fresco	15.2 ± 0.4 <sup>a</sup>
Harina hervido	14.8 ± 0.5 <sup>a</sup>
Harina vapor a presión elevada	14.7 ± 0.5 <sup>a</sup>
Harina microondas	14.8 ± 0.4 <sup>a</sup>

Media de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa a  $p < 0.05$

### Espectroscopía de Infrarrojo de transformada de Fourier

Se analizaron por espectroscopía IR las muestras de harina fresca y las tratadas térmicamente, ajustando los datos por los métodos de deconvolución Gauss y Lorentz (figura 1).



**Figura 1.** Ajuste de gráficas con deconvolución. **a)** ajuste por el método de Gauss, **b)** ajuste por el método de Lorentz.

Encontrando 22 señales referentes a lipoproteínas, enfocándonos a 4 señales de bandas importantes y específicas de lipoproteínas.

A continuación, veremos cada una de estas señales de lipoproteínas, observando los cambios que se tienen por los tratamientos térmicos. En la tabla 2 podemos observar la señal 3282 con un área es 124.4 unidades, encontrando un incremento significativo en los tratamientos de hervido y microondas con 38.2 % y 43.9 % comparando con el tratamiento de hervido y microondas respectivamente, mientras que en el tratamiento de vapor a presión existe una pérdida promedio de 4.5% de estos componentes.

**Tabla II.** Señal de lipoproteína LDL encontrada en las harinas de la pacaya

Banda Característica	FRESCO		Hervido		Dif. Con fresco (%)	Vapor a presión		Dif. Con fresco (%)	Microondas		Dif. Con fresco (%)
	Banda Fresco	Área (u)	Banda Hervido	Área (u)		Banda Vapor	Área (u)		Banda Microondas	Área (u)	
3282	3280	115.5	3271	154.7 <sup>b</sup>	33.9	3274	46.2 <sup>d</sup>	-60.0	3274	156 <sup>a</sup>	35.1

Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

3282.0	3280.0	<b>133.3</b>	3271.0	190 <sup>b</sup>	<b>42.5</b>	3274.0	100 <sup>d</sup>	<b>-25.0</b>	3274.0	203.7 <sup>a</sup>	<b>52.8</b>
		<b>124.4</b>			<b>38.2</b>			<b>-42.5</b>			<b>43.9</b>

En la tabla 3 podemos observar la banda 1744 con un área de 19.04 unidades, teniendo un incremento significativo en el tratamiento de microondas y pérdidas en sus componentes en los tratamientos de hervido de 19.4% y vapor a presión de 9.7%.

**Tabla III.** Señal de lipoproteína de Fosfolípidos encontrada en las harinas de la pacaya

Banda Característica	FRESCO		Hervido			Vapor a presión			Microondas		
	Banda Fresco	Área (u)	Banda Hervido	Área (u)	Dif. Con fresco (%)	Banda Vapor	Área (u)	Dif. Con fresco (%)	Banda Microondas	Área (u)	Dif. Con fresco (%)
1744	1746	25.4	1745	30.4 <sup>c</sup>	19.7	1745	31 <sup>b</sup>	22.0	1745	56.3 <sup>a</sup>	121.7
1744	1746	13	1745	5.4 <sup>d</sup>	-58.5	1745	7.6 <sup>c</sup>	-41.5	1745	18.3 <sup>a</sup>	40.8
		<b>19.2</b>			<b>-19.4</b>			<b>-9.7</b>			<b>81.2</b>

En la tabla 4 observamos que la banda 1241 el promedio de 23.4 unidades, teniendo un incremento significativo en todos los tratamientos térmicos, en hervido con 47.8%, vapor a presión con 31% y el tratamiento de microondas con un 92.3%.

**Tabla IV.** Señal de Lipoproteína de colesterol encontrada en las harinas de la pacaya

Banda Característica	FRESCO		Hervido			Vapor a presión			Microondas		
	Banda Fresco	Área (u)	Banda Hervido	Área (u)	Dif. Con fresco (%)	Banda Vapor	Área (u)	Dif. Con fresco (%)	Banda Microondas	Área (u)	Dif. Con fresco (%)
1241	1244	25.7	1246	44.4 <sup>b</sup>	72.8	1245	35.5 <sup>c</sup>	38.1	1244	51 <sup>a</sup>	98.4
1241	1244	21	1246	25.8 <sup>c</sup>	22.9	1245	26 <sup>b</sup>	23.8	1244	39.1 <sup>a</sup>	86.2
		<b>23.4</b>			<b>47.8</b>			<b>31.0</b>			<b>92.3</b>

En la tabla 5 se observa la banda 1068 con un promedio de 123.6 unidades, teniendo una pérdida en todos los componentes, en el tratamiento de hervido con un 41.1%, vapor a presión elevada con un 46.6% y por último el de microondas con un 14%.

Banda Característica	FRESCO		Hervido			Vapor a presión			Microondas		
	Banda Fresco	Área (u)	Banda Hervido	Área (u)	Dif. Con fresco (%)	Banda Vapor	Área (u)	Dif. Con fresco (%)	Banda Microondas	Área (u)	Dif. Con fresco (%)

1068	1037	110.9	1037	73.6 <sup>c</sup>	-33.6	1038	57.5 <sup>d</sup>	-48.2	1039	100 <sup>b</sup>	-9.8
1068	1037	135.6	1037	69.7 <sup>d</sup>	-48.6	1038	75 <sup>c</sup>	-44.7	1039	111 <sup>b</sup>	-18.1
		<b>123.3</b>			<b>-41.1</b>			<b>-46.4</b>			<b>-14.0</b>

**Tabla V.** Señal de Lipoproteína de fosfolípidos encontrada en las harinas de la pacaya

Conforme los resultados obtenidos podemos ver que existen modificaciones en la estructura, por ende en la interacción lípido-proteína afectando el contenido de las lipoproteínas presentes en la harina las cuales algunas fueron afectadas por los diferentes tratamientos térmicos (Hernández-Castillo *et al.*, 2020, sin embargo, en donde hubo aumento quiere decir que los tratamientos térmicos al mismo tiempo aumentaban su disponibilidad.

## CONCLUSIÓN

Los tratamientos térmicos no afectan el rendimiento de las harinas de tepejilote, en cambio sí afectan la disponibilidad de las lipoproteínas, encontrando cambios en su estructura principalmente en las proteínas y contenido de las lipoproteínas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Basilio Cortes, Ulin & González-Cruz, Leopoldo & Velazquez, Gonzalo & Teniente-Martínez, Gerardo & Gomez-Aldapa, Carlos & Castro-Rosas, Javier & Bernardino-Nicanor, Aurea. (2019). Effect of Dual Modification on the Spectroscopic, Calorimetric, Viscosimetric and Morphological Characteristics of Corn Starch. *Polymers*. 11. 333. 10.3390/polym11020333
- Bernardino-Nicanor, A., Acosta-García, G., Güemes-Vera, N. *et al.* Fourier transform infrared and Raman spectroscopic study of the effect of the thermal treatment and extraction methods on the characteristics of ayocote bean starches. *J Food Sci Technol* **54**, 933–943 (2017). <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2370-1>
- Bréhélin C, Kessler F, van Wijk KJ. Plastoglobules: versatile lipoprotein particles in plastids. *Trends Plant Sci*. 2007 Jun;12(6):260-6. doi: 10.1016/j.tplants.2007.04.003. Epub 2007 May 10. PMID: 17499005.
- Castaño, Felipe & Marquínez-Casas, Xavier & Crèvecoeur, Michèle & Collin, Myriam & Stauffer, Fred & Tregear, James. (2016). Comparison of Floral Structure and Ontogeny in Monoecious and Dioecious Species of the Palm Tribe *Chamaedoreae* (*Arecaceae*; *Arecoideae*). *International Journal of Plant Sciences*. 177. 000-000. 10.1086/684262.
- Fuchs, E. J., Cascante-Marin, A., Madrigal-Brenes, R., Harvey, N., & Quesada, M. (2020). Isolation and characterization of microsatellites for the neotropical dioecious palm *Chamaedorea tepejilote* (*Arecaceae*) and cross-amplification in other *Chamaedorea* species. *Molecular Biology Reports*, 47(8), 6385-6391.
- González-Cruz, L., Montañez-Soto, J. L., Conde-Barajas, E., Negrete-Rodríguez, M. de la L. X., Flores-Morales, A., & Bernardino-Nicanor, A. (2018). Spectroscopic, calorimetric and structural analyses of the effects of hydrothermal treatment of rice beans and the extraction solvent on starch characteristics. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 965–972. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.09.074.

- Hernández-Castillo, J. B. E., Bernardino-Nicanor, A., Vivar-Vera, M. D. L. Á., Montañez-Soto, J. L., Teniente-Martínez, G., Juárez-Goiz, J. M. S., & González-Cruz, L. (2020). Modifications of the protein characteristics of pacaya caused by thermal treatment: A spectroscopic, electrophoretic and morphological study. *Polymers*, 12(5), 1016.
- Lent-Schochet D, Jialal I. Biochemistry, Lipoprotein Metabolism. StatPearls. Treasure Island (FL): 2020. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NB...>
- Monaco Nature Encyclopedia. 2021: Discover the biodiversity Online. *Chamaedorea tepejilote Liebm.* Pietro Puccio. 2013. <https://www.monaconatureencyclopedia.com/chamaedorea-tepejilote-2/?lang=es>
- PALMweb. 2018. Palmweb: Palms of the World Online. *Chamaedorea tepejilote Liebm.* Riquett-Robles, D. y Solórzano-Carranza, E. 2013. Actividad hipoglucemiante de *Chamaedorea tepejilote Liebm.* (pacaya). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 18(1), 27-33.
- Pérez G, C., Zavala S, M. A., Ventura R, E., Pérez G, S., & Ponce M, H. (2008). Evaluation of anti-tussive activity of *Chamaedorea tepejilote*. *Journal of ethnopharmacology*, 120(2), 138-140.
- Riquett Robles, D. J., & Solórzano Carranza, E. R. (2013). Actividad hipoglucemiante de *Chamaedorea tepejilote Liebm.*(pacaya). *Rev. cuba. plantas med*, 27-33.
- Rojas Ramos, K. M. (2019). Obtención y extracción de aceites vegetales. 59. [http://repositorio.une.edu.pe/bitstream/handle/UNE/1899/T025\\_46253683T.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.une.edu.pe/bitstream/handle/UNE/1899/T025_46253683T.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Vieira, S. A., Zhang, G., & Decker, E. A. (2017). Biological implications of lipid oxidation products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94(3), 339-351.



## Elaboración de una microencapsulación por gelación iónica a base de Kale (*Brassica oleracea* var. *Sabellica*)

M. Villanueva-Castañeda\*<sup>1</sup>, A.I Barrera-Molina<sup>1</sup>, M. Antúñez-Mojica<sup>2</sup> y S.E. García-Solís<sup>3</sup>

**1** Facultad de Nutrición, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. **2** Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. **3** Tecnológico de Estudios Superiores de San Felipe del Progreso, Estado de México. \*[mvillanueva283@gmail.com](mailto:mvillanueva283@gmail.com)

### RESUMEN

Las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) son uno de los principales retos para el área de salud a nivel mundial, dichos padecimientos alteran la composición de la microbiota intestinal (MI) la cual es considerada un órgano metabólico que debe encontrarse idealmente en estado de eubiosis para promover un correcto estado de salud en el organismo humano. Como estrategia para estimular el alcance de dicho estado se recomienda el consumo de probióticos y prebióticos; una de las dificultades cuando se consumen es, qué, debido a condiciones que atraviesan en el tracto gastrointestinal se minimiza la cantidad tanto de prebióticos como de probióticos la que llega al punto de interés para ser efectivos, es por esa razón que, una opción para aumentar la efectividad de este tipo de productos se propone una microencapsulación por gelación iónica cuya barrera otorgue protección ante condiciones digestivas a la matriz que contenga el vegetal Kale (*Brassica oleracea* var. *Sabellica*) el cual se estudia actualmente por su contenido de polifenoles y su potencial prebiótico. Se cree que el diseño de esta microcapsula bajo la técnica de gelación iónica será útil para la elaboración posterior de un posible simbiótico.

**Palabras clave:** microbiota intestinal, kale, prebiótico, simbiótico, microencapsulación.

### ABSTRACT

Chronic non-communicable diseases are one of the main global challenges in the health area, these conditions alter the composition of the gut microbiota, which is considered as a metabolic organ that has to be in an eubiotic status to promote a proper health status in the human organism. As a strategy to stimulate the achievement of this state, the consumption of probiotics and prebiotics is recommended; one of the difficulties when they are consumed is that, due to the conditions they go through in the gastrointestinal tract, the amount of both prebiotics and probiotics that reach the point of interest to be effective is minimized, because of this reason, an option to increase the effectiveness of this type of products is proposed a microencapsulation by ionic gelation whose barrier gives protection against digestive conditions to the matrix containing the vegetable Kale (*brassica oleracea*. *Sabellica*) which is currently being studied for its polyphenol content and its prebiotic potential. It is believed that the design of this microcapsule under the ionic gelation technique will be useful for the further elaboration of a possible symbiotic.

**Keywords:** gut microbiota, kale, prebiotic, symbiotic, microencapsulation.

## INTRODUCCIÓN

Durante décadas se ha observado el deterioro de la salud poblacional debido al aumento en la aparición de las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), las cuales hoy forman parte de las principales causas de mortalidad y debido a ello tienen la atención de la comunidad científica con la finalidad de llegar a comprender mejor las causas e implementar las estrategias más adecuadas para prevenir y disminuir los efectos de las ECNT en todos los grupos de edad, género, nacionalidades, culturas y regiones del mundo.(Serra et al;2018)

Es de suma importancia que se haga conciencia en cuanto a la prevención y promoción de los cambios en los hábitos alimenticios y estilos de vida que promueven la aparición de sobrepeso y obesidad, lo anterior debido a que son factores promotores de las ECNT y, además tienen una estrecha relación con la composición de la microbiota intestinal (MI), la cual tiene una gran influencia en el estado de salud de cada persona. El equilibrio que alcanza cada persona en su composición bacteriana va a estar determinada principalmente por la relación que existe entre las principales familias bacterianas que ocupan el tracto intestinal y el fortalecimiento de la MI depende en su mayoría de la dieta de cada individuo, es por ello que, una de las principales estrategias para la restauración de la MI es la recomendación del consumo de probióticos y prebióticos para lograr una modulación con el huésped que favorezca un mejor estado de salud debido al beneficio que se ve reflejado en el metabolismo y respuesta inmune, el cual es conocido como estado de eubiosis (Leal G. et al; 2021). Para mejorar los efectos de probióticos y prebióticos se ha observado que lo mejor es que se consuman en conjunto y así potencializar su efecto en el organismo humano debido a una actividad simbiótica, para lo anterior es fundamental que existan más y mejores opciones de productos simbióticos con la formulación y viabilidad adecuada, así, como regular de manera más efectiva el diseño de estos proponiendo alimentos probióticos y prebióticos más efectivos (Ducatelle et al; 2014).

### **Enfermedades crónicas no transmisibles**

Podemos encontrar entre las principales ECNT la diabetes mellitus tipo II, hipertensión, enfermedades cardio vasculares y cáncer, las cuales tienen estrecha relación con el padecimiento de sobrepeso y obesidad. Actualmente, ocupan el principal reto en salud pública que los profesionales de la salud deben combatir enfrentando más de 40 millones de muertes en el mundo, en su mayoría son consecuencia del estilo de vida, falta de actividad y hábitos alimentarios no saludables(Talens 2021), aunado a ello la falta de información y estrategias efectivas han generado un deterioro no solo de la salud poblacional sino un golpe a la economía de cada país que cursa con la misma problemática por el altísimo costo que conlleva solventar los tratamientos médicos de los individuos que enfrentan el conjunto de complicaciones por consecuencia de las ECNT, sobrepeso y obesidad (Delorenzo 2021).

### **Obesidad y Sobrepeso**

Ambos padecimientos, pero en distinto grado se les define por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una acumulación excesiva de tejido adiposo, siendo la obesidad el más grave, el cual representa un alto riesgo para la salud y por lo general preceden al padecimiento de ECNT (Barreto et al; 2021). En México la NOM-008-SSA3-2017 marca la pauta para las recomendaciones en el tratamiento de sobrepeso y obesidad para con ello disminuir el deterioro orgánico de los individuos que cursan estos padecimientos y con ello contribuir al mantenimiento de la eubiosis intestinal debido a que se ha observado que quienes los padecen presentan disbiosis intestinal (Farias et al; 2011).

### Microbiota Intestinal

Actualmente se le otorga gran importancia por su papel en la salud de todos los individuos debido a sus diversas funciones, entre ellas la absorción de nutrientes y su participación en el fortalecimiento del sistema inmune debido a la diversidad bacteriana con la que cuenta. Esta vasta población está principalmente ocupada por cuatro grupos de filos: *Proteobacteria* y *Actinobacteria* ocupando un 10% en comparación con *Firmicutes* y *Bacteroidetes* que ocupan el 90%, estos últimos contribuyendo a tener un estado de salud más saludable debido a que promueven el aumento en la barrera intestinal para evitar la entrada de agentes patógenos por lo que se considera importante mantener un estado de eubiosis intestinal que otorgue un soporte inmunológico y metabólico (Perrotta G 2021).

Cada individuo cuenta con una diversidad distinta ya que influyen factores como la edad, género, etnia, dieta, estrés y ambientales; por lo tanto, no hay una fórmula específica para todos en general, sin embargo, hay evidencia que nos indica que el consumo de probióticos y prebióticos favorecen el aumento y diversificación de la microbiota intestinal, es por ello que hoy en día se hace énfasis en recomendar su consumo (Álvarez et al; 2021).

### Probióticos

Se han definido por la Organización Mundial de la Salud como “microorganismos vivos que proporcionan un beneficio a la salud del hospedador cuando son ingeridos en las cantidades adecuadas, y en la última década el estudio de los probióticos ha ido en aumento debido a la variedad de beneficios que se ven reflejados en la salud de quien los consume (Abenavoli et al; 2021), se usan actualmente en la industria alimentaria como un principio activo para mejorar las funciones del tracto gastro intestinal armonizando la respuesta inmune restaurando la disbiosis en el caso de síndrome de intestino irritable (SII), disminuyendo la inflamación, favoreciendo la motilidad intestinal y contribuyendo a la generación de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como butirato y acetato (Marlowiak, Slizewska 2017) contribuyendo con ello a una mejora en el fortalecimiento del sistema inmune contribuyendo al aumento en la barrera intestinal evitando el paso de bacterias patógenas y promoviendo la generación de compuestos bioactivos que también potencializan actividades metabólicas beneficiosas para el huésped (Castañeda 2018).

### Prebióticos

Los podemos encontrar principalmente en algunas frutas y verduras, y son conocidos como ingredientes provenientes de la dieta que son fermentados de forma selectiva y que promueve cambios que favorecen el mantenimiento de la eubiosis intestinal ya que sirven como alimento de los probióticos. Habitualmente los probióticos son carbohidratos de origen vegetal que deben resistir las condiciones del trayecto intestinal tales como el pH y son bacterias anaerobias beneficiosas quienes se encargan de su fermentación, bajo estas condiciones se pueden obtener AGCC quienes otorgan beneficios a la MI otorgando en este proceso principalmente energía para mejorar la proliferación de bacterias beneficiosas para la MI, estímulo para disminuir la inflamación gastrointestinal, mayor motilidad intestinal, flujo sanguíneo y mejorar las condiciones de pH para influir en la absorción de nutrientes y así mejorar la función digestiva (World Gastroenterology Organisation); Incluso en pacientes críticos es importante tomar en cuenta la recomendación de el aumento de prebióticos en su dieta ya que se ha evidenciado que disminuye la respuesta al estrés, se altera el pH y la barrera intestinal se ve deteriorada, al administrar prebióticos en la dieta de un paciente en condiciones críticas se promueve una recuperación de la MI para disminuir el número de bacterias patógenas que gracias al padecimiento y deterioro del ambiente intestinal se ven aumentadas (Agudelo et al;2017).

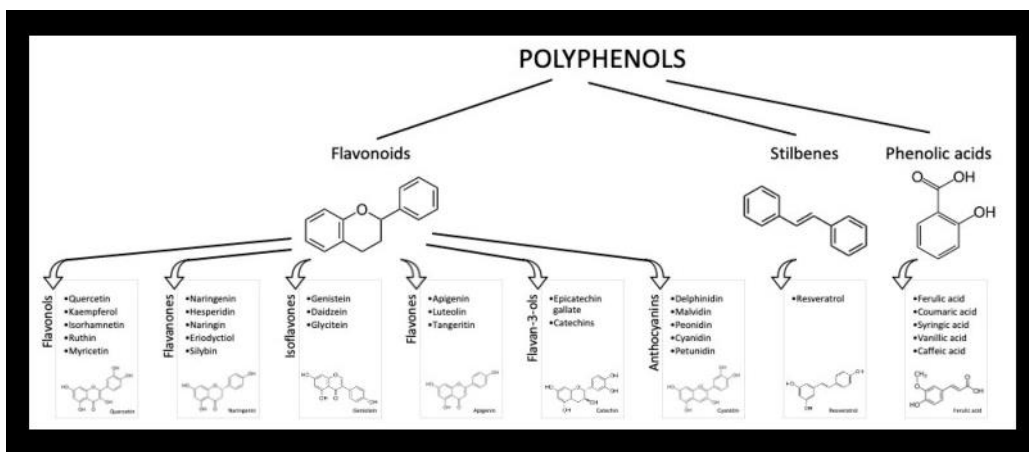
### **Kale**

Es un vegetal crucífero que está compuesto por tallos y hojas, pertenece a la clasificación *Brassica oleracea var. Sabellica* y se puede encontrar en la literatura como “col rizada” o “kale”, es de origen europeo, específicamente de Italia y comenzó a extenderse rápidamente por América del norte en el año 2012 gracias a su “nobleza” en el cultivo, ha sido reconocida en el área de alimentos funcionales debido a los nutrientes que la integran y sus funciones en el organismo humano. Tiene un alto contenido de fibra dietética, Betacaroteno, vitamina K, vitamina A, Calcio, Hierro, Magnesio, Fosforo y Potasio (Hahn et al; 2016),; y, al ser un vegetal con contenido de carbohidratos insolubles ha comenzado a considerarse que esta col rizada tiene actividad prebiótica. Aunado a lo anterior y la evidencia actual se estudia como un alimento funcional debido a su alto contenido de polifenoles, lo cual hace de Kale (*Brassica oleracea var. Sabellica*) un alimento funcional con potencial prebiótico que podría contribuir en gran medida para que los individuos que cursen o no con alguna patología los integren como estrategia en la búsqueda de un estado de eubiosis (Lotti et al;2018).

### **Polifenoles**

De acuerdo con la comunidad científica las ECNT se consideran actualmente la mayor amenaza para la salud pública y se han vuelto un blanco para buscar estrategias de prevención y manejo nutricional, la evidencia nos dice que esta problemática está estrechamente relacionada a alteraciones inflamatorias y metabólicas. Dentro de las recomendaciones a las cuales más acuden los profesionales de la salud que lidian con estas dificultades se encuentra el consumo de probióticos acompañados de prebióticos para aumentar su actividad en el organismo humano y contribuir en la modulación de la MI (Gasaly et al; 2020). Hoy se considera a una nueva clase de prebióticos los cuáles se conocen como fitoquímicos, estos al ser consumidos se transforman en metabolitos secundarios por la MI y se ha observado que estimulan poblaciones de *Akkermansia*, *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* principalmente en el tramo del colon, a expensa de bacterias que son altamente patógenas. Se les pueden encontrar clasificados en distintos metabolitos que se conocen como polifenoles, flavonoides y ácidos fenólicos principalmente (Mageney et al; 2017). Los polifenoles en específico podemos encontrarlos mayormente en verduras crucíferas, estos compuestos son producidos durante el ciclo shikímico de las plantas y tienen como finalidad otorgarles protección ante depredadores además de ser los responsables de brindar su coloración. Están formados por anillos aromáticos que tienen al menos un grupo hidroxilo, pueden unir varias moléculas glucosídicas en distintas posiciones lo que da como resultado diversos tipos de polifenoles. Se ha dado mayor importancia al estudio de los polifenoles encontrados en uvas, té y verduras crucíferas en su mayoría debido a la actividad antioxidante que muestran. Al ser consumidos por el ser humano no tienen actividad nutriente propiamente, sino que, dichos compuestos son metabolitos secundarios que promueven eficacia en actividades metabólicas.

Tras diversos estudios se ha estimado que la recomendación de consumo de polifenoles para la población en general debe ser de 0,9 g. por día y así mantener efectos como reducción de enfermedades cardiovasculares (ECV) y diabetes mellitus tipo II (Di Lorenzo et al;2021).



**Figura 1.** Clases de polifenoles y sus compuestos. Di Lorenzo C *et.al* 2021

### Simbióticos

En la industria alimentaria este término se utiliza para referirse a la combinación de un probiótico y un prebiótico gracias a esta unión se otorgan beneficios a la salud de quien los consume en forma aumentada en contraste a los beneficios que se obtienen cuando se consumen por separado. Debido a la urgencia de encontrar opciones que ofrezcan soluciones o que contribuyan a resolver la problemática que acarrea a nivel mundial el aumento en la presencia de obesidad, sobrepeso y ECNT se proponen el consumo de simbióticos ya que se ha observado que multiplican los beneficios que sus componentes ejercen, así como contribuir al aumento del número de la población bacteriana intestinal por el hecho de trabajar en conjunto (Flesh et al;2014).

Tras varios años de estudio se ha identificado que el consumo de simbióticos produjo cambios en la composición de la MI de quien los consumió trayendo con ello cambios metabólicos como disminución de la inflamación intestinal, reducción de peso, menor riesgo de ECV, cambios en indicadores bioquímicos de perfil lipídico y protección hepática (Souza et al; 2022).

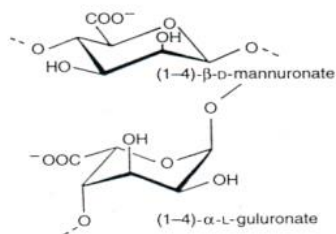
### Técnica de microencapsulación

La aplicación comercial de las microencapsulaciones tuvieron su origen en 1930, el objetivo era retener sustancias bioactivas en una matriz para su protección ante condiciones ambientales, una microencapsulación consiste en crear una membrana semipermeable y esférica que rodee a un líquido o sólido. En la industria alimentaria se tiene el inconveniente del tamaño ya que representa una dificultad generar microcapsulas muy pequeñas por la viscosidad de los componentes (Reyes Tisnado 2001), sin embargo tratándose de bacterias probióticas resulta ser conveniente que sean de mayor tamaño ya que se ha observado que ese supuesto inconveniente resulta dar mayor protección ante condiciones gástricas, la evidencia dice que el tamaño ideal debería estar en un rango  $>350 \mu\text{m}$  de diámetro dependiendo del microorganismo que alberga (González et al; 2015)

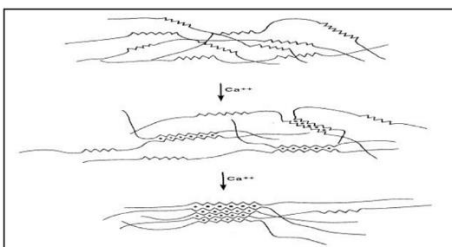
Existen actualmente numerosas técnicas para elaborar microcápsulas siendo la más utilizada el proceso de gelación iónica, el cual se diseña para inmovilizar células bacterianas ya que no necesita temperaturas elevadas ni solventes, para ello se han utilizado biopolímeros aniónicos para material pared. En este tipo de procesos destaca el uso de la goma gelatina bajo ácido (GBA) y el alginato de sodio (AS). La GBA se caracteriza por formar geles fuertes y quebradizos, en contraste el AS es un polisacárido natural extraído

de algas, principalmente *Laminaria hiperborea*, también puede ser producida por *Pseudomona fluorescens* y *Pseudomonas putida*.

El alginato está compuesto por ácido D-manurónico y L- gularónico, es poco soluble en agua lo que le da su característica viscosa, el pH tiene influencia en las soluciones de alginato presentando inestabilidad por arriba de pH 10. Fig. 2. (Cruz Pacheco 2007). El mecanismo de gelificación se lleva entre grupos carboxilos con valencias primarias y grupos hidroxilos, que actúan como un sitio de unión para iones de calcio, produciendo una estructura tridimensional. Fig. 3



**Figura 2.** Composición del alginato de sodio (Cruz Pacheco, 2007).



**Figura 3.** Estructura tridimensional resultado de la polimerización del alginato de sodio (McHugh, 1987)

## JUSTIFICACIÓN

Recientes estudios han evidenciado que uno de los factores que predispone el padecimiento de Enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) como la obesidad es un desequilibrio conocido como disbiosis en la microbiota intestinal (MI) de los hospederos, lo que pone de manifiesto el interés por conocer los mecanismos por los cuales se podría modular dicho desequilibrio. Se sabe que la dieta juega un papel muy importante para esta regulación, un ejemplo de estos son los alimentos conocidos como probióticos y prebióticos debido a que influyen en la composición bacteriana del hospedero. Con base en la evidencia que se ha encontrado se sugiere que son los prebióticos principalmente quienes contribuyen a la producción de ácidos grasos de cadena corta y vitaminas entre otros. Sin embargo, el tránsito de estos componentes por la vía digestiva es un factor determinante para dicha función.

En los últimos años los estudios sobre Kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) han llamado la atención debido a su contenido de nutrientes tales como fibra, compuestos fenólicos, vitaminas, minerales y carbohidratos prebióticos otorgando así múltiples beneficios al ser consumido y considerado como un posible prebiótico.

Por lo anterior se sugiere que podría ser efectiva la combinación del kale con bacterias ácido lácticas, en un vehículo que le otorgue la resistencia necesaria en condiciones de acidez y motilidad sin causar alteraciones en su contenido para así contribuir al mejoramiento y entendimiento de la relación dieta microbiota.

## HIPÓTESIS

La combinación de kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) y alginato de sodio permitirán las condiciones estables para tolerar distintas condiciones ambientales y posteriormente condiciones digestivas para mejorar su efectividad dentro del organismo humano.

## OBJETIVO GENERAL

Diseñar y elaborar una microcápsula por medio de gelación iónica a base de kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*).

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Cuantificación de polifenoles totales del extracto de Kale *Brassica oleracea* var. *Sabellica*. del extracto utilizado.
2. Realizar metodología para la obtención de microcapsulas por medio de gelación iónica.
3. Elaborar microcápsulas a base de una mezcla de Kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) y alginato.
4. Evaluar la resistencia de la microcápsula en diferentes condiciones ambientales.

## METODOLOGÍA

Se llevó a cabo una cuantificación de polifenoles totales del extracto contemplado para la microencapsulación por medio de una extracción con disolventes metanol y hexano para asegurar la extracción completa, el proceso se llevó a cabo macerando el extracto durante 72 horas por triplicado y en cada ocasión se eliminó el disolvente con rota evaporador.

Una vez obtenido el extracto por completo se utilizó el método colorimétrico Folin-Ciocalteu siguiendo metodología de Singleton que describe Bertha Jurado Teixeira *et al.*, 2016. Se llevo a cabo una curva de calibración de ácido gálico y posteriormente se repitió el proceso con las muestras de extracto de kale también por triplicado.

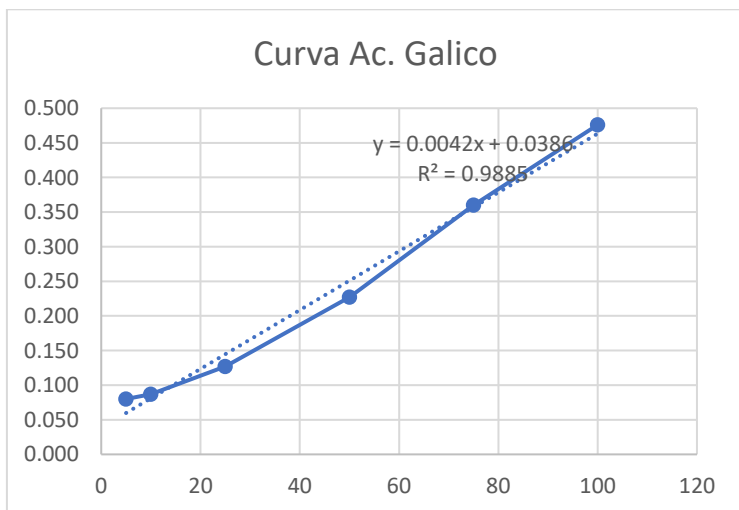
Para la preparación del alginato de sodio se hicieron pruebas soluciones de 1.3%, 1.5% y 2% de concentración con alginato de sodio grado alimenticio para esferificar como resultado del contacto con una solución de cloruro de calcio al 5% (estandarizada previamente). Se llevo a cabo la elaboración de microesferas con 3 distintas herramientas (jeringa, gotero y placa de esferificación gastronómica) para evaluar la eficacia de cada herramienta.

Una vez obtenida la concentración de alginato de sodio más estable se repite el proceso de inmovilización añadiendo a esa concentración el extracto de kale en 3 concentraciones distintas (1.3%, 1.5% y 2%) para evaluar la morfología y efectividad para formación de la microesfera bajo la técnica de gelación iónica.

Una vez identificada la concentración ideal en ambos ingredientes se separan muestras para someter a 3 distintas condiciones ambientales durante 15 días (temperatura ambiente, refrigeración y congelación). Luego de haber transcurridos los 15 días se evaluaron morfológicamente en un microscopio invertido modelo DMi8 Leica con los objetivos de 10x y 100x para observar el estado de la barrera y la matriz interna de las microcapsulas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados de curva de calibración de ácido gálico; la curva de calibración se llevó a cabo de manera adecuada para poder continuar con el proceso de cuantificación de polifenoles totales. Fig.3



**Figura 3.** Curva de calibración de ácido gálico.

Cuantificación de polifenoles totales del extracto utilizado donde a continuación, se muestra que se comprobó que por cada 100 g. de extracto de kale se obtienen 1224 mg de polifenoles totales Fig. 4

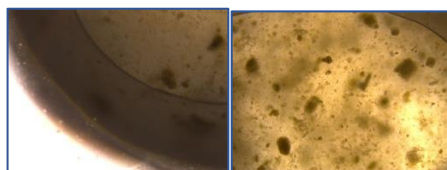
Muestra	Absorbancia Promedio	Concentración AG (µg/ml)	Concentración AG (10 mg/ml)	Contenido de fenoles (mg Eq AG/100g)	Desviación S
KC-MeOH	0.4356	94.52	0.095	950	± 0.036
KC-Hex	0.154	27.48	0.027	274	± 0.030
				1224	

**Figura 4.** Tabla de resultados de cuantificación de polifenoles totales del extracto utilizado.

Diseño de microcapsula con base kale 1% y alginato de sodio 1.5%.

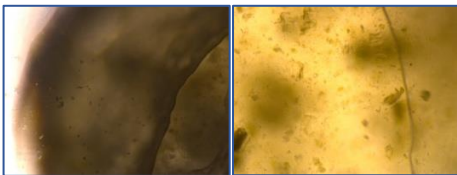


Evaluación morfológica con microscopio después de 15 días a temperatura ambiente.

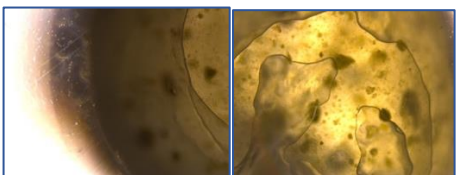


Evaluación morfológica con microscopio después de 15 días en refrigeración.





Evaluación morfológica con microscopio después de 15 días en congelación.



Las muestras sometidas a tres distintas condiciones ambientales mostraron mantener una barrera protectora mientras que se mantuvo el contenido de kale en la matriz de la microesfera.

### CONCLUSIÓN

Se concluyó que los resultados de polifenoles totales son suficientes para cubrir la recomendación diaria de polifenoles al consumir diariamente 100g de extracto de kale así como también se observó que la barrera generada por la gelación iónica otorgó la protección suficiente para mantener dentro de la matriz el extracto del vegetal.

Se pretende proponer esta microesferificación como posible candidato para elaborar un simbiótico gracias a que la evidencia consultada nos dice que los probióticos toleran muy bien la técnica de microencapsulación por gelación iónica y al combinación con el kale puede ser favorable ya que actualmente hay evidencia suficiente para comprobar su potencial prebiótico, además de fortalecer la idea de impulsar el cultivo de kale en México y así aportar una opción de crecimiento económico en la agricultura del país.

### BIBLIOGRAFÍA

- Abenavoli, L., Scarpellini, E., Colica, C., Boccuto, L., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Aiello, V., Romano, B., De Lorenzo, A., Izzo, A. A., & Capasso, R. (2019). Gut Microbiota and Obesity: A Role for Probiotics. *Nutrients*, *11*(11). <https://doi.org/10.3390/nu11112690>
- Agudelo Ochoa, G. M., Giraldo Giraldo, N. A., Barrera Causil, C. J., Valdés Duque, B. E., & . (2017). Microbiota intestinal y ácidos grasos de cadena corta en pacientes críticos. *Perspectivas En Nutrición Humana*, *18*(2), 205–222. <https://doi.org/10.17533/udea.penh.v18n2a06>
- Álvarez, J., Fernández Real, J. M., Guarner, F., Gueimonde, M., Rodríguez, J. M., Saenz de Pipaon, M., & Sanz, Y. (2021). Gut microbes and health. *Gastroenterología Y Hepatología (English Edition)*. <https://doi.org/10.1016/j.gastre.2021.01.002>
- Barreto, I. B., Cruz, Y. A. M., López, J. A. P., & Carassa, D. C. M. (2021). Relación entre obesidad y enfermedades crónicas no transmisibles e infecciosas. *Medicina (Ribeirão Preto)*, *54*(3), e–169851. <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.rmrp.2021.169851>
- Castañeda Guillot, C. (2018). Probióticos, puesta al día: an update. *Revista Cubana de Pediatría*, *90*(2), 286–298. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75312018000200009&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75312018000200009&script=sci_arttext&tlng=pt)
- De Filippo, G. (2021). Obesidad y síndrome metabólico. *EMC - Pediatría*, *56*(1), 1–7. [https://doi.org/10.1016/s1245-1789\(21\)44717-7](https://doi.org/10.1016/s1245-1789(21)44717-7)

- Delorenzo Ch, N. (2021). Lifestyle intervention for the management of chronic noncommunicable diseases: hypertension, dyslipidemia, insulin resistance and overweight in a male patient. Case Report. *Revista de La Facultad de Medicina Humana*, 22(1), 197–200. <https://doi.org/10.25176/rfmh.v22i1.4354>
- Di Lorenzo, C., Colombo, F., Biella, S., Stockley, C., & Restani, P. (2021). Polyphenols and Human Health: The Role of Bioavailability. *Nutrients*, 13(1), 273. <https://doi.org/10.3390/nu13010273>
- Ducatelle, R., Eeckhaut, V., Haesebrouck, F., & Van Immerseel, F. (2014). A review on prebiotics and probiotics for the control of dysbiosis: present status and future perspectives. *Animal*, 9(1), 43–48. <https://doi.org/10.1017/s1751731114002584>
- Farías N, M. M., Silva B, C., & Rozowski N, J. (2011). MICROBIOTA INTESTINAL: ROL EN OBESIDAD. *Revista Chilena de Nutrición*, 38(2), 228–233. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182011000200013>
- Flesch, A. G. T., Poziomyck, A. K., & Damin, D. C. (2014). The therapeutic use of symbiotics. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva: ABCD = Brazilian Archives of Digestive Surgery*, 27(3), 206–209. <https://doi.org/10.1590/s0102-67202014000300012>
- Gasaly, N., Riveros, K., & Gotteland, M. (2020). Fitoquímicos: una nueva clase de prebióticos. *Revista Chilena de Nutrición*, 47(2), 317–327. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182020000200317>
- Hahn, C., Müller, A., Kuhnert, N., & Albach, D. (2016). Diversity of Kale (*Brassica oleraceavar.sabellica*): Glucosinolate Content and Phylogenetic Relationships. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(16), 3215–3225. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b01000>
- Humana, Y., Dietética, G., Aisa, T., Tutor, Rocío, D., Leal, G., Luisa, D., & Solano Pérez, A. (n.d.). “Relación entre la obesidad y el deterioro de la microbiota intestinal” TRABAJO FIN DE GRADO EN NUTRICIÓN. [https://titula.universidadeuropea.com/bitstream/handle/20.500.12880/107/aisa\\_tieb.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://titula.universidadeuropea.com/bitstream/handle/20.500.12880/107/aisa_tieb.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Lotti, C., Iovieno, P., Centomani, I., Marcotrigiano, A. R., Fanelli, V., Mimiola, G., Summo, C., Pavan, S., & Ricciardi, L. (2018). Genetic, Bio-Agronomic, and Nutritional Characterization of Kale (*Brassica Oleracea L. var. Acephala*) Diversity in Apulia, Southern Italy. *Diversity*, 10(2), 25. <https://doi.org/10.3390/d10020025>
- Mageney, V., Neugart, S., & Albach, D. (2017). A Guide to the Variability of Flavonoids in *Brassica oleracea*. *Molecules*, 22(2), 252. <https://doi.org/10.3390/molecules22020252>
- Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2017). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients*, 9(9), 1021. <https://doi.org/10.3390/nu9091021>
- Pacheco, K., Durán Páramo, E., Valencia Del Toro, G., & Robles, F. (n.d.). EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD DE *LACTOBACILLUS DELBRUECKII LIBRE E INMOVILIZADO BAJO CONDICIONES GASTROINTESTINALES SIMULADAS IN VITRO*. [https://smbb.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area\\_III/Carteles/CIII-70.pdf](https://smbb.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_III/Carteles/CIII-70.pdf)
- Perrotta, G., & Perrotta, G. (2021). Intestinal dysbiosis: definition, clinical implications, and proposed treatment protocol (Perrotta Protocol for Clinical Management of Intestinal Dysbiosis, PID) for the management and resolution of persistent or chronic dysbiosis? *Archives of Clinical Gastroenterology*, 7(2), 056–063. <https://www.peertechzpublications.com/articles/ACG-7-200.php>
- Quigley, E. M. M. (2019). Prebiotics and Probiotics in Digestive Health. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 17(2), 333–344. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.09.028>
- Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. (n.d.). <https://www.redalyc.org/pdf/813/81349041002.pdf>
- Reyes Tisnado, R. (2001). *Alginatos extraídos de *Macrocystis pyrifera* para usos en alimentos e impresiones dentales*. [www.repositoriodigital.ipn.mx](http://www.repositoriodigital.ipn.mx). <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/15367>
- Salinas, R. R., Loaiciga, V. Z., & Jaramillo, S. H. (2021). Probióticos: desafíos, revisión y alcance. *Revista Médica Sinergia*, 6(6), e686–e686. <https://doi.org/10.31434/rms.v6i6.686>
- Serra Valdés, M., Serra Ruíz, M., & Viera García, M. (2018). Las enfermedades crónicas no transmisibles: magnitud actual y tendencias futuras. *Revista Finlay*, 8(2), 140–148.
- Talens Oliag, P. (2021). Alimentos ultraprocesados: impacto sobre las enfermedades crónicas no transmisibles. *Nutrición Hospitalaria*. <https://doi.org/10.20960/nh.03536>
- Valdovinos-Díaz, M. Á. (2021). Probióticos en Síndrome de Intestino Irritable: ¿Están listos para la práctica clínica? *Acta Gastroenterológica Latinoamericana*, 51(3). <https://doi.org/10.52787/mrrq4655>

## Aplicación de un Diseño de Experimentos Box-Behnken para la determinación de las condiciones de extracción de compuestos antioxidantes de *Decatropis bicolor*

E. Contreras<sup>1</sup>, T. Hernández<sup>2</sup>, J. Jaimes<sup>1</sup>, J.G. Pérez<sup>1</sup>, J.F. Gutiérrez<sup>2</sup>, J. Ramírez\*<sup>2</sup>

**1** Universidad Autónoma del Estado Hidalgo, Área Académica de Química, Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5, Colonia Carboneras, C.P. 42067, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. **2** Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Gastronomía, Exhacienda de la Concepción s/n, Pueblo San Juan Tilcuautla, C.P. 42160, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo, México. \*[juan\\_ramirez@uaeh.edu.mx](mailto:juan_ramirez@uaeh.edu.mx)

### RESUMEN

En México, el estado de Hidalgo cuenta con una gran variedad de plantas fanerógamas utilizadas para tratar cierto tipo de condiciones de salud, por ejemplo, *Decatropis bicolor* conocida como Aranthó. Sin embargo, existe poca información sobre su uso como fuente de compuestos antioxidantes. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar las condiciones de extracción de antioxidantes de *Decatropis bicolor* aplicando el diseño de experimentos de Box-Behnken. Las variables analizadas fueron: tiempo (5, 15 y 25 minutos), temperatura (20, 55 y 90°C) y concentración de la muestra (2, 6 y 10%). La actividad antioxidante se midió mediante las técnicas DPPH y FRAP, mientras que el contenido de fenoles totales se cuantificó mediante el método de Folin-Ciocalteu. Los extractos acuosos presentaron valores de 295 a 1511 mg ET/100g vía radical DPPH. En cuanto a la actividad antioxidante vía reacciones redox, se encontraron valores de 138 a 691 mg EFe<sup>2+</sup>/100g. En todos los extractos acuosos de *D. bicolor* se observó la presencia de compuestos fenólicos en concentraciones variables, desde 739 a 2232 mg EAG/100g. La temperatura fue el factor determinante en la extracción, independientemente del tiempo y la cantidad de Aranthó utilizada.

**Palabras clave:** *Decatropis bicolor*, extracción sólido-líquido, antioxidantes, Box-Behnken.

### ABSTRACT

In Mexico, the state of Hidalgo has a wide variety of phanerogam plants used to treat certain types of health conditions, for example, *Decatropis bicolor* known as Aranthó. However, there is little information about its use as a source of antioxidant compounds. Therefore, the objective of this work was to determine the extraction conditions of antioxidants from *Decatropis bicolor* by applying the Box-Behnken design of experiments. The variables analyzed were: time (5, 15, and 25 minutes), temperature (20, 55, and 90°C), and sample concentration (2, 6, and 10%). The antioxidant activity was measured using the DPPH and FRAP techniques meanwhile, the total phenol content was quantified by the Folin-Ciocalteu method. The aqueous extracts presented values from 295 to 1511 mg ET/100g via DPPH radical. Regarding the antioxidant activity via redox reactions, values of 138 to 691 mg EFe<sup>2+</sup>/100g were found. In all the aqueous extracts of *D. bicolor*, the presence of phenolic compounds was observed in variable concentrations, from 739 to 2232 mg EAG/100g. The temperature was the determining factor in the extraction, regardless of the time and the amount of Aranthó used.

## INTRODUCCIÓN

*Decatropis bicolor* es una planta conocida comúnmente como aranthó, pertenece al género *Decatropis* y a la familia Rutaceae (CONABIO, 2016), la cual comprende 161 géneros y 1813 especies alrededor del mundo (Estanislao et al., 2016).

La planta se desarrolla en bosques mesófilos y tropical perennifolio de México y Centroamérica (Estanislao et al., 2016). En México se encuentra en los estados de Chiapas, Coahuila, Guanajuato, Hidalgo, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Veracruz (CONABIO, 2016). En cuanto a Hidalgo, se localiza principalmente en las regiones de San Salvador, Actopan, Ixmiquilpan, Tepehuacán, Tulancingo, Huazalingo, Huejutla, Yahualica, Huehuetla, San Bartolo Tutotepec, Tlanchinol y Tenango (Villavicencio y Pérez, 2002; Sánchez et al., 2016).

En la medicina tradicional mexicana las diversas partes de *D. bicolor*, son utilizadas para tratar las infecciones bacterianas (García et al., 2000; Ríos et al., 2011), curar dolor de espalda, dolor de cabeza, resfriado, cálculos en vesícula, diarreas, afecciones renales, y cáncer (Estanislao et al., 2016). Por ejemplo, en comunidades como El Cardonal, en el estado de Hidalgo, las hojas, son utilizadas para preparar infusiones como tratamiento del cáncer de seno (Estanislao et al., 2016). Por otro lado, diversos estudios han demostrado que los extractos de esta planta inhiben ligeramente el desarrollo de *Aspergillus flavus* (Cárdenas et al., 2007) y de *Bacillus subtilis* (Villavicencio, 1990).

Lo anterior puede atribuirse a que se ha demostrado en estudios fitoquímicos la presencia de esteroides, cumarinas (Cárdenas et al., 2007), flavonoides y triterpenos (Cortés, 2005). El primer análisis fotoquímico realizado en *D. bicolor*, reportó la presencia de eskimmianina, cumarina y dictamina, los cuales son compuestos frecuentemente aislados de la familia Rutaceae. En estudios posteriores realizados por García et al., (2000) y García et al., (2003) en extractos orgánicos en diclorometano y metanol se identificaron las cumarinas: felopterina, isopimpinelinam heraclenin, seselin, psoralen, impertor y heraclenol, así como al triterpeno lupeol. La evaluación *in vitro* de dichos compuestos permitió establecer que la seselina y heraclenol son los principales responsables del efecto antiinflamatorio de dicha planta. Así mismo se encontró que seselin es un potente agente antifúngico durante el almacenamiento del maíz (Kovač et al., 2017).

Estanislao et al., en el 2006, identificaron los compuestos presentes en el aceite esencial de las hojas frescas, y encontraron 23 compuestos los cuales fueron separados en 7 clases como terpenos, alcoholes, ácidos carboxílicos, aldehídos, derivados del benceno y otros compuestos. Los componentes con mayor abundancia del aceite esencial fueron 1,5-ciclooctadieno, 3-(metil-2) propenil,  $\beta$ -terpineol, 1-(3-metil-ciclopent-2-enil)-ciclohexeno, 2-heptanol, y limoneno. Tales compuestos fueron identificados a partir de una extracción sólido-líquido; sin embargo hay poca información de su uso como fuente natural de antioxidantes. Por ello el objetivo de este trabajo fue determinar las condiciones de extracción de antioxidantes presentes en Aranthó (*Decatropis bicolor*) mediante la aplicación de un diseño de experimentos Box-Behnken.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención de muestras

La muestra de aranthó fue adquirida en el mercado 1º de mayo, de la ciudad de Pachuca de Soto, Hidalgo, México. Se secó al aire libre durante aproximadamente 20 días a temperatura ambiente, se molió en una licuadora (Oster BLSTEG7881R, México) hasta pulverizarse y se almacenó en frascos de plástico hasta su uso.

**Obtención de extractos acuosos por medio de un diseño de experimentos Box-Behnken para determinar las condiciones físicas de extracción**

Para determinar las mejores condiciones de extracción de *Decatropis bicolor* con mayor actividad antioxidante, se realizó un diseño de experimentos Box- Behnken (DBB), utilizando tres factores: temperatura (A), tiempo (B) y concentración de muestra (C) y 3 puntos centrales. El modelo matemático correspondiente al DBB se presenta en la Ec. (1)

$$y = \beta_0 + \sum_{A=1}^k \beta_A x_A + \sum_{A=1}^k \beta_B x_B + \sum_{C=1}^k \beta_C x_C + \sum_{A=1}^k \beta_{AA} x_A^2 + \sum_{B=1}^k \beta_{BB} x_B^2 + \sum_{C=1}^k \beta_{CC} x_C^2 + \sum_{A<B} \beta_{AB} x_A x_B + \sum_{A<C} \beta_{AC} x_A x_C + \sum_{B<C} \beta_{BC} x_B x_C + \varepsilon \tag{1}$$

donde y hace referencia a las respuestas evaluadas que fueron el contenido de fenoles totales y las capacidades antioxidantes medida por los métodos DPPH• y FRAP. Por otra parte, el término x se refiere a las variables utilizadas en el estudio, el termino β0 es la constante del modelo, mientras que los coeficientes del modelo están representados por los efectos lineales βA, βB, βc, cuadráticos βAA, βBB, βCC y la interacción entre las variables βAB, βAC, y βBC. Finalmente, el término ε representa el error experimental (Box y Behnken, 1960).

Los factores de control y niveles seleccionados en el diseño se muestran en la Tabla I y se eligieron considerando las condiciones normales de preparación de una infusión mediante extracción convencional (Ramírez et al., 2016). Cada variable independiente puede tomar tres posibles valores, codificados como -1, 0 y 1, en función de si se trata del valor mínimo, medio o máximo, respectivamente. Con esta codificación, el diseño indicó la realización de 15 experimentos los cuales se realizaron por triplicado.

**Tabla I.** Condiciones para la obtención de extractos acuosos

Extracción convencional		Niveles seleccionados		
Factores de control		-1	0	1
A	Temperatura (°C)	20	55	90
B	Tiempo (min)	5	15	25
C	Muestra (g/100g)	2	6	10

**Preparación de extractos acuoso**

Se realizó una extracción sólido-líquido convencional en un vaso de doble chaqueta de 250 mL (Schott Duran®, Alemania) sobre una parrilla con agitación (Nuova Sarrer-Barnstead Thermolyne® SP-131325, Georgia, E. U. A.) a 600 rpm y un baño de recirculación (VWR® MX07R-20, E. U. A.), utilizando como solvente agua. Los extractos acuosos de aranthó fueron puestos bajo diferentes condiciones de temperatura (20, 55 y 90 °C), tiempo (5, 15 y 25 min.) y porcentaje de muestra (2, 6 y 10%) (Tabla I).

**Medición de las variables de respuesta**

**Actividad antioxidante por DPPH•**

Para esta determinación se utilizó el método de Brand-Williams et al., (1995), con algunas modificaciones (Xu et al., 2017). Se preparó una curva de calibración de 0 a 33 μM de Trolox 1 mM en MeOH. A cada solución estándar se añadieron 2.9 mL de DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) 0.1 mM en MeOH. La absorbancia se midió a 515 nm utilizando MeOH como blanco. La actividad antioxidante se expresó en miligramos equivalentes de Trolox por 100 g de muestra (mg ET/100 g).

**Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP)**

Se realizó utilizando la técnica de Benzie y Strain (1996) con algunas modificaciones sugeridas por Chohan et al., (2008). El reactivo FRAP se preparó a partir de un tampón de acetato (300 mM, pH 3,6), cloruro férrico hexahidratado (20 mM) y TPTZ 10 mM (4,6-tripiridil-s-triazina) preparado en HCl 40 mM. Las tres soluciones se mezclaron en proporciones de 10:1:1 (v/v/v). Se preparó una curva de calibración de 0 a 100 mM de  $FeCl_2 \cdot 4H_2O$  40 mM en HCl. La absorbancia se midió a 593 nm usando un blanco que solo contenía reactivo FRAP. Los valores obtenidos se expresaron en miligramos de iones ferrosos equivalentes por 100 g de muestra (mg EFe<sup>2+</sup> /100 g).

**Fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu**

Para la cuantificación de fenoles totales se preparó una curva de calibración en un intervalo de concentración de 0 a 15 mg/L a partir de una solución estándar de 1000 mg/L de ácido gálico (AG). De cada estándar se tomó el volumen correspondiente, se adicionaron 2 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7.5%) y 2 mL de reactivo de Folin y Ciocalteu (2 M) y se diluyó a 10 mL con agua destilada. La absorbancia se midió a 760 nm (Xu et al., 2017). Los resultados se expresaron en miligramos de equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra (mg EAG/100 g). Todas las determinaciones para las respuestas variables se realizaron por triplicado.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados de la determinación del contenido de fenoles totales y de actividad antioxidante por DPPH• y FRAP de los 15 extractos acuosos de *D. bicolor* se muestran en la Tabla II.

**Tabla II.** Valores de fenoles totales y actividad antioxidante por DPPH•, FRAP en extractos acuosos de aranthó mediante extracción convencional

Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Muestra (g/100 g)	mg EAG/100 g		mg ET/100 g		mg EFe <sup>2+</sup> /100 g	
			Media	SD	Media	SD	Media	SD
90	5	6	1480.8	5.5	532.8	1.4	247.4	1.8
55	25	10	1050.0	2.5	522.7	0.4	142.4	0.1
90	15	10	1380.2	5.2	301.5	1.2	151.2	1.4
55	25	2	2139.0	5.7	1,234.6	2.8	679.6	6.3
55	15	6	1296.3	4.8	687.3	2.9	219.8	1.3
20	25	6	1073.0	4.4	581.0	1.0	225.8	2.9
55	15	6	1296.3	1.0	691.0	0.8	219.5	1.4
55	5	10	969.3	1.1	516.1	0.7	138.9	0.8
20	15	2	1596.3	2.9	828.9	2.8	666.5	1.6
90	15	2	2232.2	2.9	1,511.5	5.7	691.6	11.1
90	25	6	1547.0	4.8	295.5	1.0	244.5	5.5
55	5	2	1622.8	5.7	885.0	2.3	683.4	8.8
55	15	6	1296.1	2.8	689.9	2.4	220.8	1.7
20	5	6	972.5	1.0	424.8	1.6	236.8	2.0
20	15	10	739.6	5.2	314.5	3.6	144.4	1.6

(n=3 ± SD: Desviación estándar)

Los valores de fenoles totales se situaron entre 739.6 y 2232.2 mg EAG/100 g. Los extractos analizados mediante DPPH• mostraron valores de actividad antioxidante de 295.5 a 1,511.5 mg ET/100 g. En cuanto

a la actividad antioxidante determinada por FRAP, se encontraron valores entre 138.9 - 691.6 Fe<sup>2+</sup>/100 g. Para las tres determinaciones el valor más alto se obtiene a partir de 2% de muestra, extraído a 90° C durante 15 minutos.

En la Tabla III, se muestran algunos resultados de la actividad antioxidante y fenoles totales de diversas plantas medicinales obtenidos en otros estudios, en los cuales se reportan valores muy variables según la especie de planta. Sin embargo, comparando con los valores obtenidos de la extracción convencional de *D. bicolor*, se observa que esta planta tiene una alta capacidad antioxidante tanto en compuestos de vía radicalaria, vía redox y fenoles totales en comparación a las especies descritas, las cuales muestran variabilidad en sus resultados.

**Tabla III.** Determinación de la capacidad antioxidante de diversas plantas medicinales realizada por distintos autores

Referencia	Especie	Fenoles	Actividad antioxidante	
		totales (mg EAG/100 g)	DPPH• (mg ET/100 g)	FRAP (mg EFe <sup>2+</sup> /100 g)
Li <i>et al.</i> , 2013; Nikolic <i>et al.</i> , 2014; Rajha <i>et al.</i> , 2014; Skotti <i>et al.</i> , 2014.	<i>Acanthopanax gracilistylus</i>	2957	305	454
	<i>Brassica alba L. Boiss</i>	594	513	606
	<i>Curcuma aromatica Salisb.</i>	610	507	347
	<i>Drosera burmannii Vahl</i>	1207	305	107
	<i>Erythrina variegata L.</i>	1561	1467	302
	<i>Fraxinus rhynchophylla</i>	523	401	548
	<i>Geranium wilfordii Maxim.</i>	1790	1303	215
	<i>Houttuynia cordata Thunb.</i>	1738	757	135
	<i>Isatis tinctoria L.</i>	4730	1083	157
	<i>Juncus effusus L.</i>	3790	317	604
	<i>Magnolia liliflora Desr.</i>	858	938	957
	<i>Rosa chinensis Jacq.</i>	725	587	1432
	<i>Salvia miltiorrhiza Bge.</i>	988	1544	601

Los coeficientes de correlación determinados fueron superiores al 95% para fenoles totales y FRAP, así como mayor al 90% para DPPH•, lo que indica que este diseño de experimentos resulta útil para optimizar las condiciones de extracción convencional a las cuales se debe someter a *D. bicolor* para lograr la mayor extracción de compuestos con actividad antioxidante y fenoles totales (Tabla IV).

**Tabla IV.** Polinomios y coeficientes de correlación obtenidos del diseño de experimentos Box-Behnken para los extractos acuosos de aranthó

Análisis	R <sup>2</sup>	Polinomios
Fenoles totales	0.98	1449 + 7.88 A + 37.3 B - 206.5 C + 0.0045 A*A - 0.335 B*B + 11.41 C*C - 0.025 A*B + 0.028 A*C - 2.72B*C
DPPH•	0.90	109 + 26.1 A + 59.1 B - 130.1 C -0.1138 A*A -0.913 B*B + 11.97 C*C - 0.280 A*B - 1.259 A*C - 2.14B*C
FRAP	0.99	1064.95 - 0.601 A - 2.957 B - 203.33 C + 0.00923 A*A + 0.0728 B*B + 11.485 C*C + 0.00581 A*B -0.0431 A*C + 0.0460 B*C

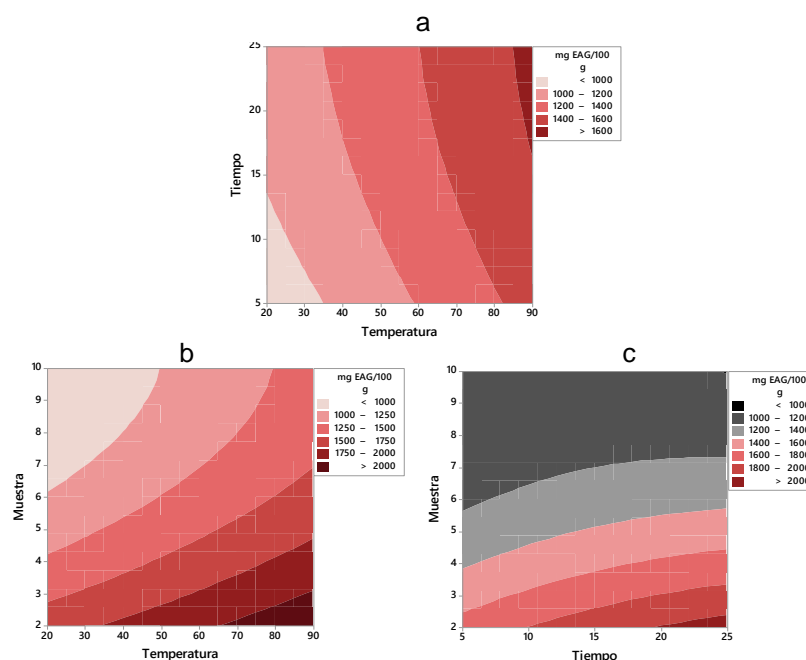
Donde: A=Temperatura (°C), B= Tiempo (min) y C = Concentración de muestra (g/100 g)

Los coeficientes de regresión y diferencias significativas para cada factor se presentan en la Tabla V. La temperatura influyó significativamente en la liberación de compuestos fenólicos y en la actividad antioxidante determinada por FRAP, tanto en términos lineales ( $\beta_A$ ) ( $p < 0.0001$  fenoles y  $0.001$  FRAP) como cuadráticos ( $\beta_{AA}$ ) ( $p < 0.01$  fenoles y  $0.001$  FRAP). Lo cual puede ser observado en los gráficos de contorno (Figuras 1a y 2a) donde a mayor temperatura mayor liberación de compuestos.

**Tabla V.** Coeficientes estimados de la ecuación polinómica de segundo orden para fenoles totales, DPPH• y FRAP

Factor	Coeficiente de regresión		
	Fenoles totales	DPPH•	FRAP
$\beta_0$	1296.3	689	220.04
Lineal			
$\beta_A$	286.4 <sup>a</sup>	62.6	8.52 <sup>b</sup>
$\beta_B$	95.5 <sup>d</sup>	34.3	-1.77
$\beta_C$	-435.4 <sup>a</sup>	-351.9 <sup>c</sup>	-268.76 <sup>a</sup>
Cuadrático			
$\beta_{AA}$	5.6 <sup>c</sup>	-139.4	11.31 <sup>b</sup>
$\beta_{BB}$	-33.5	-91.2	7.28 <sup>c</sup>
$\beta_{CC}$	182.5	191.5	183.77 <sup>a</sup>
Interacción			
$\beta_{AB}$	-8.6	-98.2	2.03
$\beta_{AC}$	4	-176.3	-6.03
$\beta_{BC}$	-108.9 <sup>d</sup>	-85.8	1.84

Nivel de significancia: <sup>a</sup> $p < 0.0001$ , <sup>b</sup> $p < 0.001$ , <sup>c</sup> $p < 0.01$ , <sup>d</sup> $p < 0.05$

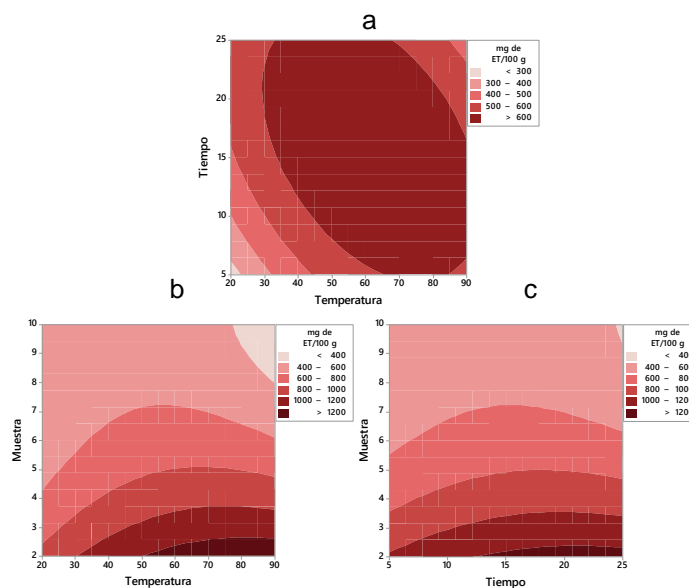


**Figura 1.** Gráficos de contorno del efecto de a) Temperatura\*Tiempo, b) Temperatura\*Muestra, c) Tiempo\*Muestra, sobre el contenido de fenoles totales, obtenido por extracción convencional de aranthó

Por otro lado, el tiempo mostró afectar de manera significativa la liberación de compuestos fenólicos en su forma lineal ( $\beta_B$ ) ( $p < 0.05$ ), lo cual se observa en la Figura 1c, obteniéndose valores mayores de 2000



mg EAG/100 g tras 20 minutos de exposición. Mientras que, en su forma cuadrática ( $\beta_{BB}$ ), el tiempo tuvo un efecto significativo de  $p < 0.01$  en FRAP. Las tres determinaciones se vieron influenciadas significativamente por la concentración de muestra a  $p < 0.01$  DPPH• y a  $p < 0.0001$  fenoles totales y FRAP, así como este último en su forma cuadrática a  $p < 0.0001$ .



**Figura 1.** Gráficos de contorno del efecto de a) Temperatura\*Tiempo, b) Temperatura\*Muestra, c) Tiempo\*Muestra, sobre la actividad antioxidante por DPPH•, obtenida por extracción convencional de aranthó

En la Figura 1c, se puede observar que la interacción tiempo-muestra ( $\beta_{BC}$ ) influyó significativamente ( $p < 0.05$ ) en fenoles totales, donde a tiempos entre 20 y 25 minutos con una concentración de muestra menor de 3%, se obtienen más de  $>2000$  mg EAG/ 100 g.

El modelo obtenido a partir de los resultados del diseño de experimentos Box-Be para la extracción convencional de aranthó, se sometió a un procedimiento de optimización. Las condiciones óptimas propuestas para la extracción fueron: 90°C de temperatura; 17 minutos; 2% de concentración de muestra. Se validó el modelo mediante la comparación de los valores predichos y experimentales de compuestos fenólicos y antioxidantes (Tabla VI), no se encontraron diferencias significativas entre si ( $p > 0.05$ ). Lo que permite que el modelo sea adecuado para obtener los mejores valores de temperatura, tiempo y muestra para la extracción convencional de aranthó, así como estos valores sean reproducibles.

**Tabla VI.** Valores óptimos predichos y experimentales de la extracción convencional de aranthó

Análisis	Valor predicho	Valor experimental
Fenoles totales (mg EAG/100 g)	2244.5	2242.7±2.9
DPPH• (mg ET/100 g)	1518.9	1,521.2±5.7
FRAP (mg EFe <sup>2+</sup> /100 g)	699.4	697.9±11.1

## CONCLUSIÓN

El diseño experimental planteado permitió definir las condiciones físicas de extracción para la obtención de extractos acuosos de *D. bicolor* con elevada actividad antioxidante. La temperatura fue el factor determinante en la extracción, independientemente del tiempo y la cantidad de *D. bicolor* utilizado.

## BIBLIOGRAFÍA

- Benzie, I.F.F.; Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 239, 70–76.
- Box, G. E. P., Behnken, D. W. (1960). Some new three level designs for the study of quantitative variables. *Technometrics*, 2, 455-475.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT*, 28, 25–30.
- Cárdenas, O. N. C., Pérez, G. C., Zavala, S. M. A., Hernández, R. A. B., Pérez, S. G., (2007). Actividad antifúngica de seis plantas sobre *Aspergillus flavus* Link. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 36(3), 21-26.
- Chohan, M.; Forster-Wilkins, G.; Opara, E. (2008). Determination of the Antioxidant Capacity of Culinary Herbs Subjected to Various Cooking and Storage Processes Using the ABTS\*+ Radical Cation Assay. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 63, 47–52.
- CONABIO. (2016). Especies, México: CONABIO. <http://bios.conabio.gob.mx/especies/6035108>.
- Cortés, C. J. (2005). Actividad biológica de extractos de plantas usadas para el tratamiento del cáncer e infecciones en Tepatepec, Hidalgo (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.
- Estanislao, G. C. C., Aquino, C. A., Pérez, I D. G., San Martín, M. E., Morales, L. J. (2016). Decatropis bicolor (Zucc.) Radlk essential oil induces apoptosis of the MDA-MB-231 breast cancer cell line. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(266), 1-11.
- García A. A., González, L. N., Márquez, C., Martínez, V. M. (2003). Cumarinas presentes en especies del género *Casimiroa*. *Revista de la Sociedad Química de México*, 47(2), 151-154
- García, A. A., Ramírez, A. T., Parra, D. H., Velázquez, G., Martínez, V. M. (2000). Anti-inflammatory activity of coumarins from *Decatropis bicolor* on TPA ear mice model. *Planta Medica*, 66(3), 279-281.
- Kovač, T., Kovač, M., Strelec, I., Nevistić, A., Molna, M. (2017). Antifungal and antiaflatoxic activities of coumarinyl thiosemicarbazides against *Aspergillus flavus* NRRL 3251. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 68, 9-15.
- Li, S., Li, S., Gan, R., Song, F., Kuang, L., Li, H. (2013). Antioxidant capacities and total phenolic

- contents of infusions from 223 medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, 51, 289-298.
- Nikolic, M., Glamoclija, J., Ferreira, I., Caldhelha, R., Fernandez, A., Markovic, T., Markovic, D., Giweli, A., Sokovic, M. (2014). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*, 52, 183-190.
- Rajha, H. N., Darra, E. N., Hobaika, Z., Boussetta, N., Vorobiev, E., Mroun, R. G., Louka, N. (2014). Extraction of total phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins and tannins from grape by products by response Surface methodology. Influence of solid-liquid ratio, particle size, time, temperature and solvent mixtures on the optimization process. *Food and Nutrition Sciences*, 5, 397-409.
- Ramírez, G. J., Jaime, O. J., Castañeda, O. A., Añorve, M. J., Salazar, P. M., González, O. G., Contreras, L. E. (2017). Optimization of Physical Conditions for the Aqueous Extraction of Antioxidant Compounds from Ginger (*Zingiber officinale*) Applying a Box-Behnken Design. *Plant Foods for Human Nutrition*. 71(3).
- Ríos, Y. M., Ramírez, C. A., León, R. I., Estrada, S. S., Navarrete, V. G., Aguilar, G. B. (2011). Complete NMR assignment of 3, 4-seco-lup-20 (29)-en- 3-oic acid from *Decatropis bicolor*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 50, 329 – 331.
- Sánchez, G. A., Álvarez, Z. E., López, M. L. (2016). Diversity and distribution patterns of ferns and lycophytes in a cloud forest in Mexico. *Revista Chapingo*, 22(3), 234-253.
- Skotti, E., Anastasaki, E., Kanellou, G., Polissiou, M., Tarantilis, P. A. (2013). Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected greek medicinal and aromatic plants. *Industrial Crops and Products*, 53, 46-54.
- Villavicencio, M. A. (1990). Actividad antimicrobiana de *Decatropis bicolor*. En: *Tiempo nuestro, investigación científica y tecnológica*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México, 139-147.
- Villavicencio, M. A., Pérez, E. B. E. (2002). *Plantas útiles del Estado de Hidalgo*. Tomo II. Pachuca, Hgo., México: UAEH.
- Xu, D.P.; Zheng, J.; Zhou, Y.; Li, Y.; Li, S.; Li, H.B. (2017). Ultrasound- assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: Optimization and comparison with conventional methods. *Food Chem.*, 217, 552–559

## Extracción de pectina a partir de bagazo de manzana y su análisis

L. Vázquez-Chávez y Z. Zarazúa-Sánchez\*

División Ciencias Biológicas y de la Salud. Departamento Biotecnología. Área de Alimentos, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. Av. Michoacán y La Purísima Col. Vicentina Iztapalapa Ciudad de México C.P. 09349 \*[lvch@xanum.uam.mx](mailto:lvch@xanum.uam.mx)

### RESUMEN

La extracción de pectina a partir de bagazo de manzana fue estudiada. La influencia del pH temperatura y tiempo de extracción sobre las variables rendimiento, fuerza del gel y grado de esterificación fue determinada utilizando análisis de varianza a un nivel de significancia del 0.05%. Se encontró que el pH y la temperatura influyen significativamente en el rendimiento sin embargo se observó que la fuerza del gel disminuyo paralelamente con el aumento del rendimiento. Se determinó un intervalo óptimo para la extracción de pectina pH 2.2 y 2.6, temperatura 60-87°C y tiempo de proceso 60 y 90 min. Se determinó peso molecular mediante viscosidad intrínseca obteniendo valores de entre 30000-50000 g/mol se observó una correlación positiva entre peso molecular y fuerza del gel de la pectina obtenida.

**Palabras clave:** Manzana, extracción, análisis pectina.

### ABSTRACT

The extraction of pectin from apple bagasse was studied. The influence of pH temperature and extraction time on the variable's performance, strength of the gel and degree of esterification was determined using a variance analysis a significance level of 0.05%. The data obtained was analyzed in a statistical system. pH and temperature were found to significantly influence performance however pectin quality gel strength decreases in parallel with increased performance. An optimal interval was determined for the extraction of pectin pH 2.2 and 2.6, temperature 60-87 ° C and process time 60- and 90-min. Molecular weight was determined by intrinsic viscosity, obtaining values between 30000-50000 g / mol, a positive correlation was observed between molecular weight and gel strength of the pectin obtained.

**Keywords:** Apple, extraction, analysis pectin.

## INTRODUCCIÓN

La pectina es un polisacárido que se encuentra en la mayoría de los vegetales; principalmente en el albedo o cáscaras de las frutas constituyendo la pared celular, teniendo la función de cemento intercelular. Las pectinas son hidrocoloides que poseen propiedades coloidales que absorben gran cantidad de agua formando geles con propiedades espesantes, y estabilizantes son insolubles en alcoholes. La pectina está formada por ácidos pectínicos solubles en agua de grado de metilación variado que son capaces de formar geles con azúcar y ácido. Las pectinas son una mezcla de polisacáridos ácidos y neutros muy ramificados están constituidas por largas cadenas formadas por unidades de ácido D-galacturónico, con el grupo carboxilo libre, o bien ácido galacturónico con el carboxilo esterificado con metanol (metoxilado). Este metanol puede perderse con relativa facilidad por hidrólisis ácida o enzimática, dejando el grupo ácido libre. Por lo tanto, las pectinas son ácidos pectínicos con diferentes grados de esterificación y neutralización. Se pueden distinguir dos clases principales de sustancias pécticas: los ácidos pectínicos, que tienen una pequeña porción de sus ácidos galacturónicos como ésteres metílicos, y los ácidos pécticos, que sólo contienen moléculas de ácido galacturónico libre de esterificación. Son clasificadas como de alto metoxilo cuando este porcentaje es superior al 50%, y bajo metoxilo cuando es inferior según su grado de esterificación, aportando propiedades y poder de gelificación diferentes a cada una de ellas. La fuente principal de obtención de pectina es a partir de las cáscaras de frutos cítricos conteniendo cerca del 25% de sustancias pécticas y del bagazo de manzana rindiendo alrededor del 15 - 18% de pectina. El proceso de extracción de la pectina se realiza mediante la hidrólisis de la protopectina a pH bajo y alta temperatura. El extracto de pectina se separa mediante filtración, purificación concentración y precipitación con etanol isopropanol o sales de aluminio. La comercialización de pectinas se realiza mediante una estandarización previa evaluando su habilidad para formar geles expresada como grado de pectina, es decir el número de partes de azúcar por cada parte de pectina que formará un gel de dureza adecuada bajo condiciones controladas.

Objetivo. Determinar la influencia del pH, temperatura y tiempo de extracción en la cantidad y calidad de la pectina obtenida de cascara y bagazo de extracción de jugo de manzana

## MATERIALES Y MÉTODOS

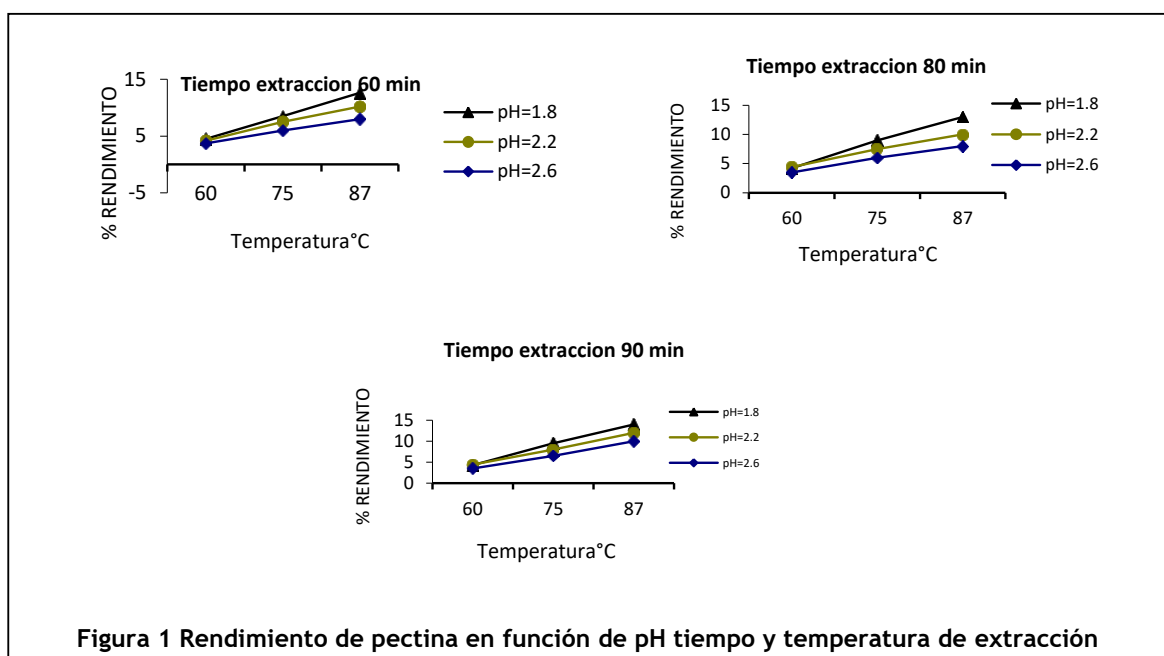
Se trabajó con cascara de manzana y residuos después de extracción del jugo las manzanas rojas que se compraron en un mercado local. La cascara y el residuo de manzana después de molerlas en una licuadora casera y extraer el jugo, se colocaron en un recipiente de vidrio, con 500 ml de agua destilada, a una temperatura 90°C durante 30 minutos para separar, azúcares residuales, sustancias solubles y para inactivar las enzimas pectinesterasas y la poligalacturonasa que rompe los enlaces glucosídicos entre moléculas galacturónicas, despolimerizando la cadena a fracciones más cortas obteniendo el ácido galacturónico. El bagazo se filtró mediante un prensado manual usando una tela de lino fina, extrayendo la mayor cantidad de agua posible y sometiendo el residuo a secado a 70°C en charolas hasta un 10 %H. La extracción de la pectina se llevó a cabo pesando 50 g del residuo y cascara secos de manzana, por hidrólisis en un sistema de reflujo con agitación constante en baño maría usando una relación de cáscara/solución acida de 1;3; pH de 2.6, 2.2. y 1.8 ajustando con solución de HCl al 25%, temperaturas de 60, 75 y 87°C, y tiempos de 60, 80,90 min respectivamente. El bagazo hidrolizado se filtró y se lavó con agua destilada. La pectina extraída se precipito añadiendo lentamente y con agitación constante etanol absoluto igual al volumen del extracto. El precipitado se dejó reposar en el alcohol durante 18-20 horas y se separó por filtración al vacío a través de papel filtro con ayuda de embudo Buchner. La pectina precipitada se lavó con etanol al 70 y al 90%. La pectina se secó con aire a 40°C durante 75 min hasta peso constante y se pesó para obtener el rendimiento. Para homogenizar el tamaño de la partícula y mejorar la apariencia de la muestra se trituró en un mortero, se tamizó; y se colocó en un envase en un lugar seco. Se realizó un análisis estadístico usando un modelo factorial completamente al azar a un nivel de significancia del 0.05% con tres repeticiones; donde se estudió el factor pH, temperatura y tiempo de

extracción de la pectina sobre las variables; rendimiento, fuerza del gel, y grado de esterificación. El rendimiento se determinó dividiendo el peso de pectina molida entre el peso de cáscara seca por cien, esto se realizó para todos los tratamientos. Contenido de Humedad. Se hizo mediante pérdida por secado utilizando una estufa de desecación. Determinación grado de esterificación. El grado de esterificación es un factor importante que caracteriza las cadenas de la pectina de los grupos carboxilos, se determinó usando el método de valoración de Schultz y Schweiger (Rojas *et al.*, 2008), de la pectina obtenida después de la molienda con la finalidad de evaluar el tipo de pectina. Se calculó teniendo en cuenta los miliequivalentes (meq) de NaOH gastados en la determinación de la acidez libre y los meq de NaOH gastados en la determinación del contenido de metoxilo (Unidades de ácido carboxílico metilesterificadas) y se expresó en porcentaje (Ferreira, 2007). Determinación de fuerza del gel. Se elaboraron geles con un contenido de 65% de sólidos totales. Los geles se enfriaron y se dejaron reposar a temperatura ambiente. La fuerza del gel se determinó con un penetrómetro al cual se le adaptó un embolo con punta. Como referencia se usó una pectina estándar Brown Ribbon 150° US-SAG, Obipektin, Ltd.

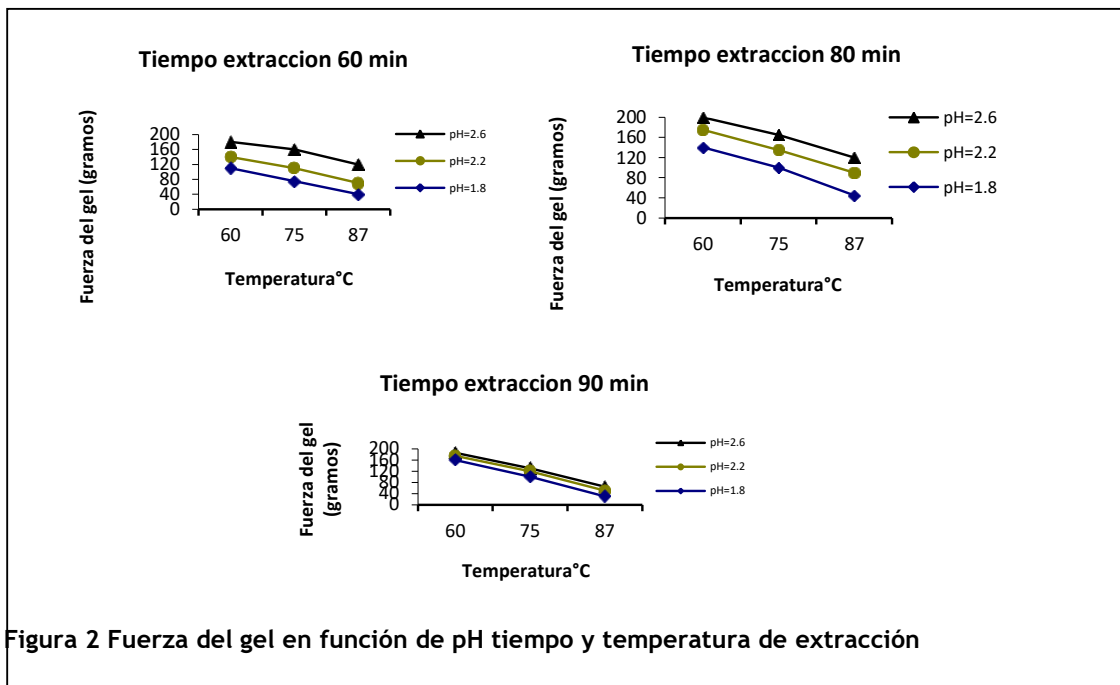
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinó el efecto del pH, temperatura y tiempo de extracción sobre, el rendimiento, fuerza del gel y grado de esterificación de la pectina. La extracción es un paso importante en la recuperación de las pectinas, de las condiciones aplicadas depende su calidad. La eficiencia del método de extracción está relacionada directamente con el pH temperatura y tiempo de proceso existe un efecto significativo tanto del pH como de la temperatura sobre el rendimiento de pectina el tiempo de proceso también mostro efecto significativo, en el intervalo estudiado.

En las gráficas figura 1 se observa que el rendimiento de pectina aumenta al disminuir el pH y aumentar la temperatura de extracción. En el caso de la fuerza el tiempo de extracción de 60 min, pH 1.8, mostro un rendimiento de 12.6%. Para tiempo de extracción de 80 min pH 1.8 el rendimiento fue de 13 %. El mayor rendimiento de 14% se obtuvo cuando se empleó agua acidulada con pH1.8 y tiempo de 90 min a 90°C. Disminuyendo el rendimiento de pectina cuando se emplea mayores niveles de pH en el agua acidulada

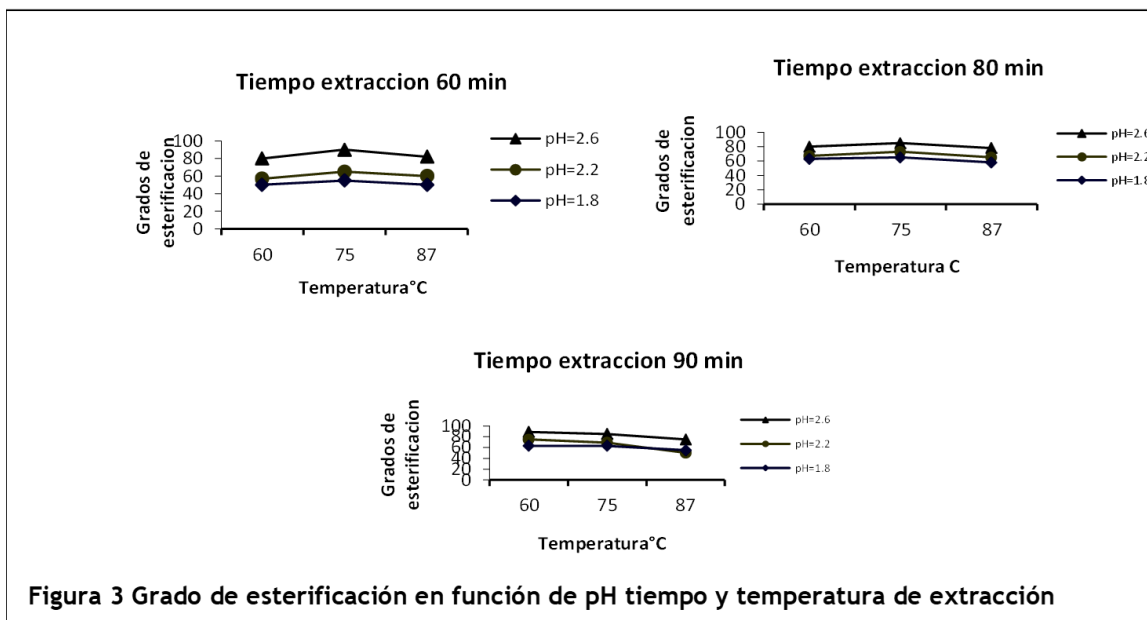


La relevancia de los factores pH temperatura y tiempo de extracción en la cantidad y calidad de la pectina obtenida ha sido discutida previamente por diversos autores.



Con respecto a la fuerza del gel figura 2, existe una disminución al aumentar la temperatura a mayor pH y tiempo de extracción mayor fuerza del gel. Sin embargo, las condiciones de extracción que incrementan el rendimiento tienen un efecto degradativo sobre la molécula de pectina reflejándose en la disminución de la fuerza del gel es decir existe una hidrólisis tanto de las uniones glicosídicas como de las uniones éster disminuyendo el peso molecular y el grado de esterificación. Las condiciones de extracción modifican la cantidad y calidad de la pectina obtenida, de tal forma que, al incrementar la temperatura, la acidez y el tiempo de extracción, aumenta el rendimiento de pectina

En cuanto al grado de esterificación figura 3 este disminuyó al disminuir el pH y al aumentar la temperatura y el tiempo de extracción. El rendimiento y fuerza del gel y las condiciones de extracción aumentaron el rendimiento y disminuyeron la fuerza del gel. El rendimiento aumento y disminuyo el grado de esterificación, el pH fue el único factor significativo para rendimiento mientras que para fuerza de gel lo fue el tiempo de extracción. Las condiciones de aumento de rendimiento disminuyeron la fuerza del gel el rendimiento y el grado de esterificación. La fuerza del gel y el grado de esterificación se correlacionan positivamente.



Con respecto al grado de esterificación figura 3, este dependerá del origen de la pectina y del método utilizado para su extracción. De tal forma, los grupos carboxilos de los ácidos galacturónicos presentaron un grado variable de esterificación con metanol y a su vez pudieron estar parcial o completamente neutralizados por iones de sodio, potasio o amonio.

En algunas pectinas, los grupos hidroxilos pueden estar parcialmente acetilados. En cuanto a la determinación del peso molecular utilizando valores de viscosidad intrínseca permitió observar una correlación alta y positiva de la fuerza del gel con el tamaño de la molécula de pectina mostrando claramente el efecto del pH y temperatura en la hidrólisis ácida del polisacárido. El peso molecular de la pectina está relacionado con la longitud de la cadena, es una característica muy importante de la que dependen la viscosidad de sus disoluciones y su comportamiento en la gelificación de las jaleas.

En conclusión, el empleo de frutos como la cascara y bagazo de manzana se convierte en una materia prima importante para la obtención de pectinas las condiciones óptimas de extracción fueron pH 1.8,  $t = 90$  °C y tiempos de proceso 90 min. Fue posible obtener entre 12 y 14 % de la pectina total. Sin embargo, a mayor rendimiento, menor fuerza gel. La calidad expresada como fuerza del gel disminuye en las condiciones de proceso que dan un alto rendimiento. Dependiendo de las condiciones de manejo, y secado del bagazo antes del procesamiento, así como las condiciones de pH, tiempo y temperatura de extracción las características de las pectinas variaran

## BIBLIOGRAFÍA

- Arellanes, A., Jaraba, M., Mármol, Z., Páez, G, Aiello, M. y M. Rincón., 2011. Obtención y caracterización de pectina de la cascara del cambur manzano (*Musa AAB*). Rev. Fac. Agron., 28: 523-539
- Baltazar F R, Carbajal M D, Baca R N, y S. Rodríguez D., 2013. Optimización de las condiciones de extracción de pectina a partir de cáscara de limón francés (*Citrus medica*) utilizando la metodología de superficie de respuesta Agroind. Sci. (2) 77-89
- Ferreira, S., 2007. Pectinas, aislamiento, caracterización y producción a partir de frutas tropicales y de los residuos de su procesamiento industrial; Universidad nacional de Colombia. Facultad de ciencias. Colombia
- Marcon M. V., Vriesmann, G. Wosiacki, E. Beleski and Petkowicz C., 2005. Pectins from apple pomace. *Polimeros: Ciência e Tecnologia* 15:127-129.



- Rascón Chu A., A.L. Martínez López, E. Carvajal Millán, N. Ponce de León Renova, J.A. Márquez Escalante and A. Romo Chacón., 2009. Pectin from low quality 'Golden Delicious' apples: Composition and gelling capability. *Food Chemistry* 116:101-103.
- Rojas, J.; Perea, A.; Stashenko, E., 2008. Obtención de aceites esenciales y pectinas a partir de subproductos de jugos cítricos. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* 16(1): 110-115.
- Urías, O. Rascón Chu, A. Lizardi M, E. Carvajal M, A. Gardea A and Ramírez W.,2010. A novel pectin material: extraction, characterization and gelling properties. *International Journal of Molecular Sciences* 11:3686-3695.

## Desarrollo de un producto de panificación con harinas de leguminosas y cereales complementado con *trüb*

P.J. Hernández Pérez<sup>1</sup>, A. Reyo Herrera<sup>2</sup> y M.S. Córdova Aguilar\*<sup>1</sup>

**1** Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito escolar s/n Ciudad Universitaria, Col UNAM, CU, Delegación Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México. **2** Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito escolar s/n Ciudad Universitaria, Col UNAM, CU, Delegación Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México. \*[marisol.cordova@icat.unam.mx](mailto:marisol.cordova@icat.unam.mx)

### RESUMEN

Se propuso desarrollar un producto de panificación de harinas de cereales y leguminosas y *trüb*, que es un subproducto de proceso de elaboración de cerveza cuya composición presenta predominantemente aminoácidos ácidos, aminoácidos alifáticos, taninos y compuestos polifenólicos. Las harinas se procesaron en el ICAT, se les realizó un análisis bromatológico y una caracterización en función de solubilidad, pH, % humedad, actividad de agua ( $a_w$ ) y densidad total, aparente y compactada; adicionalmente, al *trüb* se le realizó una prueba de sedimentación. Se propuso un diseño de mezclas para las formulaciones del producto de panificación, utilizando un diseño de programación no lineal con restricciones utilizando el programa (*FrontlineSolvers*), cuyas variables de decisión fueron diferentes proporciones de *trüb* y harinas; como función objetivo, la calidad proteica (PDCAAS) del producto final y, como restricciones, los aminoácidos limitantes del *trüb* y las harinas. En todas las formulaciones, se utilizó masa madre. Se logró desarrollar un producto de panificación con 8 a 10 % de *trüb* y con un PDCAAS mayor en 16 a 19 % respecto a una formulación con sólo harina de trigo. El producto presentó una textura y estabilidad aceptables, con calidad nutricional y alta tolerancia proteica.

**Palabras clave:** *trüb*, cereales, leguminosas, producto de panificación, PDCAAS, diseño de mezclas.

### ABSTRACT

A bakery product made from cereal, legume and *trüb* flours was developed. *Trüb* is a by-product of the brewing process whose composition consists of acidic amino acids, aliphatic amino acids, tannins, and polyphenolic compounds, which complements the protein quality of the product and increases its PDCAAS. The flours were obtained at ICAT and were characterized based on AQP, solubility, pH, % moisture, water activity ( $a_w$ ) and density. Several formulations of the bakery product were tested, using a nonlinear programming design with restrictions (*FrontlineSolvers*), whose decision variables were different proportions of *trüb* and flour; the objective function was the protein quality (PDCAAS) of the final product and the limiting amino acids of the *trüb* and the flours, as restrictions. In all formulations, wheat flour sourdough was used. It was possible to develop a bakery product with 8 to 10% of *trüb* and with a PDCAAS higher by 16 to 19% compared to a formulation of only wheat flour. The final product presented an acceptable texture, with quality and high protein tolerance.

**Key words:** *trüb*, cereals, legumes, bakery product, PDCAAS, mix design.

## INTRODUCCIÓN

El síndrome de malabsorción se define como una alteración en la asimilación de nutrientes que puede ser producida por la hidrólisis defectuosa de nutrientes o la alteración de la absorción mucosa de los nutrientes (Pérez *et al.*, 2008). El síndrome de malabsorción causa diferentes alteraciones, fundamentalmente pérdida de peso, anemia y desnutrición. Esta condición se presenta por disminución de la capacidad digestiva, por incremento de la motilidad intestinal o por disminución de la superficie digestivo-absortiva, como en el caso de la cirugía bariátrica. Estos pacientes requieren de dietas que les proporcionen todos los requerimientos nutrimentales, principalmente de proteína, la cual es el nutrimento más importante que ayuda a mantener la masa magra (Johnson-Stoklossa y Atwal, 2013). Sin embargo, los alimentos que contienen proteínas de alta calidad (carne, huevo, etc.), en muchos casos, no son tolerados o son poco accesibles. Promover una alimentación equilibrada resulta complicado en la mayoría de los casos, pues se tiene baja capacidad gástrica o puede presentarse inapetencia. Una alternativa para evitar la desnutrición severa en estos pacientes y alcanzar los requerimientos nutrimentales, es el uso de fórmulas sin lactosa y sacarosa, o bien, fórmulas oligoméricas que en la mayoría de los casos deben administrarse por medio de una sonda de alimentación, dada su pobre aceptación por vía oral. Todos estos suplementos implican un elevado costo para el paciente. Por otra parte, durante el proceso de elaboración de cerveza se generan varios residuos. Uno de ellos, obtenido de la etapa de pasteurización y lupulado del mosto es un residuo con un alto contenido de fibra y proteína que puede aprovecharse incorporándolo total o parcialmente, a una formulación enriquecida nutricionalmente.

El *trüb* es un subproducto de proceso de elaboración de cerveza, obtenido después de la maduración de la cerveza, el cual puede utilizarse para complementar alimentos funcionales, debido a que su composición presenta predominantemente aminoácidos ácidos, así como sus amidas, aminoácidos alifáticos, taninos, compuestos polifenólicos derivados de la adición de lúpulo además, de la presencia de una mezcla compleja de proteínas desnaturalizadas, carbohidratos y lípidos provenientes del grano (Yeow, 1978).

Se han desarrollado productos funcionales de panadería, los cuales han sido complementados con diferentes sustancias nutritivas y protectoras que permiten disminuir la incidencia de diversos tipos de patologías asociadas con alimentos (Montero, *et al.*, 2015). Debido a sus características de vida de anaquel, su bajo costo de manufactura y formulación, los productos de panificación pueden ser enriquecidos al adicionar proteínas de origen vegetal, como concentrados o aislados proteicos de diversas leguminosas (Güemes *et al.*, 2009).

En la actualidad el método sugerido para evaluar la calidad proteica es el PDCAAS en el cual se valora hasta qué punto la fuente de proteína puede satisfacer la demanda de aminoácidos permitiendo la predicción de la proteína en la dieta (FAO Y FINUT, 2017).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Obtención y caracterización fisicoquímica de harinas y *trüb***

Se obtuvieron las harinas de leguminosas y cereales por el método establecido por Velázquez (2019). Las legumbres se remojaron durante 24 horas a temperatura ambiente, se hace la cocción y secado en un equipo Industrial de charolas (*Avantco*) para su posterior molienda en seco para disminuir el tamaño de partícula. En el caso de los cereales, la harina se obtiene por molienda y tamizado 80.

En la planta piloto de elaboración de cerveza (Facultad de Química/Lab. tecnología de alimentos), al término del proceso de elaboración de cerveza, se obtuvo el sedimento (*trüb*) del tanque de fermentación

para su posterior deshidratación. La caracterización de las harinas se hizo en función de: solubilidad, pH, % humedad, actividad de agua ( $a_w$ ) y densidad total, aparente y compactada y sedimentación.

Para la determinación de humedad en las distintas harinas obtenidas, así como en el *trüb*, se utilizó el método de termobalanza (NMX-F-428-1982), mediante una termobalanza (Sartorius Alemania MA37-1 a 135 °C. Se determinó  $a_w$  en un medidor de actividad de agua (Aqualab Series 4TE), el cual sigue la metodología de punto de rocío a 25 °C. Ambas pruebas fueron realizadas por triplicado a cada muestra (Velázquez. 2019).

Se determinó la densidad total mediante un picnómetro y se registró el peso por triplicado para cada muestra. Se calculó la densidad de las muestras mediante la siguiente ecuación:

$$Densidad\ total = \frac{m}{v}$$

Donde:  $m$  = masa (g)      y       $v$  = volumen (mL)

La densidad aparente se determinó en una probeta de 10mL con graduación de 0.5mL, y se pesó la cantidad de harina que ocupa 5 mL sin compactar. La densidad aparente se determinó por triplicado reportando los resultados en gramo por mL, utilizando la siguiente ecuación:

$$Densidad\ aparente = \frac{m}{v_0} \quad \text{Donde: } v_0 = \text{volumen sin compactar (mL)}$$

Después de observar el volumen inicial utilizado para la densidad aparente, se compacto la harina impactándola 150 veces sobre una superficie plana y suave, a ritmo constante llevando a una altura de 5 cm aproximadamente. Para reportar los resultados en gramo por mL se utilizó la ecuación:

$$Densidad\ compactada = \frac{m}{v_f} \quad \text{Donde: } v_f = \text{volumen final por asentamiento (mL)}$$

La solubilidad se evaluó de acuerdo con el método propuesto por (de Barros, et al., 2014), con modificaciones. Se pesó 1 g de las muestras y se aforo a 10mL con agua y se agitó 15 minutos a temperatura ambiente. Se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos, posteriormente se tomó una alícuota de 2mL  $\pm$  0.5mL la cual se colocó en una termobalanza Sartorius Alemania MA37-1. Por medio de diferencia de peso se obtuvo el porcentaje de solubilidad. Para reportar los resultados se utilizó la siguiente ecuación:

$$\%Solubilidad = \frac{g\ sólidos\ secos}{g\ muestra * \frac{100 - \%Humedad}{100}} * \frac{g\ aforo}{g\ alícuota} * 100$$

Se les determino el pH mediante un potenciómetro (Science, EUA, MED) previamente ajustado son buffers pH 4 y 7 respectivamente. Por otra parte, el porcentaje de sedimentación se determinó pesando 7 g de una suspensión homogénea en un tubo falcón, mediante una centrifugación a 100 rpm (UnicoPower Spin Centrifuge EUA LX and FX) a 25°C durante un minuto y posterior filtrado a vacío. Se dejo a peso constante en una estufa a 80°C y posteriormente pesado de la masa drenada. La determinación se realizó por duplicado (Toxtle, 2020).

### Formulaciones de panificación

Las formulaciones de los productos de panificación se realizaron mediante un diseño de programación no lineal con restricciones utilizando el programa (*FronlineSolvers*), para llevar a cabo la determinación de las formulaciones se tomaron como variables de decisión el *trüb* y las harinas, como función objetivo el PDCAAS que se esperaría obtener en el producto final y como restricciones los aminoácidos limitantes

del *trüb* y harinas; los PDCAAS fueron obtenidos de la base de datos de harinas de leguminosas del Laboratorio de Ingeniería de proceso del ICAT (Soto, 2019).

### PDCAAS

El PDCAAS se determina mediante la siguiente ecuación (FAO y FINUT, 2017):

$$\frac{\frac{\text{mg de aminoácido limitante}}{\text{g de proteína de estudio}}}{\frac{\text{mg de aminoácido de referencia}}{\text{g de proteína de referencia}}} \times \% \text{Digestibilidad Fecal Verdadera} \times 100$$

Debido a que el PDCAAS está referido a g de aminoácido por cada gramo de proteína digerible, en el diseño del producto de panificación resulta relevante el PDCAAS para garantizar la calidad proteínica del mismo y así optimizar su aprovechamiento, de tal manera que el modelo de optimización debe contemplar el porcentaje de proteína digerible y la cantidad de aminoácido esencial en la mezcla dentro se la función objetivo; a su vez, la elección de la variable de decisión debe contemplar los parámetros de proteína digerible y aminoácidos esenciales. Ya que el score de aminoácidos depende el aminoácido que esté en menor proporción a la proteína de referencia, fue necesario contemplar una ecuación de restricción para cada aminoácido esencial minimizando esta diferencia. La variable de decisión seleccionada que controla el modelo y asocia a las harinas y sus combinaciones fue la masa de cada harina.

Debido a que el balance de materia de cada aminoácido esencial relaciona la masa y los parámetros de aminoácidos esenciales para posteriormente dividirse entre la cantidad de proteína digerible de la mezcla obtenida a través del balance de materia de proteína digerible

Para poder determinar las formulaciones se utilizaron la siguiente ecuación:

Ecuación de restricción:

$$= \left[ \left( \frac{g \text{ harina}}{100 * g \text{ aa}_1} \right) + \left( \frac{g \text{ harina}}{100 * g \text{ aa}_2} \right) + \dots + \left( \frac{g \text{ harina}}{100 * g \text{ aa}_n} \right) \right] * \frac{1}{g \text{ proteína total}} * 1000 - g \text{ referencia aa}_n$$

Donde: g aa<sub>n</sub>= gramos de aminoácido esencial

En una hoja de cálculo se establecieron las celdas de restricción correspondientes a las ecuaciones de los aminoácidos esenciales, así como la función objetivo que corresponde a la cantidad de aminoácidos esenciales y las variables de decisión correspondientes a los gramos de muestra para alimentar el modelo. Cada columna representa un tipo de harina a utilizar, así como las recomendaciones de aminoácidos, cada fila muestra un parámetro fisicoquímico necesario para el cálculo de los valores nutrimentales del producto y la función objetivo. A su vez se añadió una columna para el score sin linealizar y PDCAAS con el fin de visualizar los resultados a través de las combinaciones del algoritmo. Para resolver el algoritmo, se utilizó el programa *FrontLine Solvers* para determinar un mínimo local con el fin de establecer una solución óptima para encontrar aquella combinación que se ajustara mejor al modelo. Después de obtener los gramos de harina, se ajustaron a base 100 para establecer la formulación de las harinas en porcentaje (Soto, 2019). Finalmente, para determinar el PDCAAS de cada aminoácido se obtuvo mediante la siguiente ecuación:

$$PDCAAS = \text{Score aa}_n * \frac{g \text{ proteína digestible}}{g \text{ proteína cruda}}$$

### Pruebas de panificación y textura

Las pruebas de panificación se realizaron en la Facultad de Química en el laboratorio 4B, para determinar el tiempo y la fuerza de amasado para lograr la consistencia pertinente de la masa. Para todas las formulaciones, la porción de harina de trigo a utilizar se adicionó como masa madre, utilizando cantidades iguales de agua y harina, 136 g respectivamente, así como 0.14 g de levadura. Se dejó fermentar a  $23 \pm 0.5$  °C/15 h. El amasado de cada formulación se hizo a mano por 20 minutos, posteriormente se dejó leudar a  $34 \pm 2$  °C con ambiente húmedo en un fermentador para panificación durante 1 hora. Al término del tiempo de leudado se determinó hacer piezas de forma redonda y 90 g cada una. Se realizó un segundo leudado a  $34 \pm 2$  °C/20 minutos. Se establecieron condiciones de horneado de 180°/35 min.

Las características de textura se realizaron con un texturómetro (BROOKFIELD® Texture Pro CT) cuantificando los parámetros mecánicos de las curvas de fuerza. Los datos se analizaron con el software Texture Pro CT V1.9 Build 35, se realizó por triplicado curvas de fuerza (deformación) durante un tiempo determinado. La prueba se les hizo a los panes utilizando la sonda TA25/1000 y a las masas de panificación, la sonda TA43. Los parámetros que fueron evaluados en las muestras son: dureza, cohesividad, adhesividad, elasticidad, gomosidad y masticabilidad.

### Análisis estadístico

Se realizó una prueba ANOVA de un factor ( $\alpha= 0.05$  para determinar la diferencia significativa entre las formulaciones respecto a su PDCAAS.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización de harinas

En las tablas 1 y 2 se presentan las características de humedad, actividad de agua ( $a_w$ ), pH, densidad y solubilidad de las harinas de leguminosas (frijol negro y lenteja), del cereal (avena) y del *trüb*; también en la tabla 2 se presenta la característica de sedimentación del *trüb*.

El  $a_w$  de las harinas varía entre 0.1 y 0.4 y quedan dentro de los límites para el crecimiento de microorganismos. La actividad de agua representa el contenido de humedad donde pueden ocurrir reacciones químicas y enzimáticas en alimentos, así como del crecimiento de hongos, levaduras y bacterias; los valores mínimos anteriormente mencionados son: 0.80, 0.88 y 0.91 (Badui, 2006) Por lo tanto, las harinas obtenidas al presentar valores inferiores se reduce la posibilidad del crecimiento microbiano. En la tabla 1 se observa que el porcentaje de humedad de las harinas varía desde 1.45% a 8.59%, por lo que entran en límite máximo de humedad que indica la NOM-247-SSA1-2008 (SSA, 2008) el cual es del 15%. Al no existir una normatividad específica para % H del *trüb* (Tabla 2), se consideró como una harina por lo cual también entra dentro del límite de la norma.

El pH en las harinas y el *trüb* presenta valores entre 5 y 7, lo cual es favorable ya que el pH de la harina influye en la capacidad del gluten para formar una red esponjosa, un pH inferior a 3.4 puede provocar una alteración debido a microorganismos acéticos y butíricos. Para obtener un mayor desarrollo fermentativo y máxima producción de CO<sub>2</sub> en el pan formado, se deben tener valores de pH entre 5 y 6, siendo el mejor entre 5.4 y 5.8; sin embargo, estos valores de pH se logran obtener cuando se utiliza métodos de obtención de pan con fermentaciones largas, como es el caso del método esponja (Sarmiento, 2015).

**Tabla I.** Caracterización fisicoquímica de las harinas de avena, leguminosas y *trüb*.

$a_w$	pH	DENSIDAD (g/mL)
-------	----	-----------------

	HUMEDAD			Total	Aparente	Compactada	SOLUBILIDAD
	(%)						(%)
Frijol negro	1.45	0.1722	6.28	0.8498	0.7321	0.9376	17.009
DE	0.25	0.0170	0.015	0.0149	0.0188	0.0379	0.6138
Lenteja	2.58	0.1425	6.59	0.8661	0.7569	0.8876	15.547
De	0.28	0.0253	0.010	0.0206	0.0141	0.0349	1.4532
Avena	8.59	0.4161	5.45	0.4299	0.2996	0.7753	3.387
De	0.07	0.0038	0.021	0.0194	0.0132	0.0129	0.1721

**Tabla II.** Caracterización fisicoquímica del *trüb*

	HUMEDA	a <sub>w</sub>	pH	DENSIDAD (g/mL)			SOLUBILDA	SEDIMENTACIÓ	
	D (%)			Total	Aparente	Compactada	D (%)	N (%)	
								F1	F2
TRÜB	2.76	0.3740	5.12	0.8284	0.5965	0.8447	41.436	13.444	13.457
DE	0.01	0.0026	0.015	0.0041	0.0008	0.0273	1.5593	0.034	0.049

Los valores de densidad aparente y compactada están relacionados entre sí y son indicativas de que mientras es mayor el volumen que ocupa el polvo, menor será su densidad (Cerezal, et. al, 2011); los valores altos de densidad indican que la granulometría que presentan las harinas es fina (Bressani, et al., 2001).

El porcentaje de solubilidad está relacionado con la cantidad de almidón dañado, este daño fue ocasionado por el tratamiento térmico y el tamaño de partícula; esto explica por qué la alta energía de molienda puede causar fragmentación del almidón y originar dextrinas, las cuales impactan en la cantidad de sólidos solubles (Contreras, et al. 2014)

Los valores de sedimentación corresponden a los porcentajes de *trüb* en suspensión utilizados en las formulaciones 1 y 2 (tabla 3). Los cuales son similares debido a que la densidad de la harina es influenciada por la composición, a menor cantidad de sólidos solubles en la harina, mayor es la resistencia para sedimentar (Toxtle, 2020).

### Pruebas de panificación

En la tabla 3 se presentan las formulaciones utilizadas para elaborar el pan, utilizando porcentajes de sustitución de harina de trigo de 50 y 60%. Estas formulaciones implican incorporar *trüb* en una proporción hasta 10%. Pruebas preliminares demostraron que una proporción mayor a 10% ocasionó un sabor desagradable al paladar del producto final.

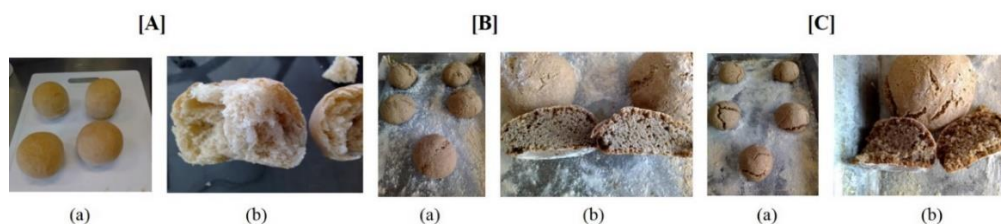
TRIGO	AVENA	TRÜB	LENTEJA	FRIJOL	AGUA	SAL	ACEITE	LEVADURA	
(%)	(%)	(%)	(%)	NEGRO	(%)	(%)	(%)	(%)	
					(%)				

CONTROL	60	0	0	0	0	37.72	1.31	0.49	0.35
FORMULACIÓN 1	36.87	21.38	6.26	4.42	4.42	23.97	1.61	0.60	0.43
FORMULACIÓN 2	28.50	24.80	7.12	5.13	5.13	26.73	1.56	0.58	0.42

**Tabla III.** Formulaciones para panificación

De acuerdo con (Vázquez, *et al.*, 2016) la proporción que se puede sustituir la harina de trigo por harina de avena en un producto de panificación es 10 % máximo, debido a que en mayor proporción la harina de avena provoca un “apelmazamiento” del producto, ocasionado por un descenso en la fuerza de la masa; en cuanto a la harina de frijol esta puede sustituir un máximo de 9.6% de harina de trigo, ya que al presentar una mayor cantidad de fibra dietética permite una mayor retención de agua lo cual ocasiona que disminuya la estabilidad y aumente el debilitamiento de la masa conforme aumente la proporción sustituida de harina de trigo (Álvarez, *et al.*, 2016); respecto a la harina de lenteja esta puede sustituir hasta un 10% de harina de trigo debido a que disminuye la actividad  $\alpha$  amilasa provocando con esto una afectación en los parámetros de capacidad de retención de gas (tenacidad, extensibilidad y fuerza) debido a la ausencia de gliadinas, dificultando con ello la formación de gluten (Aguilar, *et al.*, 2011).

En la figura 1 y tabla 4 se presentan los atributos sensoriales de corteza externa y miga interna de las formulaciones mientras que en la figura 2 se presenta el perfil de textura del pan elaborado con las formulaciones de la tabla 3.



**Figura 1.** Imágenes del pan elaborado con las formulaciones de la tabla 3: [A] harina de trigo (control), [B] *trüib* 6.2 %, [C] *trüib* 7.1%; (a) corteza del pan y (b) miga interna.

La proporción de leguminosas influye fuertemente en la interacción entre los gránulos del almidón, lo cual puede relacionarse con el contenido de humedad del pan, ya que a mayor humedad se obtienen mejores características.

**Tabla IV.** Atributos sensoriales de los productos de panificación utilizando harinas de leguminosas, cereales y *trüib*.

FORMULACIÓN	COLOR	AROMA	SABOR	TEXTURA
1	Beige oscuro	Tostado, levadura de cerveza	Salado, ligeramente astringente.	Corteza dura, miga apelmazada



2	Beige oscuro	Tostado, levadura de cerveza	Salado, ligeramente astringente	Corteza dura, miga apelmazada
---	-----------------	------------------------------------	---------------------------------------	-------------------------------------



**Figura 2.** Perfil de textura del pan elaborado con las formulaciones de la tabla 3.

El perfil de sabor de ambas formulaciones fue ligeramente salado y astringente, con ligeras notas caramelizadas y una nota muy marcada a levadura de cerveza proveniente del *trüb*.

Los panes de ambas formulaciones presentan agrietamiento en la corteza, en contraste con el pan obtenido con la formulación control, el cual presenta una corteza uniforme, esto se debe a una falta de agua en la formulación. La presencia de las leguminosas resulta en panes más duros, menos elásticos, aunque son cohesivos y gomosos, e igual de masticables que el pan de trigo 100%. Se obtienen cortezas difíciles de romper, pero se recuperan con rapidez de la deformación como un producto semiblando, además el tiempo o las masticaciones necesarias para desintegrarse y ser deglutida es mayor al del pan ordinario.

Un contenido mayor de *trüb* y de frijol hace que sea menos fuerte la red que las otras. La formulación 2 presenta una estructura más estable, por lo que se necesita un mayor esfuerzo para modificar su estructura. Esto se observa en la apariencia de la miga. En los panes elaborados con la formulación 1 y 2 se observa “apelmazada” o cerrada con respecto a la miga del pan control. Esto fue ocasionado por una falta de trabajo mecánico (amasado), ya que las propiedades mecánicas de las masas son el resultado de una adecuada proporción de agua y harina (Rosalia, 2008).

El volumen del pan depende del tipo de harina utilizada en su elaboración, en general las harinas muy flojas, con escasa capacidad de retención de gas producen panes aplanados y muy densos. Por el contrario, las harinas excesivamente fuertes y tenaces no son capaces de expandirse, son difícilmente mecanizables y producen panes redondos, pero con poco volumen (Gómez, *et al.* 2007)

La cantidad de harina de lenteja, frijol y avena adicionada a cada formulación ocasiona que la miga que se observa en los panes obtenidos en ambas formulaciones tenga una consistencia gomosa y apelmazada, además de un menor volumen debido a que por la cantidad de carbohidratos y proteínas proveen a la masa una alta capacidad de retención de agua.

Aunado a esto, la fermentación de la masa se da por acción de la levadura adicionada a la masa, en donde se crean las condiciones adecuadas para que salga del estado de latencia y se vuelva activa. En la fermentación de la masa, la levadura consume rápidamente el oxígeno generándose condiciones

anaeróbicas, y así mismo se produce poco crecimiento de levadura. Al producirse el dióxido de carbono en la fase acuosa, el pH desciende y la fase acuosa se satura de dióxido de carbono. Una vez saturada el agua, el dióxido de carbono en exceso entra en las burbujas de aire preexistentes, y aumenta la presión. Dada las propiedades viscoelásticas de la masa, la celda de gas se expande para equilibrar la presión; es así como el volumen total de la masa aumenta, generando el sistema de esponja.

El gas producido durante el proceso de panificación depende principalmente del tiempo de fermentación, características y cantidad de levadura. La cantidad de gas retenido depende principalmente de las condiciones del proceso y de los ingredientes; sin embargo, existen otros factores que pueden afectar la interacción entre la producción y retención de gas (Conde, 2014).

Con respecto a los resultados observados en los panes obtenidos en la formulación 1 y 2, el factor que pudo afectar la fermentación y por ende el volumen de la masa principalmente sería el que la masa presentará un alto contenido en fibra proveniente de las harinas de avena, leguminosas y *trüb* ya que reduce la retención de gas y la tolerancia, debido a que la fibra interfiere en la estructura de gluten (Conde, 2014); al afectar la estructura del gluten y junto con la propiedad de las harinas de leguminosa (frijol y lenteja) de generar geles rígidos y fuertes, se favorece la coalescencia de las celdas de gas obtenidas durante la fermentación, dicha coalescencia es promovida por una repulsión débil entre las gotas o celdas de gas, una baja tensión superficial y un diámetro de celda grande (Hayman *et al.* 1998) dando como resultado una pérdida de gas, un volumen pequeño y por ende un pan de miga gruesa.

Cuando la masa está en el horno, se producen una serie de reacciones tanto físicas como químicas, que desembocan en la formación del pan. La corteza se empieza a formar cuando cede la migración del agua del interior de la masa hacia el exterior. Mientras la superficie de la masa recibe humedad no se forma la corteza, pero pasados unos minutos, y en función del tamaño y tipo de panes, del vapor inyectado y de la temperatura de cocción, dicha superficie se seca y consecuentemente aumenta su temperatura. A partir de los 130°C, los azúcares provenientes de la actividad enzimática y concretamente las dextrinas y la maltosa, empiezan a caramelizarse (es el llamado proceso de dextrinación) y a dar color a la corteza. A medida que la temperatura en la superficie del pan aumenta lo hace también la caramelización y de ahí se forman los aromas y el sabor particular de la corteza. En el transcurso de la cocción la corteza pierde cada vez más humedad, aumentando el secado y su dureza, que depende en buena medida de la coagulación del gluten contenido por la masa.

En los panes obtenidos de las formulaciones 1 y 2, se observa que la corteza es muy gruesa y sin brillo, esto se debe a un defecto de vapor y una baja humedad en la masa al momento de hornear lo cual causa una resequeidad excesiva dando como resultado el agrietamiento de la corteza; además este efecto de corteza gruesa se debe también a un amasado deficiente debido a la falta de homogeneidad en la masa provocando una menor extensibilidad en la masa. Respecto al color de la miga este se debe al uso de las harinas de leguminosas y *trüb*, en donde a mayor proporción de *trüb* ocasionó que la miga presentará un color más oscuro.

Del análisis estadístico, se acepta la hipótesis nula: existe una diferencia significativa entre los valores de PDCAAS de las 2 formulaciones.

## CONCLUSIÓN

La adición de *trüb* (subproducto considerado desecho) como complemento proteico en una proporción de 8 a 10 % en una formulación de harina para panificación aumenta el valor biológico (PDCAAS) entre 16 a 19 % con respecto a la formulación compuesta sólo con harina de trigo.

Las harinas de leguminosas, avena y *trüb* proporcionan una alta cantidad de fibra a la masa lo cual favorece una pérdida de la capacidad de retención de gas, otorgando productos de pequeño volumen y miga compacta, no obstante, se favorece la obtención de un coloide estable.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, J., Esparza, J., Meza, J., Candelas, M., Aguilera, M. y Ramírez, P. 2011. Efecto de la harina de lenteja (*Lens culinaris*) sobre las propiedades reológicas y de panificación de la harina de trigo. *Ciencia@UAQ*, 4(2), 4-9.
- Álvarez, M., Ochoa, M., Hernández, G., Nuñez, M., Rosas, B. y Gutiérrez, E. 2016. Empleo de harina de frijol blanco en panificación. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 26(1), 22-27.
- Badui, S. 2006. *Química de los alimentos*. Cuarta edición. Ciudad de México: Pearson Educación.
- Bressani, R., C. Turcios, J., Reyes, L. y Mérida, R. 2001. Caracterización física y química de harinas industriales nixtamalizadas de maíz de consumo humano en América Central. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 51(3), 309-313.
- Cerezal, P., Urtuvia, V., Ramírez, V y Arcos, R. 2011. Desarrollo de producto sobre la base de harinas de cereales y leguminosa para niños celíacos entre 6 y 24 meses; II: Propiedades de las mezclas. *Nutrición hospitalaria*, 26(1), 161-169.
- Conde, D. 2014. Estudio de la fermentación en panes funcionales, reducidos en grasas, carbohidratos y sal. Tesis de maestría. Universidad Tecnológica Nacional.
- Contreras, B., Morales, E., Reyes, M. y Gaytán, M. 2014. Propiedades funcionales de harinas de maíz nixtamalizado obtenidas por extrusión a baja temperatura. *CyTA-Journal of food*, 12(3), 263-270.
- FAO y FINUT. 2017. Evaluación de la calidad de la proteína de la dieta en la nutrición humana. Consulta de expertos. Granada: FAO
- Gómez, N., Edel, A. y M. Rosell, C. 2007. Trigo. En A. Edel León y C. M Rosell (Eds.), *De tales harinas, tales panes: granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica* (pp 17-72). Alberto Edel León – Cristina M. Rosell Editores. <https://digital.csic.es/bitstream/10261/17118/1/libro%20panificacion-2007.pdf>
- Güemes, N., Totosaus, A., Hernández, J., Soto, S. y Aquino, E. 2009. Propiedades de textura de masa y pan dulce tipo “concha” fortificados con proteínas de suero de leche. *Ciência e Tecnología de Alimentos*, 29(1), 70-75.
- Hayman, A., Sipes, K., Hosoney, RC. y Faubion, JM. 1998. Factors controlling gas cell failure in bread dough. *Cereal Chemistry*. 75(5), 585–589.
- Johnson-Stoklossa, C. y Atwal, S. 2013. Nutrition Care for Patients with Weight Regain after Bariatric Surgery. *Gastroenterology Research and Practice*, 2013, 256145. <https://doi.org/10.1155/2013/256145>
- Montero, K., Moreno, R., Molina, E., Segundo, M. y Sánchez, B. 2015. Evaluación de panes enriquecidos con amaranto para regímenes dietéticos [versión electrónica]. *Interciencia*, 40(7), 473-478.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba.
- Pérez, M., Temiño, R., Fernández, M. y Calvo, M. 2008. Síndrome de malabsorción intestinal (1). *Medicine – Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 10(4), 197-206.
- Rosalía, B. 2008. Estudio del efecto de acciones químicas y biológicas sobre la masa panaria. Tesis de maestría. Universidad Nacional del Litoral.
- Sarmiento, Y. 2015. Estudio de la sustitución parcial de la harina de trigo por la harina de amaranto

- crudo y tostado en la elaboración de pan. Tesis de Ingeniería. Universidad Tecnológica Equinoccial.
- Soto, G. 2019. Aplicación de un algoritmo de optimización para el diseño de un suplemento alimenticio enfocado en malnutrición proteínico-energética. Tesis de maestría. UNAM.
- Toxtle, G. 2020. Uso del mucílago de nopal *Opuntia ficus indica* como dispersante de suplementos alimentarios. Tesis de licenciatura. UNAM.
- Vásquez, F., Verdú, S., R. Islas, A., M. Barat, J. y Grau, R. 2016. Efecto de la sustitución de harina de trigo con harina de quinoa (*Chenopodium quinoa*) sobre las propiedades reológicas de la masa y texturales del pan. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 17(2), 307-317.
- Velázquez, M. 2019. Estandarización de la cocción y deshidratación de legumbres para la obtención de harinas para suplementos. Tesis de licenciatura. UNAM.
- Yeow, T. 1978. The utilization of heat coagulated beer wort protein (*trüb*). Tesis de maestría. The University of British Columbia.

## Formulación de un producto lácteo a partir de pitahaya amarilla y sus subproductos

M.P. Díaz-Trujillo\*<sup>1</sup>, D.S. Villa-Fonseca<sup>1</sup>, O. Álvarez-Solano<sup>1</sup>, I. Hernando<sup>2</sup>, V. Larrea<sup>2</sup> y M. Hernández-Carrión<sup>1</sup>  
**1** Departamento de Ingeniería Química y de Alimentos, Grupo de Diseño de Productos y Procesos (GDPP), Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. **2** Research Group of Food Microstructure and Chemistry. Department of Food Technology. Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain. \*[mp.diazt@uniandes.edu.co](mailto:mp.diazt@uniandes.edu.co)

### RESUMEN

La fruticultura se ha ido posicionando como una alternativa de crecimiento y reactivación agrícola en Colombia. En este sentido, la pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw.) se ha constituido como una de las frutas claves para la dinamización económica en el territorio rural. En virtud de ello, el presente artículo da cuenta de la elaboración, análisis fisicoquímico y análisis sensorial de un producto lácteo (yogur) elaborado a partir de pitahaya amarilla y sus subproductos (semillas y cáscara), con el objetivo de ampliar las posibilidades de consumo de esta fruta en el país. La formulación de este nuevo alimento se realizó a partir de un diseño experimental variando el tipo de edulcorante (azúcar blanca o stevia) y la cantidad de jalea de pitahaya (15% p/p o 30% p/p) utilizados. Los resultados demostraron que estas variables tuvieron una influencia estadísticamente significativa en los parámetros fisicoquímicos y sensoriales del yogur. Por último, se concluyó que la formulación 1 (yogur con azúcar y 15% p/p de jalea) permite la obtención de un producto más estable y agradable para los consumidores.

**Palabras clave:** Fruticultura, análisis sensorial, pitahaya amarilla, semillas, cáscara, yogur.

### ABSTRACT

Fruit growing has been positioning itself as an alternative for agricultural growth and reactivation in Colombia. In this sense, the yellow pitahaya (*Selenicereus megalanthus* Haw.) has become one of the key fruits for economic revitalization in rural areas. Therefore, this article reports on the preparation, physicochemical analysis and sensory analysis of a dairy product (yogurt) made from yellow pitahaya and its by-products (seeds and peel), intending to expand the possibilities of consumption of this fruit in the country. The formulation of this new food was based on an experimental design, varying the type of sweetener (white sugar or stevia) and the amount of pitahaya jelly (15% w/w or 30% w/w) used. The results showed that these variables had a statistically significant influence on the physicochemical and sensory parameters of the yogurt. Finally, it was concluded that formulation 1 (yogurt with sugar and 15% w/w of jelly) allows for obtaining a more stable and pleasant product for consumers.

**Key words:** Fruit growing, sensorial analysis, yellow pitahaya, seeds, shell, yogurt.

## INTRODUCCIÓN

La transformación en el funcionamiento de los mercados rurales ha tomado gran relevancia, ya que ha permitido el retorno de la agricultura a la agenda mundial y le ha conferido a la misma un rol esencial en el desarrollo de los países. A pesar de las grandes oportunidades que ofrece la agricultura en países como Colombia, este sector económico se encuentra en riesgo principalmente por la alta pobreza (Perfetti *et al.*, 2013). Sumado a esto, la pérdida y desperdicio de alimentos han influido en la sostenibilidad de los sistemas alimentarios, tanto en el aspecto económico, ambiental y social, como en la seguridad alimentaria y nutricional (FAO, 2019). De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), en América Latina se pierden y desperdician alrededor de 220 millones de toneladas de alimentos al año (Muñoz Ureña, 2021). Colombia registra cerca de un 62% de las pérdidas y desperdicios anuales en la cadena de frutas y vegetales según datos del Departamento Nacional de Planeación (DNP). Por ello, la propuesta es la búsqueda de sistemas alimentarios sostenibles, que generen resultados y beneficios más equitativos en el sector (FAO, 2019). Bajo este panorama, la fruticultura en Colombia se ha ido posicionando como una alternativa de crecimiento y reactivación agrícola; la pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw.), por ejemplo, se ha constituido como una fruta clave para la dinamización económica en el territorio rural (ICA, 2019).

La pitahaya amarilla es una fruta exótica nativa de la región andina. Su pulpa es blanca, dulce, blanda, ligeramente fibrosa, con semillas negras, pequeñas y digeribles. Es moderadamente ácida, reconocida por su color, aroma, textura y valor nutricional. Tiene un alto contenido en compuestos fenólicos y ácido ascórbico, así como en  $\beta$ -caroteno, licopeno, vitamina E, hierro y calcio (Torres Grisales *et al.*, 2017). Puede considerarse como un alimento funcional al brindar propiedades beneficiosas en el organismo diferentes a las nutricionales. Entre los beneficios asociados a su consumo se ha reportado el control glucémico en la diabetes tipo 2, la prevención de cáncer y enfermedades cardiovasculares y el control del estreñimiento (Verona Ruiz *et al.*, 2020). Por otro lado, el yogur es uno de los productos funcionales más popular en el mercado; tiene alto contenido de riboflavina, vitamina B12, calcio, magnesio, potasio y proteínas de alta calidad, que lo han catalogado como un alimento imprescindible en la dieta de muchos consumidores (Freitas, 2017). En virtud de ello, el presente estudio aborda la formulación y análisis fisicoquímico y sensorial de un yogur elaborado a partir de pitahaya amarilla y sus subproductos (semillas y cáscara), con el objetivo de ampliar las posibilidades de consumo de esta fruta en el país, potenciando, a la vez, su cultivo en el territorio rural.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales

Para la elaboración de yogur se utilizó pitahaya amarilla obtenida de supertiendas Olímpica, leche líquida entera Ultra-high temperature (UTH) Colanta®, leche entera en polvo Klim®, cultivo láctico liofilizado *Lactobacillus delbrueckii subspecies bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* (referencia CHOOZIT MY 800 LYO 5 DCU de Cimpa S.A.S.), azúcar blanco (Riopaila®) y stevia orgánica en polvo (Erba Dolce®) como edulcorantes, pectina cítrica rápida El Molino Verde®, carboximetilcelulosa (CMC) y benzoato de sodio adquiridos en Cimpa S.A.S.

### Elaboración del yogur

#### Pretratamiento

En la fase inicial se realizó la limpieza de la fruta entera mediante un lavado por inmersión en una disolución de hipoclorito de sodio al 0.2% (v/v), y se extrajo la pulpa. La **pulpa** se introdujo en un despulpador automático (Micro-Epsilon) para retirar las semillas. La cantidad resultante se sometió a un proceso de precocción en una plancha de calentamiento durante 20 min hasta alcanzar los 35°C y se escaldó por 20 min hasta llegar a 90°C. Se dejó enfriar hasta los 70°C, se envasó en recipientes de vidrio

y se refrigeró a 4°C hasta su uso. Las **semillas** y las **cáscaras** se deshidrataron de forma independiente en un secador de bandejas (Armfield Ltd) a 50°C durante 24 h. El producto resultante se molió (4TZS HB 14 tazas modelo 80393 Hamilton Beach), se tamizó y se almacenó en bolsas tipo Ziploc en un desecador hasta su uso. La jalea se elaboró a partir de pulpa (90%, p/p), cáscara en polvo (5%, p/p) y semilla en polvo (5%, p/p) a 35°C y 300rpm. Se almacenó en recipientes de vidrio y se almacenó a 4°C hasta su uso.

#### Elaboración del yogur

Para la elaboración del yogur se siguió la metodología propuesta por Cueva-Castillo (2003). Se calentó la leche líquida UHT hasta 32°C por 10 min, se agregó la leche en polvo, se agitó la mezcla a 300 rpm y se incrementó la temperatura hasta 36°C para adicionar el edulcorante. Se añadió la pectina, la carboximetilcelulosa (CMC) y el benzoato de sodio y se calentó a 90°C durante 5 min. Se dejó enfriar hasta 45°C y se incorporó el cultivo liofilizado, se dejó incubar en un baño termostático a 42°C por 6 h, y se refrigeró a 4°C durante 24h. Se agregó la jalea y se almacenó en recipientes de vidrio en refrigeración hasta su análisis.

#### Diseño experimental

Se realizó un diseño experimental 2<sup>2</sup> evaluando el tipo de edulcorante (azúcar blanca y stevia) y la cantidad de jalea de pitahaya (15%p/p y 30%p/p) obteniendo así 4 yogures (Tabla I). La variación en la jalea se determinó a partir de la “Norma para las confituras, jaleas y mermeladas, Cxs 296-2009” (CODEX, 2020). La dosis de los aditivos se estableció de acuerdo con la norma general para los Aditivos alimentarios (CODEX, 2019) y se consideró la norma NTC 805 (ICONTEC, 2006) para identificar el porcentaje de leche entera a emplear. Con el fin de comparar los yogures formulados con un producto comercial, se escogió como muestra control el yogur Actigest pitahaya amarilla (Alquería). Todas las mediciones se hicieron por triplicado.

**Tabla I.** Diseño experimental efectuado

Muestra	Tipo de edulcorante	%p/p Jalea en el yogur	%p/p edulcorante	%p/p Leche en polvo	%p/p Cultivo láctico	%p/p Pectina	%p/p CMC	%p/p Benzoato de sodio	%p/p Leche líquida
1	Azúcar	15	8	5.4	1.00	0.25	0.08	0.03	70.24
2		30	8	5.4	1.00	0.25	0.08	0.03	55.24
3	Stevia	15	0.03	5.4	1.00	0.25	0.08	0.03	78.21
4		30	0.03	5.4	1.00	0.25	0.08	0.03	63.21

#### Caracterización fisicoquímica

**Color:** se utilizó un colorímetro CR-20 (Konica Minolta) con iluminante D65 y observador estándar 10° para la determinación de L\* (luminosidad), a\* (enrojecimiento), b\* (amarillez) de acuerdo al espacio de color CIELAB (Santillán & Vélez, 2019). Las mediciones se hicieron a temperatura ambiente. Se calculó el tono y el croma y la diferencia global de color con respecto al control (Amaya Ortiz, 2016).

**Acidez titulable:** se determinó de acuerdo a la metodología 962.12/90 de la AOAC, 3 días después de elaborados los yogures y almacenados a 4°C (AOAC International, 1990). Los resultados se expresaron como porcentaje de ácido láctico.

**pH:** se determinó de acuerdo a la metodología 945.27/90 de la AOAC, 3 días después de elaborados los yogures y almacenados a 4°C (AOAC International, 1990) utilizando un multiparámetro (Mettler Toledo).

**Sólidos solubles (°Brix):** se determinaron mediante un refractómetro digital (PAL-BX/R1, Atago) a 11°C.

**Sinéresis:** se determinó siguiendo la metodología de Charoenrein *et al.*, (2008) empleando un centrífuga (Thermo Scientific) a 4500 rpm y 11°C durante 15 min. El porcentaje de sinéresis se calculó a partir del peso del sobrenadante.

**Textura:** se utilizó la prueba Back extrusión en un texturómetro (TA.HD plusC Stable) para determinar la firmeza, consistencia, cohesividad e índice de viscosidad (Li *et al.*, 2021). Se utilizó un disco de 35mm de diámetro, velocidad de 2.0 mm/s y distancia de penetración de 25mm (Trujillo Daza, 2020).

**Caracterización reológica:** Se utilizó un reómetro rotacional (TA Instruments AGR2) con geometría de discos paralelos de 35 mm de diámetro, gap de 1mm y a 11°C (Trujillo Daza, 2020). El comportamiento al flujo se evaluó entre 0.1s<sup>-1</sup> y 100 s<sup>-1</sup>. Los datos obtenidos se ajustaron a la Ley de Potencia (Ostwald-de Waele).

*Análisis sensorial del yogur desarrollado*

El análisis sensorial se realizó en las instalaciones de la Universidad de los Andes y fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Ingeniería. Los yogures se presentaron en copas blancas de 20 mL a 11°C identificadas con un código de 3 dígitos. Se presentaron de uno en uno aleatoriamente. Se entregó agua y galletas de soda entre muestras. Los participantes diligenciaron una encuesta anónima en Google Forms con preguntas enfocadas en la recolección de información sobre el grupo (Tabla II). La encuesta incluyó una prueba de aceptabilidad con escala hedónica de siete puntos (7: me gusta muchísimo, 1: me disgusta muchísimo) y preguntas tipo CATA (Check All That Apply) con 14 atributos. Para esta parte se dio la siguiente instrucción a los participantes: "¿Cuál de las siguientes características describe mejor esta muestra? Por favor, marque todas las que crea que aplican. Si lo desea, puede volver a probar la muestra". Los atributos fueron seleccionados a partir de revisión de literatura (Ares & Jaeger, 2015).

**Tabla II.** Características generales del panel y sus preferencias en cuanto al consumo de yogur.

Sexo		Frecuencia de consumo de yogur					Tipo de yogur consumido			
M <sup>1</sup>	F <sup>1</sup>	D <sup>2</sup>	S <sup>2</sup>	M <sup>2</sup>	E <sup>2</sup>	N <sup>2</sup>	F <sup>3</sup>	G <sup>3</sup>	N <sup>3</sup>	L <sup>3</sup>
33%	67%	9%	51%	16%	22%	2%	47%	49%	33%	33%

<sup>1</sup>Masculino, Femenino

<sup>2</sup>Diario, Semanal, Mensual, Esporádicamente, Nunca

<sup>3</sup>Frutas, Griego, Natural, Líquido

**Análisis estadístico**

**-Propiedades fisicoquímicas y test de aceptabilidad:** Se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA) con un nivel de significancia  $\alpha=0.05$  y el test de Fisher de comparación de medias en el programa Minitab 18.

**-Preguntas tipo CATA:** La prueba Chi-cuadrado (P<0.05) se empleó para determinar si existieron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras. Se implementó un análisis múltiple factorial (MFA) para discriminar cada atributo con cada una de las muestras estudiadas y la prueba Q de Cochran con el fin de determinar diferencias estadísticamente significativas en cada atributo evaluado, mediante la herramienta XLSTAT 2021.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Características fisicoquímicas del yogur**

*Color*

Los resultados muestran que en los yogures predominaron los colores blanco, rojo y amarillo (Tabla III). La cantidad de jalea produjo una disminución significativa del tono (h<sub>ab</sub>) de los yogures. En comparación



con el control, los yogures tuvieron menor luminosidad, mayor enrojecimiento y mayor amarillez. Según los cambios netos de color ( $\Delta E$ ), la muestra 3 (M3) fue la más cercana al control. El tipo de endulzante no afectó el color de los yogures. Resultados similares obtuvieron Ruiz & Avella (2017) quienes encontraron que la adición de stevia en la elaboración de yogur no influyó significativamente el color.

**Tabla III.** Propiedades fisicoquímicas de los yogures evaluados y el control

Muestra	Color						Acidez Titulable (%)	pH	°Brix	Sinéresis (%)
	L*	a*	b*	$\Delta E$	C <sub>ab</sub> *	h <sub>ab</sub> (°)				
Control	85.5 (0.4)	1.1 (0.1)	14.4 (0.3)	0.0 (0.0)	14.5 (0.3)	85.5 (0.4)	0.8 (0.01)	4.4 (0.01)	11.4 <sup>a</sup> (0.2)	64.88 <sup>a</sup> (1.30)
1	73.1 <sup>c</sup> (0.1)	1.2 <sup>c</sup> (0.1)	14.8 <sup>c</sup> (0.1)	12.3 <sup>ab</sup> (0.3)	14.8 <sup>c</sup> (0.1)	85.2 <sup>a</sup> (0.2)	0.6 <sup>a</sup> (0.01)	4.4 <sup>d</sup> (0.02)	27.8 <sup>b</sup> (0.1)	71.59 <sup>c</sup> (1.25)
2	72.1 <sup>d</sup> (0.1)	2.7 <sup>b</sup> (0.2)	15.6 <sup>b</sup> (0.3)	13.5 <sup>a</sup> (0.3)	15.8 <sup>b</sup> (0.3)	80.1 <sup>c</sup> (0.6)	0.6 <sup>a</sup> (0.03)	5.4 <sup>a</sup> (0.01)	33.6 <sup>c</sup> (1.6)	80.32 <sup>b</sup> (0.78)
3	80.0 <sup>a</sup> (0.1)	0.8 <sup>d</sup> (0.0)	13.7 <sup>d</sup> (0.1)	6.2 <sup>c</sup> (1.7)	13.8 <sup>d</sup> (0.1)	86.7 <sup>b</sup> (0.02)	0.7 <sup>a</sup> (0.14)	5.2 <sup>b</sup> (0.01)	24.5 <sup>d</sup> (1.3)	72.98 <sup>c</sup> (0.15)
4	74.5 <sup>b</sup> (0.5)	3.0 <sup>a</sup> (0.1)	18.1 <sup>a</sup> (0.1)	10.1 <sup>b</sup> (2.3)	18.4 <sup>a</sup> (0.1)	80.5 <sup>c</sup> (0.2)	0.6 <sup>a</sup> (0.01)	4.6 <sup>c</sup> (0.01)	22.6 <sup>e</sup> (0.3)	80.55 <sup>b</sup> (0.94)

Los valores dentro de una columna con letras diferentes son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ) de acuerdo con el test de Fisher. Los valores entre paréntesis son las desviaciones estándar.

#### Acidez Titulable y pH

Los yogures presentaron un pH entre 4.4 y 5.4 y una acidez entre 0.6% y 0.7% (Tabla III). El análisis estadístico reveló que sí hubo diferencias significativas en el pH. Por otro lado, dado que la cantidad y el tipo de cultivo empleado fueron los mismos, la acidez fue similar para todos los yogures (Carranza Sierra, 2019). Por lo general, en productos lácteos fermentados, el proceso termina cuando se logra un pH entre 3.9 y 4.6 o cuando se alcanza un valor de alrededor de 0.75 y 1.2% de acidez, expresada como porcentaje de ácido láctico (Baglio, 2014). Sin embargo, la postacidificación se considera un proceso indeseable en yogures porque disminuye la vida útil y causa algunos defectos, como la acidez severa y la sinéresis.

Asimismo, se sabe que el pH del medio propicia el crecimiento de bacterias que no resultan beneficiosas en el cuerpo humano. Para garantizar la calidad del producto existen diferentes regulaciones, como la NTC 805 del Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC) que establecen que el mínimo porcentaje de acidez titulable, expresado como ácido láctico, en las leches fermentadas debe ser 0.6 % independientemente del tipo de leche empleada. Los resultados muestran (Tabla III) que los yogures formulados cumplen con la legislación vigente.

#### Sólidos solubles totales (SST)

Los resultados muestran que los yogures elaborados con azúcar (M1 y M2) presentaron mayor cantidad de SST (Tabla III). Hernández & Salazar (2017) reportan SST de 17.78 °Brix y 17.89 °Brix para sus yogures con 16% y 18% de concentración de pitaya respectivamente, mientras que los yogures de la presente investigación oscilan entre 22.6 y 33.6°Brix. Dicho comportamiento podría estar relacionado con los subproductos utilizados en la elaboración de los yogures. Hernández & Salazar (2017) no usaron pectina; mientras que en el presente estudio se utilizó 0.25% p/p. Además, la adición de cáscara implica la presencia de más pectina, aumentando los SST.

*Sinéresis*

Los yogures M2 y M4 presentaron una sinéresis significativamente mayor ( $P < 0.05$ , Tabla III) indicando que la cantidad de jalea de pitahaya influyó en esta propiedad. Zainoldin & Baba (2009) establecen que un mayor porcentaje de fruta en la formulación del yogur ocasiona un porcentaje de sinéresis mayor debido a la cantidad de agua adicionada por la pulpa de fruta, lo cual puede disminuir la capacidad de retención de agua. Lo anterior podría explicar por qué estos presentaron una mayor sinéresis.

*Textura*

El análisis textural (Tabla IV), indicó que el yogur M4 presentó la mayor firmeza y consistencia; mientras que el yogur M3 tuvo la mayor cohesividad e índice de viscosidad. A partir del análisis estadístico se pudo determinar que sí hubo efecto significativo ( $P < 0.05$ ) de los factores en los parámetros de textura sobre los yogures. Así, se evidenció mayor firmeza y consistencia en las formulaciones que contenían stevia y en las que presentaban 30% de jalea. Asimismo, otros parámetros como los sólidos solubles, el pH los espesantes y estabilizantes, pudieron afectar la textura adquirida en los mismos, teniendo en cuenta lo encontrado en diversos estudios (Trujillo Daza, 2020; Carranza Sierra, 2019; Gawai et al., 2017).

**Tabla IV.** Parámetros de textura de los yogures evaluados y el control

Muestra	Firmeza (g)	Consistencia (g·seg)	Cohesividad (g)	Índice de viscosidad (g·seg)
Control	38.6 (<0.01)	447.8 (<0.01)	-22.2 (<0.01)	-193.9 (<0.01)
1	19.0 <sup>c</sup> (2.2)	100.8 <sup>c</sup> (10.4)	-12.4 <sup>a</sup> (1.7)	-2.9 <sup>a</sup> (1.5)
2	24.5 <sup>b</sup> (2.1)	124.8 <sup>b</sup> (7.4)	-18.1 <sup>b</sup> (1.5)	-6.4 <sup>b</sup> (1.6)
3	26.5 <sup>b</sup> (2.6)	136.1 <sup>b</sup> (13.4)	-20.9 <sup>b</sup> (1.8)	-9.5 <sup>c</sup> (1.4)
4	33.0 <sup>a</sup> (2.0)	162.5 <sup>a</sup> (10.2)	-20.5 <sup>b</sup> (0.9)	-7.7 <sup>bc</sup> (1.5)

Los valores dentro de una columna con letras diferentes son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ) de acuerdo con la prueba de Fisher. Los valores entre paréntesis son las desviaciones estándar.

La pulpa y el polvo de semillas y cáscara incrementan los parámetros de textura principalmente por el contenido de pectina y el aporte de sólidos solubles. De acuerdo con lo reportado por Prajapati *et al.* (2016), el yogur con un aumento de los sólidos solubles tiene un mayor contenido de proteínas y esto provoca un aumento del número de interacciones entre ellas incrementando la firmeza. Asimismo, la disminución del contenido de proteínas en el yogur disminuye las interacciones caseína-caseína y caseína-suero, lo cual reduce su firmeza. Al comparar los resultados, se pudo establecer una acentuada diferencia entre los parámetros texturales de las muestras elaboradas con respecto al control, principalmente en el índice de viscosidad.

*Reología*

Los resultados para las propiedades de comportamiento al flujo (Tabla V) evidencian que todos los yogures elaborados fueron más viscosos que el control. Las muestras M1, M2 y M4 presentaron mayor viscosidad que M3 debido a que la concentración de azúcar disminuye la disponibilidad de agua libre el alimento, y con ello la posibilidad de formación de puentes de hidrógeno en su estructura interna causando mayor resistencia al flujo. El ajuste a la ley de la potencia muestra que todos los yogures presentaron índices de flujo menores a 1 característicos de un comportamiento pseudoplástico típico de este tipo de producto (Clark *et al.*, 2019). El índice de consistencia se vio afectado ( $P < 0.05$ ) por la cantidad de jalea obteniéndose valores mayores en formulaciones con 30% jalea.

**Tabla V.** Análisis reológico y ajuste de parámetros al modelo de la Ley de Potencia (Ostwald-de Waele).

Muestra	$\eta$ [Pa·s] *	n	k [Pa·s <sup>n</sup> ]	R <sup>2</sup> **
Control	0.91 (0.04)	0.95 (0.04)	1.40 (0.13)	0.924 (0.02)
1	1.27 (0.06)	0.78 (0.03)	1.76 (0.10)	0.746 (0.03)
2	1.95 (0.08)	0.74 (0.04)	3.53 (0.22)	0.822 (0.08)
3	1.08 (0.03)	0.80 (0.02)	2.03 (0.12)	0.866 (0.02)
4	2.55 (0.05)	0.61 (0.05)	6.33 (0.77)	0.763 (0.02)

Los valores entre paréntesis son las desviaciones estándar.

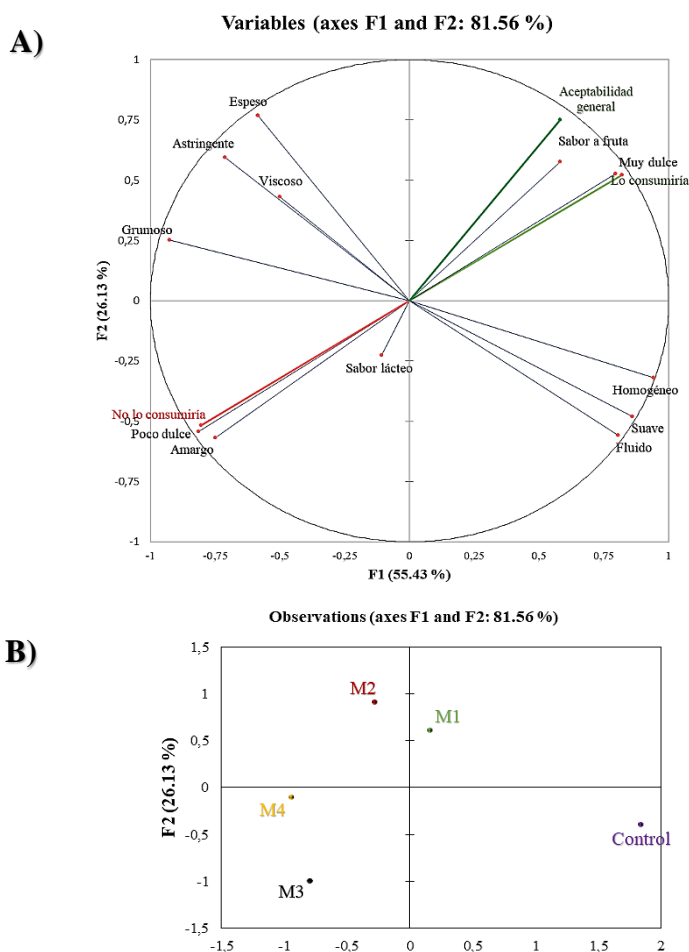
\* Los valores de viscosidad reportados se obtuvieron para una velocidad de cizalla igual a 10 s<sup>-1</sup>.

\*\* R<sup>2</sup> es el estadístico de la regresión lineal o coeficiente de correlación múltiple.

### Análisis sensorial del yogur

#### Preguntas tipo CATA

Los primeros dos factores del mapa de atributos (Fig. 1) permitieron explicar el 81.56% de varianza presentada en los datos (55.43% y 26.13% respectivamente).



**Figura 1.** A) Mapa de atributos del cuestionario tipo CATA, y B) Representación de las 5 muestras de yogur, en las dos primeras dimensiones del Análisis Factorial Múltiple (AFM) de los recuentos CATA. M1 y M2: Yogures con azúcar común, con 15% y 30% de jalea, respectivamente; M3 y M4: Yogures con stevia, con 15% y 30% de jalea, respectivamente; Control: Muestra control.

La mayoría de los atributos estuvieron bien representados en el espacio perceptivo definido por los dos primeros factores del MFA. Asimismo, la prueba Chi-cuadrado indicó diferencias estadísticamente significativas entre los yogures ( $P < 0.0001$ ). La Fig. 1A muestra que los atributos *sabor a fruta* y *muy dulce* estuvieron asociados con la Aceptabilidad general, mientras que los atributos *poco dulce* y *amargo* generaron rechazo en los consumidores (en línea con el atributo *no lo consumiría*). Los atributos *grumoso*, *astringente*, *espeso*, *viscoso*, *homogéneo*, *suave* y *fluido* no parecen ser un factor de decisión de rechazo o aceptación entre los consumidores.

El mapa de las muestras (Fig. 1B) establece que los yogures fueron bien discriminados basado en las preguntas tipo CATA. En esta representación se visualiza cómo los yogures se agruparon de acuerdo al tipo de edulcorante, (M1 y M2 endulzadas con azúcar, M3 y M4 endulzadas con stevia). El yogur control fue percibido como *homogéneo*, *suave* y *fluido*, lo cual puede atribuirse a que esta muestra no contiene semillas, ni cáscara. Los yogures M1 y M2 se asociaron con el atributo *muy dulce* debido a que se usó azúcar común en su formulación; mientras que las muestras M3 y M4 se asociaron con el atributo *amargo* debido a la adición de stevia. La muestra M4 se asoció con el atributo *grumoso*, lo cual se debe al mayor contenido de jalea (30% p/p).

La prueba Q de Cochran permitió identificar diferencias significativas para cada atributo evaluado en las preguntas tipo CATA. Los resultados (Tabla VI) muestran que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0.05$ ) para el término *astringente*, lo cual indica que las muestras fueron bien discriminadas para la mayoría de los atributos.

**Tabla VI.** Frecuencia de selección de los términos CATA y prueba Q de Cochran ( $P < 0.05$ ) para los 5 yogures.

<b>Términos CATA</b>	<b>Control</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>	<b>M3</b>	<b>M4</b>	<b>Q</b>
Sabor a fruta	32	26	27	8	27	<b>0.000</b>
Muy dulce	49	29	39	0	12	<b>&lt;0.0001</b>
Poco dulce	4	21	12	49	40	<b>&lt;0.0001</b>
Sabor lácteo	45	35	47	44	46	<b>0.016</b>
Astringente	0	6	13	6	8	0.183
Amargo	0	0	4	11	6	<b>0.003</b>
Suave	51	22	17	29	13	<b>0.017</b>
Viscoso	3	20	31	23	0	<b>&lt;0.0001</b>
Homogéneo	41	12	0	7	2	<b>0.000</b>
Espeso	5	47	51	16	50	<b>&lt;0.0001</b>
Fluido	49	0	0	17	0	<b>&lt;0.0001</b>
Grumoso	0	30	37	31	53	<b>&lt;0.0001</b>
Lo consumiría	42	37	37	14	10	<b>&lt;0.0001</b>
No lo consumiría	12	17	18	41	45	<b>&lt;0.0001</b>

Los términos resaltados en negrilla corresponden a aquellos para los cuales se identificaron diferencias significativas entre las muestras, estos fueron identificados de acuerdo con la prueba Q de Cochran ( $P < 0.05$ ).

Los resultados muestran que pese a que las muestras M1 y M3 contuvieron la misma cantidad de jalea de pitahaya (15% p/p), los consumidores percibieron más este atributo en el yogur M1, indicando que el azúcar potencia el sabor de la fruta. Por otro lado, las muestras M1, M2 y M4 fueron percibidas por los consumidores como espesas, debido a su bajo contenido de leche con respecto a la muestra M3. Las muestras M3 y M4 fueron percibidas como amargas debido al uso de stevia. Por otro lado, el atributo *suave* fue percibido en las muestras M1 y M3 debido a que estas se elaboraron con 15% p/p de jalea de pitahaya siendo la cantidad de pitahaya un factor decisivo en este atributo debido a los subproductos presentes en esta (polvo de semillas y cáscara). Los resultados sugieren que las muestras elaboradas usando azúcar común tuvieron una mejor aceptabilidad sensorial comparadas con las muestras con stevia. Además, las muestras M1 y M2 demostraron tener potencial para competir en el mercado, pues los encuestados indicaron que las consumirían casi en la misma medida en que lo harían con la muestra control (yogur comercial).

#### *Prueba de aceptabilidad*

Para los 5 yogures, la aceptabilidad global varió entre 3.8 y 5.4 (Tabla VII). La aceptabilidad en apariencia, color, aroma y consistencia estuvo directamente relacionada con la aceptabilidad global por lo que se infiere que las muestras que más gustaron de forma general también gustaron en el resto de categorías. No sucedió lo mismo con el sabor donde el yogur control fue el mejor calificado. No obstante, obtuvo el menor puntaje en el aroma indicando que los consumidores lo tienen muy en cuenta, incluso más que el sabor, para determinar qué tanto les gusta un alimento de forma global.

**Tabla VII.** Puntuaciones para aceptabilidad global, apariencia, color, aroma, consistencia y sabor de los yogures evaluados y el control

	Aceptabilidad global	Apariencia	Color	Aroma	Consistencia	Sabor
Control	5.0 <sup>b</sup> (1.2)	6.2 <sup>c</sup> (0.9)	5.6 <sup>b</sup> (1.1)	4.9 <sup>d</sup> (1.4)	4.2 <sup>a</sup> (1.2)	5.0 <sup>c</sup> (1.2)
M1	5.4 <sup>a</sup> (0.9)	5.8 <sup>a,b</sup> (1.2)	6.3 <sup>a</sup> (1.1)	6.4 <sup>a</sup> (0.9)	4.5 <sup>a</sup> (1.4)	4.2 <sup>a</sup> (1.2)
M2	5.2 <sup>a,b</sup> (0.8)	6.0 <sup>c,a</sup> (1.2)	6.0 <sup>a</sup> (0.9)	6.1 <sup>a,b</sup> (1.1)	4.5 <sup>a</sup> (1.0)	4.5 <sup>a</sup> (1.1)
M3	3.8 <sup>c</sup> (1.0)	5.5 <sup>b</sup> (0.7)	5.0 <sup>c</sup> (1.1)	5.8 <sup>b,c</sup> (1.1)	2.6 <sup>b</sup> (1.1)	3.2 <sup>b</sup> (1.5)
M4	3.8 <sup>c</sup> (1.0)	6.0 <sup>c,a</sup> (0.9)	5.3 <sup>b,c</sup> (0.9)	5.6 <sup>c</sup> (0.8)	2.8 <sup>b</sup> (1.2)	3.5 <sup>b</sup> (1.5)

Los valores dentro de una columna con diferentes letras son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ) de acuerdo con la prueba de Fisher.

Valores entre paréntesis son la desviación estándar.

Los yogures M3 y M4 tuvieron el puntaje significativamente más bajo ( $P < 0.05$ ) en su aceptabilidad global, su consistencia, su color y su sabor, indicando que estas muestras fueron las menos aceptadas por los consumidores a nivel general. Esto pudo deberse principalmente a que fueron asociadas con atributos como *poco dulces* (Tabla VI), estableciendo la tendencia de los consumidores hacia opciones más dulces, como M1 y M2.

## CONCLUSIÓN

Los resultados evidenciaron que la proporción de jalea fue un factor estadísticamente significativo sobre los parámetros fisicoquímicos de los yogures. Paralelamente, se encontró que el tipo de edulcorante afectó principalmente en las propiedades sensoriales. Al respecto, se observó los yogures desarrollados presentaron gran aceptabilidad global, en especial las formulaciones 1 y 2 elaboradas con azúcar en cuanto a sabor y las formulaciones 1 y 3 en cuanto a textura. Así, el uso de menores cantidades de jalea y el uso de azúcar como edulcorante se constituyen como los ingredientes de mayor interés para la formulación de un producto aceptable sensorialmente para el consumidor.

## BIBLIOGRAFÍA

- Amaya Ortiz, Á. M. (2016). *Elaboración de una bebida láctea fermentada enriquecida naturalmente con ácidos grasos esenciales* [Universidad Nacional de Colombia]. <http://www.bdigital.unal.edu.co/52991/1/angelamarlenamayaortiz.2016.pdf>
- AOAC International. (1990). AOAC: Official Methods of Analysis. *Chemical and Functional Properties of Food Saccharides*, 1(Volume 1), 73–80. <https://doi.org/10.7312/seir17116-004>
- Ares, G., & Jaeger, S. R. (2015). 11-Check-all-that-apply (CATA) questions with consumers in practice: Experimental considerations and impact on outcome. In *Rapid Sensory Profiling Techniques and Related Methods: Applications in New Product Development and Consumer Research* (pp. 227–245). Woodhead Publishing Series. <https://doi.org/10.1533/9781782422587.2.227>
- Baglio, E. (2014). The Modern Yoghurt: Introduction to Fermentative Processes. In *Chemistry and Technology of Yoghurt Fermentation* (pp. 1–23). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-07377-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-07377-4_1)
- Carranza Sierra, M. A. (2019). *Evaluación de la efectividad de diferentes cultivos de microorganismos para la reducción de lactosa en el yogur*. <https://repositorio.uniandes.edu.co/handle/1992/45381>
- Charoenrein, S., Tatirat, O., & Muadklay, J. (2008). Use of centrifugation-filtration for determination of

- syneresis in freeze-thaw starch gels. *Carbohydrate Polymers*, 73, 143–147. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.11.012>
- Clark, S., Michael, M., & Schmidt, K. A. (2019). Rheological Properties of Yogurt: Effects of Ingredients, Processing and Handling. In *Rheology of Semisolid Foods* (pp. 203–229). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-27134-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-030-27134-3_7)
- CODEX. (2019). *Codex Alimentarius. Norma General Para Los Aditivos Alimentarios Codex Stan 192-1995*. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-1995>
- CODEX. (2020). *Codex Alimentarius. Norma Para Las Confituras, Jaleas y Mermerladas CXS 296-2009*. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-2009>
- Cueva Castillo, O. A. (2003). *Elaboración de yogur firme sabor fresca*. Zamorano.
- FAO. (2019). *Alimentación: pasando de pérdidas a soluciones*. <http://www.fao.org/colombia/noticias/detail-events/en/c/1238132/>
- Freitas, M. (2017). The Benefits of Yogurt, Cultures, and Fermentation. In *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology: Implications for Human Health, Prebiotics, Probiotics, and Dysbiosis*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804024-9.00024-0>
- Gawai, K. M., Mudgal, S. P., & Prajapati, J. B. (2017). Chapter 3. Stabilizers, colorants, and exopolysaccharides in yogurt. In *Yogurt in Health and Disease Prevention* (pp. 49–68). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805134-4.00003-1>
- Hernández, G. y, & Salazar, M. (2017). *Efecto de las betalainas y fenoles solubles totales de pitahaya (Hylocereus polyrhizus) como antioxidantes en yogur* [Universidad Zamorano]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6060/1/AGI-2017-029.pdf>
- ICA. (2019). *Pitahaya amarilla colombiana, admitida en el mercado argentino*. <https://www.ica.gov.co/noticias/pitahaya-colombiana-admitida-argentina>
- ICONTEC. (2006). *NTC-805 Productos Lácteos. Leches Fermentadas*. [file:///C:/Users/PROBOOK/Downloads/NORMA\\_TECNICA\\_NTC\\_COLOMBIANA\\_805.pdf](file:///C:/Users/PROBOOK/Downloads/NORMA_TECNICA_NTC_COLOMBIANA_805.pdf)
- Li, H., Liu, T., Zou, X., Yang, C., Li, H., Cui, W., & Yu, J. (2021). Utilization of thermal-denatured whey protein isolate-milk fat emulsion gel microparticles as stabilizers and fat replacers in low-fat yogurt. *Lwt-Food Science and Technology*, 150(112045). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112045>
- Muñoz Ureña, H. A. (2021). *Avances legislativos sobre prevención y reducción de pérdidas y desperdicios de alimentos en América Latina y el Caribe*. FAO Estudio Legislativo N° 116. Roma, FAO. <https://www.fao.org/3/cb2889es/cb2889es.pdf>
- Perfetti, J. J., Balcazar, Á., Hernández, A., & Leibovich, J. (2013). *Políticas para el desarrollo de la agricultura en Colombia* (1st ed.). Fedesarrollo, Sociedad de Agricultores de Colombia (SAC). <https://www.repository.fedesarrollo.org.co/handle/11445/61>
- Prajapati, M. D., Shrigod, M. N., Prajapati, J. R., & Pandit, D. P. (2016). Textural and Rheological Properties of Yoghurt : A Review. *Advances in Life Sciences*, 5(13), 5238–5354.
- Ruiz Güiza, J. P., & Heredia Avella, M. (2017). *Evaluación del efecto sobre la vida útil del uso de Stevia rebaudiana bertonii como edulcorante en una bebida a base de avena*. 1–81. [https://ciencia.lasalle.edu.co/ing\\_alimentos/80/](https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/80/)
- Santillán, E., & Vélez, J. F. . (2019). Evaluación de propiedades fisicoquímicas y físicas de dos alimentos lácteos ( yogur y queso ) enriquecidos con nanopartículas de Ca , Fe y Zn Resumen Introducción. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales.*, 5(2), 108–115.
- Torres Grisales, Y., Melo Sabogal, D. V., Torres-Valenzuela, L. S., Serna-Jimé Nez, J. A., & Sanín Villarreal, A. (2017). Evaluation of bioactive compounds with functional interest from yellow pitahaya (Selenicereus megalanthus haw). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 70(3), 8311–8318. <https://doi.org/10.15446/rfna.v70n3.66330>
- Trujillo Daza, L. T. (2020). *Diseño de un producto lácteo (yogur) con disminución en la concentración de azúcar a partir de una aproximación multiescala*. <https://repositorio.uniandes.edu.co/handle/1992/43796>
- Verona Ruiz, A., Urcia Cerna, J., & Paucar Menacho, L. M. (2020). Pitahaya (Hylocereus spp.): Culture,

physicochemical characteristics, nutritional composition, and bioactive compounds. *Scientia Agropecuaria*, 11(3), 439–453. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.16>

Zainoldin, K.H, & Baba, A. S. (2009). The Effect Of *Hylocereus Polyrhizus* And *Hylocereus Undatus* On Physicochemical, Proteolysis, And Antioxidant Activity In Yogurt. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 60, 361–366.

## Estudio de la composición química de semillas de Apote negro

F.A. Palacios-Pérez<sup>1</sup> y S. Luna-Suárez\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada CIBA-IPN, Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Santa Inés Tecuexcomac-Tepetitla km 1.5, 90700, Tepetitla, Tlaxcala, México. \*[silvials2004@yahoo.com.mx](mailto:silvials2004@yahoo.com.mx)

### RESUMEN

Las semillas de la fruta endémica de México Zapote negro fueron analizadas con el fin de obtener información sobre su composición nutricional. El objetivo de este estudio fue determinar el análisis proximal de las semillas de Zapote Negro. Se encontró que el 10% del fruto corresponde a semillas. Se preparó harina moliendo las semillas secas y el análisis abarcó seis factores proximales: humedad, proteína, grasa, cenizas, fibra cruda por los métodos de la AOAC (Association of Official Analytical Chemists) y los carbohidratos se obtuvieron por diferencia. Las semillas del zapote negro mostraron una composición interesante, sus componentes mayoritarios fueron: proteína (12.36%), fibra cruda (47.27%) y carbohidratos (21.93%), así las semillas tienen el potencial de utilizarse como algún complemento en procesos alimentarios por sus componentes.

**Palabras clave:** Composición, zapote, análisis proximal.

### ABSTRACT

The seeds of the Mexican endemic fruit black sapote were analyzed to acquire information on their nutritional composition. The aim of this study was to determine the proximate analysis of sapote negro seeds. The flour was prepared by grinding dry seeds and the analysis covered six proximate factors: moisture, protein, fat, ash, crude fiber by the AOAC (Association of Official Analytical Chemists) method, and carbohydrates by calculation. The black sapote seeds showed an interesting composition, their main components were: protein (12.36%), crude fiber (47.27%) and carbohydrates (21.93%), so the seeds have the potential to be used as some complement in food processes for its components.



## INTRODUCCIÓN

La FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) reportó que entre un tercio y un cuarto de los alimentos producidos en el año para consumo humano se desperdicia, es decir, 1,300 millones de toneladas de alimentos, que entre el 40 y 50% corresponde a raíces, frutas, hortalizas y semillas (Benítez, 2017). La ubicación geográfica de México permite que pueda producir durante todo el año una gran variedad de frutas y hortalizas, muchas de estas frutas son de interés e importancia para el consumo, contribuyendo en fortalecer la economía del país. En la región se identifican algunas zonas tropicales y con gran variedad de frutas exóticas que no son aprovechadas por el poco conocimiento de su existencia, estas frutas son parte del porcentaje de desperdicios. Estos desechos contienen macronutrientes y compuestos bioactivos que pueden ser de interés para la industria alimentaria, farmacéutica y biotecnológica. Conscientes de esta problemática, investigadores han estudiado la composición química y las posibles aplicaciones que representen un beneficio a la sociedad. Una alternativa es la investigación y aprovechamiento de subproductos de las frutas exóticas como la cáscara y semillas, materia prima de bajo costo, que se perfilan como una fuente potencial de nutrientes y compuestos biológicos, con el fin de otorgarles un valor agregado (De Lourdes *et al.*, 2019).

La fruta tropical zapote negro tiene la siguiente composición química por cada 100 g de muestra: 79.46 g humedad, 0.62 g proteína, 12.85 g carbohidratos, 0.01 g lípidos y 0.37 g cenizas (Morton, 1987). En un estudio realizado por Corral-Aguayo y colaboradores (2008) informaron que el contenido de vitamina C en el fruto es cuatro veces más que una naranja, la más alta entre 8 frutas. De igual manera, en otro estudio se realizó una identificación y cuantificación de algunos fitoquímicos como carotenoides, fenólicos y vitamina E (Yahia *et al.*, 2011). El zapote negro es originario del sur de México y Centroamérica, es una baya globosa, en la madurez fisiológica el epicarpio es color verde y su mesocarpio color negro, autóctona del sur de México y Centroamérica que pertenece a la familia *Ebenaceae*. Es climatérico y percedero, es una baya dulce y suave, con semillas gruesas, negras, aplanadas, brillosas y algunas se encuentran envueltas por una membrana viscosa, contiene hasta 8 semillas por fruto, sin embargo, hay frutas que no contienen semillas. Los frutos se encuentran entre agosto y enero, se consumen en estado fresco y es utilizado en industrias de repostería y elaboración de conservas (Miller *et al.*, 1998) por sus propiedades tecnofuncionales. Las semillas de esta fruta se desechan. En base a esto, el zapote negro al ser una fruta exótica, existe escasa o nula información, por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es evaluar la composición química de las semillas del fruto zapote negro.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Preparación de las muestras

Se utilizaron frutos de zapote negro que se colectaron en Tlaquiltepec, Guerrero.

Se hizo el análisis ponderal para determinar el porcentaje de semillas presentes en los frutos, para esto se tomaron diferentes lotes de alrededor de 2kg de frutos maduros, se separaron las semillas de los frutos y se pesaron. Las semillas fueron enjuagadas con agua potable, y se dejaron secar a temperatura ambiente (32-34°C) por 3 días. La harina se preparó limpiando las semillas, eliminando las impurezas y se pulverizaron en un molino de martillos.

### Determinación de la composición proximal

Se utilizaron los procedimientos estándar de AOAC (Association of Analytical Communities) utilizando la harina (AOAC, 1984). La determinación del contenido de proteínas se realizó en base al método de cuantificación de nitrógeno por Kjeldahl (método 954.01), multiplicando por el factor 6.25. El análisis de grasas (método 920.39) se realizó utilizando el equipo Soxhlet y como solvente hexano. La determinación de cenizas (método 923.03) se efectuó en una mufla a una temperatura de 600°C por 24 horas. En el análisis de fibra cruda (método 962.09) se utilizó un tratamiento ácido y alcalino. La determinación del porcentaje de humedad (método 925.09) se llevó a cabo utilizando un horno a 100°C

y un desecador. Finalmente, se determinó el contenido de carbohidratos por diferencia. Todas las evaluaciones se realizaron por triplicado, determinó la media y la desviación estándar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del análisis ponderal se obtuvo que el  $10.02\% \pm 1.01$  del fruto, corresponde a semillas. Este porcentaje es alto, al compararlo con el 3% de los residuos que se obtienen de jitomate (Maldonado *et al.*, 2020), lo que hace interesante el poder conocer la composición de las semillas para posteriormente tratar de darle un uso.

El resultado del análisis proximal de la harina de las semillas del zapote negro mostró que la proteína ( $12.36\% \pm 0.07$ ), la fibra cruda ( $47.25\% \pm 2.6$ ) y los carbohidratos (21.935) son los componentes mayoritarios presentes en las semillas (Tabla 1). Se compararon con diversas semillas, cereales y leguminosas como: semillas de guayaba (Silvia *et al.*, 2017) semillas del jitomate (Maldonado *et al.*, 2020), cacao (Andrade *et al.*, 2019), cacahuete (Bravo *et al.*, 2018), arroz, frijol, maíz y café (Calero *et al.*, 2016).

**Tabla I.** Composición proximal de las semillas de Zapote Negro (*Diospyros digyna*). Los resultados son las medias de ensayos triplicados,  $\pm$  desviación estándar. \*Resultado obtenido por diferencia.

Componente	(%)
Humedad	$15.79 \pm 0.29$
Proteína	$12.36 \pm 0.07$
Cenizas	$2.31 \pm 0.06$
Lípidos	$0.36 \pm 1.34$
Fibra cruda	$47.25 \pm 2.6$
* Carbohidratos	21.93

El porcentaje de humedad de las semillas del zapote negro es de 15.79% un porcentaje mayor en comparación con las semillas del jitomate (9.93%), cacao (6.03%), cacahuete (4.2%), arroz (12.22%), frijol (12.32%), maíz (10.07%) y café (6.06%).

La cuantificación de humedad es un índice que nos proporciona información de la estabilidad del producto, procesado y conservación del mismo. De igual manera, este componente está relacionado con los cambios de color, grados brix, acidez, pH e índice de madurez, debido a los procesos enzimáticos (Arrazola *et al.*, 2013). Los efectos de la humedad pueden tener repercusiones en el alimento como la viscosidad y elasticidad (Bello, 2000).

Uno de los componentes mayoritarios de las semillas del zapote negro es el porcentaje de proteína con un valor de 12.36% menor al del contenido en semillas del jitomate (26.93%), cacahuete (24.48%), semillas de guayaba (30.49%) y frijol (23.87%). Y se observa una pequeña diferencia entre los niveles de proteína en el maíz (10.07%) y arroz (12.22%), mayor que en el cacao (8.6%) y aproximadamente el doble que en los granos de café (6.06%).

El contenido alto de proteína de un alimento es de importancia por su uso potencial como fuente de proteína o suplemento alimenticio, sin embargo, se necesita constatar los niveles de toxicidad o los factores antinutricionales (Ceballos *et al.*, 2013). La cantidad de proteína de una alimento nos proporciona información acerca del valor nutricional, así como sus posibles propiedades tecnofuncionales como viscosidad, capacidad de retención de agua o aceite, capacidad espumante, solubilidad, capacidad de emulsión y gelificación (Benítez, 2008). Además, las proteínas vegetales presentan propiedades biológicas que ayudan a la prevención de diversas patologías o enfermedades no

transmisibles (Sánchez, 2017). Estas propiedades de las proteínas dependen de la secuencia de aminoácidos que le pueden proporcionar diferentes actividades biológicas como antiinflamatorias, antioxidantes, antimicrobianas y anticancerígenas siendo de gran interés para la industria farmacéutica y médica (Tungmunnithum *et al.*, 2018) (Chalé *et al.*, 2014). Por lo tanto, esto nos puede indicar la posibilidad de que las semillas del zapote negro podrían tener propiedades tecnofuncionales y actividad biológica, sin embargo, no se puede afirmar hasta realizar diferentes experimentos.

El valor correspondiente al porcentaje de ceniza es de 2.31% parecido al del cacahuete (2.15%) y el maíz (2.07%). Las semillas del jitomate (3.92%), frijol (3.41%) y cacao (4.34%) contienen mayor porcentaje de materia inorgánica en comparación con las semillas del zapote negro.

Las cenizas son residuos inorgánicos presentes después de calcinar la materia orgánica, el análisis es un indicador del total de minerales, elementos importantes para el organismo y materia orgánica, las cenizas representan el menos del 5% de la materia seca de los alimentos y son los únicos componentes que no se oxidan en el organismo. Las sales inorgánicas que se pueden presentar son: calcio, potasio, nitrato de sodio, cloruro, fosfato y carbonato. Este valor aunque sea escaso nos brinda información sobre la naturaleza de la muestra, es decir, afirmar si realmente se está analizando el alimento correspondiente (Márquez, 2014).

Los lípidos son los componentes que se encuentran en menor proporción con un valor de 0.36% aproximadamente igual que el arroz (0.4%). Por otra parte, el frijol (1.62%), café (10.03%), las semillas del jitomate (14.02%), semillas de guayaba (17.390%), cacahuete (40.80%) y cacao (50.87%) contienen valores muy elevados en comparación con las semillas del zapote negro.

Los lípidos son componentes esenciales para el organismo y tienen su origen en el reino vegetal y animal. Los lípidos tienen funciones fundamentales para el organismo como energía de reserva, aporte de ácidos grasos esenciales, forman parte de la membrana celular, transporte y absorción de vitaminas, entre otras. Los lípidos se clasifican en simples (grasas, aceites y ceras), compuestos (fosfolípidos cerebrosidos y lipoproteínas) y derivados (hidrocarburos, esteroides, vitaminas y pigmentos). Los lípidos que se encuentran en mayor proporción en los alimentos son las grasas y aceites (triglicéridos), entre ellos los ácidos grasos saturados y poliinsaturados que son ácidos esenciales, debido a que el organismo no puede sintetizarlos y que los obtenemos a través de los alimentos como el ácido linoleico (omega 6) y linolénico (omega 3), estos ácidos tienen beneficios cardiovasculares, modulan el metabolismo, se encuentran involucrados en la síntesis de hormonas, mejoran el sistema inmunológico, etc. (García, 2009). Sin embargo, dependiendo de su grado de saturación en su estructura química pueden tener una acción negativa en el cuerpo humano relacionado a enfermedades crónicas, cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Azcona, 2013).

Por otro lado, los lípidos otorgan propiedades tecnofuncionales a los alimentos como capacidad y estabilidad emulsificante y se emplean en la industria alimentaria para proporcionar características organolépticas como consistencia, textura, color y sabor (Mayer *et al.*, 1986).

El componente que se encuentra en mayor porcentaje en las semillas del zapote negro es la fibra cruda con un valor de 47.25% siendo el producto con mayor contenido de fibra en comparación con las semillas de jitomate (26.99%), semillas de guayaba (20.18%), cacao (4.64%) y cacahuete (11.42%).

La fibra cruda son las sustancias orgánicas no nitrogenadas que no se disuelven en el tracto gastrointestinal por medio de hidrólisis en un medio ácido y/o básico con ayuda de enzimas presentes en el tracto intestinal humano, es decir, son componentes no digeribles presentes en los alimentos. Los principales componentes de la fibra cruda son: celulosa, hemicelulosa y lignina, componentes insolubles. Los componentes solubles comprenden a las pectinas, gomas y mucílagos. Diversos estudios muestran

que algunos componentes de la fibra cruda son beneficiosos para la salud comportándose como prebióticos y probióticos. Igualmente, se ha demostrado que la presencia de cantidades moderadas de fibra cruda en alimentos favorece al sistema digestivo, incrementando la secreción de sales biliares y enzimas que ayudan a la digestibilidad de nutrientes (García, 2008), mejorando el tránsito intestinal, previniendo el estreñimiento y la distensión abdominal (Lafont *et al.*, 2019). El valor de la fibra cruda nos puede brindar información acerca de la actividad biológica. La fibra es el constituyente principal de la pared vegetal y a esta matriz están asociados los compuestos fenólicos. Los polifenoles son metabolitos secundarios que tienen la capacidad de neutralizar radicales por eso se les confiere su actividad antioxidante (Gordo, 2018).

La capacidad de hidratación se encuentra relacionada con la fibra cruda, debido a que los componentes de la fibra cruda (pectina, glucanos y hemicelulosas) interactúan con el agua formando retículos, esto produce soluciones viscosas que atrapan moléculas lipídicas. Esta propiedad está relacionada con las propiedades tecnofuncionales de los alimentos como la capacidad de absorción de agua y capacidad de hinchamiento. De igual manera, la fibra cruda tiene relación con la estabilidad emulsificante, el ácido urónico y compuestos fenólicos que constituyen a la fibra tiene la capacidad de unirse a los ácidos biliares que digieren a las grasas (Vilcanqui & Vílchez, 2017). Finalmente, el porcentaje de carbohidratos es de 21.93% siendo el segundo componente en mayor proporción de las semillas del zapote negro. Este valor tiene similitud con el porcentaje de hidratos de carbono de las semillas de jitomate (26.99%), por debajo se encuentran las semilla de guayaba (14.36%) y cacahuete (12.45%).

Los carbohidratos tienen importancia en la alimentación por ser nutrientes energéticos, pero igual son relevantes por favorecer las propiedades organolépticas, principalmente la palatabilidad. Además es de interés en la industria alimentaria por brindar textura y consistencia, mejorando las propiedades coligativas y la estabilidad de las dispersiones alimenticias. Los carbohidratos tienen funciones biológicas en el reino vegetal como brindar rigidez, reservas metabólicas o pueden ser un mecanismo de defensa y se encuentran como monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Los polisacáridos son de interés en la industria alimentaria como los mucílagos, gomas y pectinas (Bello, 2000). Estos polímeros poseen propiedades tecnofuncionales en alimentos por su capacidad gelificante, espumante y estabilizante (Puigvert & Garza, 2003). Aunque falta hacer la identificación de qué tipo de carbohidratos están presentes en estas semillas.

### CONCLUSIÓN

Las semillas del zapote negro mostraron una composición interesante por sus componentes mayoritarios sus componentes mayoritarios fueron: proteína (12.36%), fibra cruda (47.27%) y carbohidratos (21.93%). Así las semillas tienen el potencial de utilizarse como algún complemento en procesos alimentarios por sus componentes.

### BIBLIOGRAFÍA

- Andrade Almeida, J., Rivera García, J., Chire Fajardo, G. C., & Ureña Peralta, M. O. (2019). Propiedades físicas y químicas de cultivares de cacao *Theobroma cacao* L. de Ecuador y Perú. Enfoque UTE, 10(4), 1-12.
- AOAC. Official Methods of Analysis, 14th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, 1984.
- Arazola-Paternina, G. S., Barrera-Violeth, J. L., & Villalba-Cadavid, M. I. (2013). Determinación física y bromatológica de la guanábana cimarrona (*Annona glabra* L.) del departamento de Córdoba. Orinoquia, 17(2), 159-166.
- Azcona, Á. C. (2013). Manual de nutrición y dietética. Departamento de Nutrición-M-008157. Madrid.
- Bello Gutiérrez, J. (2000). Ciencia bromatológica. Ediciones Díaz de Santos.
- Benítez, R. (2017). Pérdidas y desperdicios de alimentos en América Latina y el Caribe. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). <https://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/239393/>

- Benítez, R., Ibarz, A., & Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 42(2), 227-236.
- Bravo, A., Navarro, E., Rincón, C., & Soriano, M. (2018). Características físico-químicas y perfil de ácidos grasos de dos cultivares de cacahuete de la Mixteca Poblana Physico-chemical characteristics and fatty acid profile of two peanut cultivars of the Mixteca Poblana. *Naturales y Agropecuarias*, 5(15), 9-18.
- Calero, S. M., Quezada, J. E., Urbina, J. R., & Carcache, E. R. (2016). Análisis proximal de granos de arroz, frijol, maíz y café comercializados en el mercado Roberto Huembes de Managua. *Universidad y Ciencia*, 9(14), 45-51.
- Ceballos A., & Montoya, S. (2013). Evaluación química de la fibra en semilla, pulpa y cáscara de tres variedades de aguacate. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 11(1), 103-112.
- Chalé, F. G. H., Ruiz, J. C. R., Fernández, J. J. A., Ancona, D. A. B., & Campos, M. R. S. (2014). ACE inhibitory, hypotensive and antioxidant peptide fractions from *Mucuna pruriens* proteins. *Process Biochemistry*, 49(10), 1691-1698.
- Corral-Aguayo, R. D., Yahia, E. M., Carrillo-Lopez, A., & González-Aguilar, G. (2008). Correlation between Some Nutritional Components and the Total Antioxidant Capacity Measured with Six Different Assays in Eight Horticultural Crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10498–10504. doi:10.1021/jf801983r
- De Lourdes Vargas, M., Brito, H. F., Cortez, J. A. T., López, V. M. T., & Huchin, V. M. (2019). Aprovechamiento de cáscaras de frutas: análisis nutricional y compuestos bioactivos. *CIENCIA ergo-sum*, 26(2), 6.
- García Ochoa, O. E., Infante, R. B., & Rivera, C. J. (2008, June). Hacia una definición de fibra alimentaria. In *Anales Venezolanos de Nutrición* (Vol. 21, No. 1, pp. 25-30). Fundación Bengoa.
- García, L. A. (2009). Lípidos dietarios y salud humana. *Veterinaria Cuyana*, 4, 55-57.
- Gordo, D. A. M. (2018). Los compuestos fenólicos, un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de investigación agraria y ambiental*, 9(1), 81-104.
- Lafont, J. J., Espitia, A. A., & Páez, M. S. (2019). Estudio fisicoquímico del aceite y análisis proximal de la torta de semillas oleaginosas nativas de Córdoba-Colombia. *Información tecnológica*, 30(4), 85-92.
- Maldonado-Torres, R., Morales-Camacho, J. I., López-Valdez, F., Huerta-González, L., & Luna-Suárez, S. (2020). Assessment of techno-functional and nutraceutical potential of tomato (*Solanum lycopersicum*) seed meal. *Molecules*, 25(18), 4235.
- Márquez Siguas, B. M. (2014). Refrigeración y congelación de alimentos: terminología, definiciones y explicaciones.
- Martínez, O. L., Román, M. O., Gutierrez, E. L., Medina, G. B., & Flírez, O. A. (2003). Caracterización sensorial de fibras de algunas frutas comunes en Colombia. *Vitae*, 10(2), 9-19.
- Mayer, H. F., Peiretti, H. A., & Marder, G. (1986). Bromatología: higiene y control de alimentos. In *Bromatología: higiene y control de alimentos* (pp. sp-sp).
- Miller, W. R., J. L. Sharp, and E. Baldwin. 1998. Quality of irradiated and nonirradiated black sapote (*Diospyros digyna* Jacq.) after storage and ripening. *Agricultural Research Service TEKTRAN 110*: 215-218.
- Morton, J. 1987. Sapote Negro. En: *Frutas de Climas Calientes*. USA. Pp- 416- 418.
- Sánchez-Mendoza, N. A., Ruiz-Ruiz, J. C., Dávila-Ortiz, G., & Jiménez-Martínez, C. (2017). Propiedades tecnofuncionales y biológicas de harina, aislado y fracciones proteicas mayoritarias de semillas de Inga paterno. *CYTA-Journal of Food*, 15(3), 400-408.
- Silva-Vega, M., Bañuelos-Valenzuela, R., Muro-Reyes, A., Esparza-Ibarra, E., & Delgadillo-Ruiz, L. (2017). Evaluación de semilla de guayaba (*Psidium guajava* L.) como alternativa en la nutrición ruminal. *Abanico veterinario*, 7(1), 26-35.
- Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., & Yangsabai, A. (2018). Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines*, 5(3), 93.
- Vilcanqui-Pérez, F., & Vílchez-Perales, C. (2017). Fibra dietaria: nuevas definiciones, propiedades funcionales y beneficios para la salud. Revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 67(2), 146-156.
- Yahia, E. M., Gutierrez-Orozco, F., & Leon, C. A. (2011). Phytochemical and antioxidant characterization of the fruit of black sapote (*Diospyros digyna* Jacq.). *Food Research International*, 44(7), 2210–2216. doi:10.1016/j.foodres.2010.11.025

## Obtención de fibra soluble a partir de desechos agroindustriales y su aplicación en alimentos

R.C. Martínez-Yañez\*<sup>1</sup> y M.E. Rodríguez-Huezo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec.

\*[martinez93roberto@gmail.com](mailto:martinez93roberto@gmail.com)

### RESUMEN

En este trabajo se realizó una amplia investigación sobre los conceptos de fibra dietética (FD) ya que actualmente se ha demostrado que la población sufre de enfermedades como diabetes, cáncer, obesidad entre otras; todas estas relacionadas con una mala alimentación, consumo ineficiente de fibra y una falta de actividad física. Se ha demostrado que el consumo de FD beneficia en varios aspectos la salud a través de la alimentación. Cabe mencionar que en el mundo existe una gran cantidad de desechos agroindustriales que no son aprovechados, estos residuos contienen grandes cantidades de fibra dietética que, mediante algún tratamiento, pueden ser aprovechados e incorporarse en alimentos. También se investigaron los beneficios que aporta la FD y sus mecanismos de acción, sus propiedades tecnológicas al incorporarlas a los alimentos y como es que ayudan a mejorar sus características finales. Así mismo se investigaron los métodos oficiales más comunes para analizar y extraer fibra dietética, y finalmente los métodos emergentes que pueden convertir la fibra dietética insoluble (FDI) en fibra dietética soluble (FDS) a partir desechos agroindustriales y así usarlos como aditivo o ingrediente para la elaboración de un alimento rico en fibra soluble.

**Palabras clave:** Fibra soluble, desechos agroindustriales, métodos emergentes.

### ABSTRACT

In this work, extensive research was carried out on the concepts of dietary fiber (DF) since it has currently been shown that the population suffers from diseases such as diabetes, cancer, obesity, among others. The incidence of these diseases has been related to a diet consumption with an inadequate low fiber content and to a lack of physical activity. It has been shown that the consumption of diets rich in DF content produce health benefits. Large amounts of agro-industrial waste are produced worldwide, and there exists a drive to reutilize these wastes for obtaining added value products. Many of these wastes are rich in DF, which can be obtained through some treatment, and used for its incorporation into food. The benefits provided by DF and its mechanisms of action, its technological properties when incorporated into foods and how they help improve their final characteristics, were also investigated. Likewise, the most common official methods for analyzing and extracting DF were investigated, and finally, the emerging methods that can convert insoluble dietary fiber (IDF) into soluble dietary fiber (SDF) from agro-industrial waste, for its use as an additive or ingredient for the preparation of novel soluble fiber rich foods.

**Keywords:** Soluble fiber, agroindustrial waste, emerging methods.

## MARCO CONTEXTUAL

En los últimos años diversos problemas ambientales se han ligado a la generación de desechos agroindustriales, por lo que hay un creciente interés en implementar procesos que permitan un uso eficiente e integral de los residuos. Estos pueden ser utilizados para la recuperación y producción de un amplio rango de productos de alto valor agregado, por medio de técnicas biotecnológicas. A partir de los residuos agroindustriales es posible producir biocombustibles, enzimas, compuestos antioxidantes, pigmentos, carotenoides, FD, nutraceuticos, aceites esenciales, proteínas entre otros.

## JUSTIFICACIÓN

Actualmente el consumo insuficiente de FD se asocia con la aparición de enfermedades crónicas como diabetes, hipertensión y cáncer de colon. Por este motivo, el comité de expertos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), recomiendan una ingesta de 25 gramos de FD al día. De acuerdo con la Secretaría de Salud (SSA) en México, los adultos consumen entre 16 y 18 gramos de fibra al día, una cantidad mucho menor a la recomendada, de ahí la importancia de informar la función de los tipos de fibras y promover el consumo de la FDS ya que se ha demostrado que ésta posee más beneficios al cuerpo y se puede obtener por métodos que modifican la FDI la cual es la que más abunda en la naturaleza y está contenida en residuos agroindustriales.

Con la finalidad de buscar fuentes alternas de FD y la necesidad de incrementar su consumo debido a que la población consume poca fibra, se decidió investigar algunos métodos que puedan modificar la fibra de residuos agroindustriales y que posteriormente pueda ser utilizada en algún alimento como ingrediente o aditivo y así aprovechar los beneficios que estos puedan brindar al consumidor final.

## OBJETIVOS

### Objetivo General

- Dar a conocer los métodos que se han empleado para obtener FDS a partir de FDI de desechos agroindustriales, propiedades fisiológicas y aplicación en alimentos

### Objetivos específicos

1. Investigar los métodos empleados para obtener FDS a partir de FDI de desechos agroindustriales.
2. Describir las propiedades fisiológicas de las fibras
3. Clasificar los métodos de cuantificación de FDS y FDI
4. Informar las aplicaciones de la FDS en alimentos

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como se mencionó el consumo de fibra en México es deficiente apenas de 16 a 18 gramos al día, menor al que recomienda la Secretaría de Salud que es de 25 gramos/día (SSA, 2016) y esto genera en la población problemas de salud como el inadecuado funcionamiento del intestino, pero también se ha demostrado que un consumo adecuado de fibra puede prevenir enfermedades como la diabetes, enfermedades cardiacas y algunos tipos de cáncer.

### Definición y clasificación de la fibra dietética

La definición más consistente y aceptada proviene de Trowell (Trowell, 1974): "La fibra dietética es la suma de ligninas y polisacáridos vegetales resistentes a la hidrólisis por las enzimas digestivas del hombre (resistente a la digestión por el ácido y las enzimas del tracto gastrointestinal humano).

La Asociación Americana de Químicos de Cereales (American Association of Cereal Chemist; AACC) define fibra como "las partes comestibles de las plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y la absorción en el intestino delgado humano, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso. La FD incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias vegetales asociadas. Sin embargo, la relación FDS/FDI es importante tanto para la salud como para las propiedades tecnológicas. En general, se acepta que las fuentes de fibra adecuadas para su uso como ingrediente alimentario deben tener una relación FDS/FDI cercana a 1:2. (Borchani *et al.*,2012), (Jaime *et al.*, 2002).

La FDS está compuesta por mucílagos, gomas, pectina y hemicelulosa. En cambio, la FDI no se disuelve en el agua, ésta atrae pasivamente el agua y ayuda a aumentar el volumen, ablandar las heces y acortar el tiempo de tránsito por el tracto intestinal. Está compuesta por celulosa, lignina, una fracción mayor de hemicelulosa y celulosa modificada. (Saéñz, 1997).

La definición de FD también incluye las fibras de origen animal, como el quitosano que se deriva de la quitina. Este tipo de fibra está presente en los exoesqueletos de crustáceos y calamares, y tiene una estructura molecular similar a la de la celulosa vegetal (Borderías, Sánchez y Pérez, 2005).

### Funcionalidad tecnológica de la fibra dietética

Los componentes de la FD, aislados de las plantas nativas, proporcionan muchas propiedades funcionales que afectan a los atributos tecnológicos de los alimentos. Estas propiedades funcionales también influyen en el comportamiento del producto alimenticio durante su procesamiento, así como en su calidad y características finales (Tungland y Meyer, 2002). Una de las propiedades tecnológicas más importantes de la FD es la de retener agua (Borderías, Sánchez y Pérez, 2005). Muchas fibras alimentarias son dispersables tanto en agua como en aceite, mientras que algunas fibras también tienen la capacidad de unirse sólo al aceite. La unión al aceite es una función de la porosidad de la fibra más que de la afinidad de las moléculas de la fibra por las gotas de aceite. Esta característica de la fibra también está influida por la composición química de la misma (Tungland y Meyer, 2002). La viscosidad es otra propiedad tecnológica importante de las fibras que proporciona características reológicas a los sistemas alimentarios (Tungland y Meyer, 2002).

**Tabla I.** Resumen de los métodos oficiales para analizar la FD, según lo descrito por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales y (AOAC) y los compuestos medidos por cada método

Método AOAC	Compuestos medidos
985.29	Fibra dietética total (alto peso molecular)
991.42	Fibra dietética insoluble en alimentos
991.43	Fibra dietética total (alto peso molecular: soluble e insoluble)
993.19	Fibra dietética soluble de alto peso molecular en los alimentos
993.21	Fibra dietética de alto peso molecular (cuando > 10% de fibra y <2% de almidón)



994.13	Fibra dietética de alto peso molecular, aporta composición de azúcar y lignina Klason
995.16	$\beta$ -Glucano en cereales, piensos y alimentos
997.08	Fructanos y fructooligosacáridos
999.03	Fructanos y fructooligosacáridos (subestima los compuestos altamente despolimerizados)
2000.11	Polidextrosa
2001.02	Trans galactooligosacáridos
2001.03	Fibra dietética de alto y bajo peso molecular (si no hay almidón resistente)
2002.02	Almidón resistente (2 y 3)
2009.01	Fibra dietética total de alto y bajo peso molecular en todos los alimentos
2011.25	Fibra dietética soluble e insoluble de alto y bajo peso molecular en todos los alimentos

Fuente: (Adaptado de McCleary, B. V., Sloane, N., Draga, A., & Lazewska, I. (2013). Measurement of total dietary fiber using AOAC Method 2009.01 (AACC International Approved Method 32–45.01): evaluation and updates. *Cereal Chemistry*, 90, 396–414.)

### Métodos emergentes utilizados específicamente para la modificación de fibra dietética

Los métodos de modificación de la FD incluyen métodos químicos (principalmente ácido y método alcalino), métodos biotecnológicos (principalmente método enzimático) y métodos físicos (principalmente, tecnología de alta presión, tecnología de extrusión y tecnología de pulverización ultrafina) que podrían romper algunos enlaces glicosídicos de FDI y disminuir el grado de polimerización.

### Aplicaciones de la fibra en alimentos

En los productos alimenticios, la fibra dietética soluble puede tener propiedades texturales, gelificantes, espesantes y emulsionantes, mientras que la fibra dietética insoluble actúa como ingrediente funcional. Este apartado presenta las aplicaciones de las fibras dietéticas en el campo de la industria alimentaria. En la tabla II se presentan algunos productos alimenticios y el porcentaje de FDS, FDI y FDT de cada uno.

**Tabla II.** Contenido de FD en productos alimenticios

Producto	Tipo de Residuo	FDI (%)	FDS (%)	FDT (%)	Referencia
Lácteo					
Yogur bebible	Cáscara de maracuyá	4.0	1.3	5.3	Viva <i>et al.</i> (2018)
Queso	Semillas de uva	n.d.	n.d.	4.65	Pasini <i>et al.</i> (2019)
Helado	Cáscara de pitahaya	n.d.	n.d.	3.47	Utpott <i>et al.</i> (2020)

Producto	Tipo de Residuo	FDI (%)	FDS (%)	FDT (%)	Referencia
Mantequilla	Cáscara de maní	8.59	1.21	9.55	Ma <i>et al.</i> (2014)
Horneado y pasta					
Pan de trigo	Semilla de manzana	7.24	1.59	8.83	Puric <i>et al.</i> (2020)
Pan sin gluten	Cáscara de café	9.84	1.52	11.36	Ma <i>et al.</i> (2014)
Galleta	Poso de café	11.4	1.3	12.7	Vázquez <i>et al.</i> (2018)
Espagueti	Cáscara de tomate	13.64	6.11	19.75	Padalino <i>et al.</i> (2017)
Barra granola	Tallo de agave	2.72	5.51	9.65	Ajila <i>et al.</i> (2009)
Palito de pan	Rizoma de loto	5.32	1.01	6.34	Thanushree <i>et al.</i> (2017)
Macarrón	Cáscara de mango	10.6	5.18	15.8	Ajila <i>et al.</i> (2009)
Pizza	Cáscara de calabaza	6.74	0.36	7.10	Butke <i>et al.</i> (2018)
Magdalena	Semilla de calabaza	8.22	2.89	11.11	Palacio <i>et al.</i> (2018)
Paneton	Cáscara de camote	1.87	0.48	2.24	Wendler <i>et al.</i> (2018)

Fuente: Elaboración Propia

La Tabla III indica cómo la fibra dietética influye en las propiedades de textura, propiedad reológica, atributo de aceptabilidad y valor nutricional, a medida que disminuye el contenido energético, además fortalece el producto con fibra dietética en comparación con productos convencionales.

**Tabla III.** Influencia de la FD en productos alimenticios procesados

Producto	Influencia de la FD	Fuente de FD	Referencia
Lácteo			
Helado	Sustituto de grasa Esponjamiento Comportamiento reológico Aceptabilidad sensorial	Cáscara de pitahaya	Utpott <i>et al.</i> (2020)
Yogur	Reducción de la sinéresis Textura: firmeza, cohesión, índice de viscosidad	Cáscara de manzana	Jovanovic <i>et al.</i> (2020)
Queso	Friabilidad, adhesividad	Bráctea externa y tallo de alcachofa	Costa <i>et al.</i> (2018)

Producto	Influencia de la FD	Fuente de FD	Referencia
Mantequilla	Firmeza, capacidad de untar	Albedo de naranja y hueso de pera	Goksel y Dogan (2016)
Horneado			
Pan de trigo	Mejorador: disminución de la dureza, adhesión, cohesión Aceptabilidad sensorial	Vaina de guisante y haba	Belghith <i>et al.</i> (2016)
Conserva			
Mermelada	Viscosidad, incremento en el módulo de corte	Cáscara de plátano	Rajendran y Thampi (2019)
Bebida			
Bebida espesa	Estabilidad física Aceptabilidad sensorial	Pulpa de soya	Chen <i>et al.</i> (2018)
Confitería			
Gelatina	Dureza, masticabilidad, adhesividad Reducción de la sinéresis	Cáscara de plátano	Radzi (2020)
Cárnicos			
Salchicha de pollo	Capacidad de almacenamiento Aceptabilidad organoléptica	Cáscara de manzana Cáscara de tomate Cáscara de maíz	Yadav <i>et al.</i> (2015)

Fuente: Elaboración Propia

### Retos e investigaciones a futuro

De la revisión realizada, se puede señalar que la mayor parte de los estudios para el aprovechamiento de los residuos agroindustriales que se aprovechan para convertirse en algún tipo de FDS se queda a nivel de laboratorio, no se experimenta el escalamiento a la industria. Se ha demostrado que los beneficios de llevar estos conocimientos a la población resultarían benéficos para la salud por lo que ya se mencionó anteriormente. Así mismo la falta de equipos para las industrias es un impedimento ya que probablemente no haya producción continua y debido a esto retrase el proceso de producción.

También los investigadores que han agregado la FDS a algún alimento o como aditivo no han dado el seguimiento de consumo a la población y así tener la certeza que esa FDS represente un cambio

importante en la alimentación y/o salud de algún consumidor y reportar los beneficios que pueda llegar a tener por lo que esta parte de las investigaciones queda incompleta para realizar estudios posteriores.

### CONCLUSIONES

Las FD están asociadas con varios beneficios para la salud y se clasifican en dos clases principales según su solubilidad en agua: solubles e insolubles. Las FD también son asociadas con las características texturales y sensoriales de los productos alimenticios. Algunas propiedades importantes de las FD son la solubilidad, la viscosidad, la capacidad de retención de agua, la capacidad de retención de aceite, el tamaño de las partículas, la porosidad, etc. Las FD se pueden obtener de diversas fuentes, como frutas, hortalizas y cereales, mientras que la nueva tendencia es la recuperación de fibras dietéticas a partir de los desechos agroindustriales que la industria no utiliza y es así que por métodos de modificación solos o combinados se les puede aprovechar para posteriormente adicionarlo como ingrediente o aditivo en algún alimento y tener una dieta rica en fibra que posteriormente traerá beneficios y evitará tener alguna de las enfermedades que ya se describieron anteriormente.

### BIBLIOGRAFÍA

- Ajila, C., Aalami, M., Leelavathi, K. and Prasada, U. (2009). Mango peel powder: A potential source of antioxidant and dietary fiber in macaroni preparations. *Innovate Food Science and Emerging Technologies*. doi: 10.1016/j.ifset.2009.10.004.
- Belghith, L., Chaari, F., Maaloul, M., Kallel, F., Abdelkafi, L., Ellouz, S. and Ghribi, D. (2016). Wheat bread enrichment by pea and broad bean pods fibers: Effect on dough rheology and bread quality. *LWT*. doi: 10.1016/j.lwt.2016.06.070.
- Borchani, Ch., Besbes, S., Masmoudi, M., Bouaziz, M.A., Blecker, C., and Attia, H. (2012). Influence of oven-drying temperature on physicochemical and functional properties of date fibre concentrates. *Food Bioprocess Technol*; 5:1541-1551.
- Borderías, A. J., Sánchez, A. I., Pérez, M. M. (2005). New applications of fibers in foods: addition to fishery products. *Trends Food Sci Technol*; 16:458-465.
- Butke, W., Romeiro, M., Aparecida, L., Do Santos, F. and Novello, D. (2018). Addition of pumpkin skin flour in pizza changes the physicochemical and sensory acceptability of children. *International Journal of Development Research*.
- Chen, H., Zhao, C., Li, J., Hussain, S., Yan, S., and Wang, Q. (2018). Effects of extrusion on structural and physicochemical properties of soluble dietary fiber from nodes of lotus root. *LWT-Food Science and Technology*; 93, 204–211.
- Costa, C., Lucera, A., Marinelli, V., Del Nobile, A. and Conte, A. (2018). Influence of different by products addition on sensory and physicochemical aspects of Primosale cheese. *J Food Sci Technol*. doi:10.1007/s13197-018-3347-z
- Goksel, S. and Dogan, M. (2016). Incorporation of dietary fiber concentrates from from fruit and vegetable wastes in butter: Effects on physicochemical, textural, and sensory properties. *Eur. Food Res. Technol*. doi: 10.1007/s00217-016-2637-9.
- Jaime, L., Molla, E., Fernández, A., Martín, C. M., López, A. F., and Esteban, R. (2002). Structural carbohydrates differences and potential source of dietary fiber of onion (*Allium cepa* L.) tissues. *J Agric Food Chem*; 50:122-128.
- Jovanovic, M., Petrovic, M., Miocinovic, J., Zlatanovic, S., Lalicic, J., Mitic, D. and Gorjanovic, S. (2020). Bioactivity and sensory properties of probiotic yogurt fortified with apple pomace flour. *Foods*. doi: 10.3390/foods9060763.

- Ma, Y., Kerr, W., Swanson, R., Hargrove, J. and Pegg, R. (2014). Peanut skins fortified peanut butters: Effect of processing on the phenolics content, fibre content and antioxidant activity. *Food Chemistry*. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.08.125.
- Padalino, L., Conte, A., Lecce, L., Likyova, D., Sicari, V., Pellicanò, T., Poiana, M. and Del Nobile, M. (2017): Functional pasta with tomato by product as a source of antioxidant compounds and dietary fiber. *Czech J. Food Sci.* doi: 10.17221/171/2016-CJFS
- Palacio, M. I., Etcheverría, A. I. and Manrique, G. D. (2018). Development of gluten free muffins utilizing squash seed dietary fiber. *Journal of Food Science and Technology*. doi: 10.1007/s13197-018-3213-z.
- Pasini, C., Inocencio, P., Sousa, J., Gómez, A., Da Silva, M. and Granato, D. (2019). Phenolic rich Petit Suisse cheese manufactured with organic bordeaux grape juice, skin, and seed extract: technological, sensory, and functional properties. *LWT - Food Science and Technology*. doi: 10.1016/j.lwt.2019.10849.
- Purić, M., Rabrenović, B., Rac, V., Pezo, L., Tomašević, I. and Demin, M. (2020). Application of defatted apple seed cakes as a by-product for the enrichment of wheat bread. *LWT - Food Science and Technology*. doi: 10.1016/j.lwt.2020.109391.
- Radzi, H. (2020). Incorporation of banana peel fiber in jelly as a functional food precursor. Malaysian Academic Library Institutional Repository.
- Rajendran, N. and Thampi, H. (2019). Extraction and characterization of pectin from banana peel. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*. doi: 10.34302/2019.11.4.4.
- Saénz, H. C. (1997). Cladodes: a source of dietary Fiber. *J Prof Assoc Cactus Dev*; 34:117-123.
- Thanushree, M., Sudha, M. and Crassina, K. (2017). Lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome powder as a novel ingredient in bread sticks: rheological characteristics and nutrient composition. *Journal of Food Measurement and Characterization*. doi: 10.1007/s11694-017-9561-y.
- Trowell, H.C. (1974). Definitions of fiber. *Lancet* 1:503.
- Tungland, B.C., Meyer, D. (2002). Nondigestible oligo- and polysaccharides (dietary fiber): their physiology and role in human health and food. *Compr Rev Food Sci Food Saf*; 3:73-92.
- Utpott, M., Ramos, de A. R., Galarza, V. C., Nunes, P., A., Tischer, B., de Oliveira, R. A., and Hickmann, F. S. (2020). Characterization and application of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel powder as a fat replacer in ice cream. *Journal of Food Processing and Preservation*. doi: 10.1111/jfpp.14420.
- Vázquez, K., Martínez, N., Rebollo, M., Del Castillo, M., Gaytán, M. and Campos, R. (2018). In vitro health promoting properties of antioxidant dietary fiber extracted from spent coffee (*Coffea arabica* L.) grounds. *Food Chemistry*. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.04.064.
- Viva, N., Costa, A., Mendes, P., Charles, D., Granato, D. and Canniatti, S. (2018). Potentials and pitfalls on the use of passion fruit by products in drinkable yogurt: physicochemical, technological microbiological, and sensory aspects. *Beverages*. doi: 10.3390/beverages4030047.
- Wendler, T., De Fátima, L., Da Cruz, V., Jordo, C., Freitas, E. and Novello, D. (2018). Aproveitamento da casca de batata doce na produção de panetone: Caracterização físicoquímica e aceitabilidade sensorial entre crianças. Universidade Estadual do Centro Oeste, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
- Yadav, S., Malik, A., Pathera, A., Islam, R. and Sharma, D. (2015). Development of dietary fibre enriched chicken sausages by incorporating corn bran, dried apple pomace and dried tomato pomace. *Nutrition & Food Science*. doi: 10.1108/NFS-05-2015-0049.

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

Y. Jaguey-Hernández<sup>\*1</sup>, A. Castañeda-Ovando<sup>1</sup>, E.P. Castañeda-Ovando<sup>1</sup>, C. Tapia-Ignacio<sup>1</sup>, E. Contreras-López<sup>1</sup> y L.G. Gonzalez-Olivares<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Carr. Pachuca-Tulancingo km 4.5, 42186, Mineral de la Reforma, Hgo., México. \*[ovandoa@uaeh.edu.mx](mailto:ovandoa@uaeh.edu.mx)

### RESUMEN

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

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

### ABSTRACT

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

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

## INTRODUCCIÓN

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

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

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

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

## MATERIALES Y MÉTODOS

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

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

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

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

donde:

$$A = (A_{515\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{pH1} - (A_{515\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{pH4.5} \quad (2)$$

AM= antocianinas monoméricas; MW= peso molecular de la antocianina más común (Cy-3-glc, PM= 449 g mol<sup>-1</sup>); FD= Factor de dilución; ε= coeficiente de absortividad molar de la antocianina más común (Cy-3-glc, ε<sub>515 nm</sub>=26 900 cm<sup>-1</sup>mol<sup>-1</sup> L a pH 1.0); ℓ= longitud de paso óptico (1 cm).

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

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

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

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

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



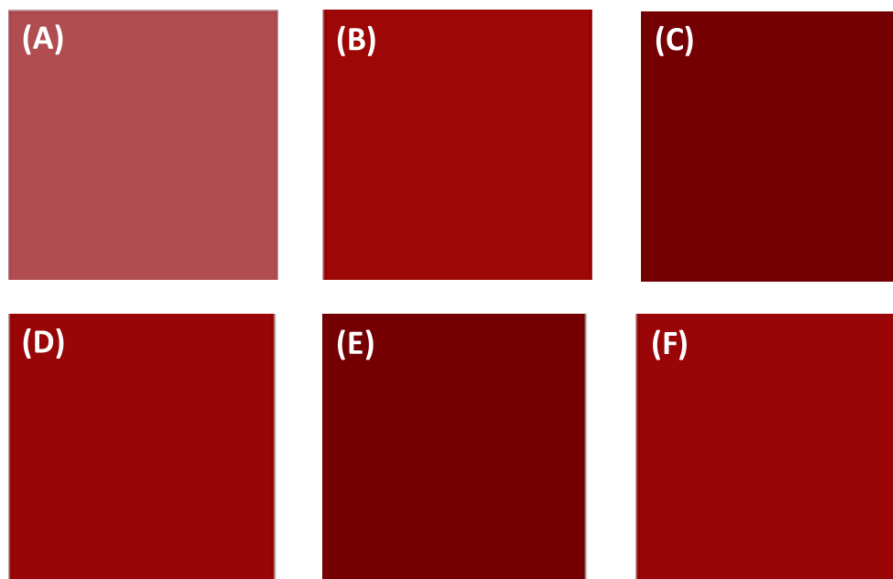
obtuvieron dentro de una cámara blanca con luz blanca fría. Una vez tomada la imagen y mediante el análisis digital, utilizando la aplicación Colorgraph<sup>®</sup>, se obtuvieron los parámetros  $L$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , a partir de éstos se usó la aplicación colorTool<sup>®</sup> para obtener  $\Delta E$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

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

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

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



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

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

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

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

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

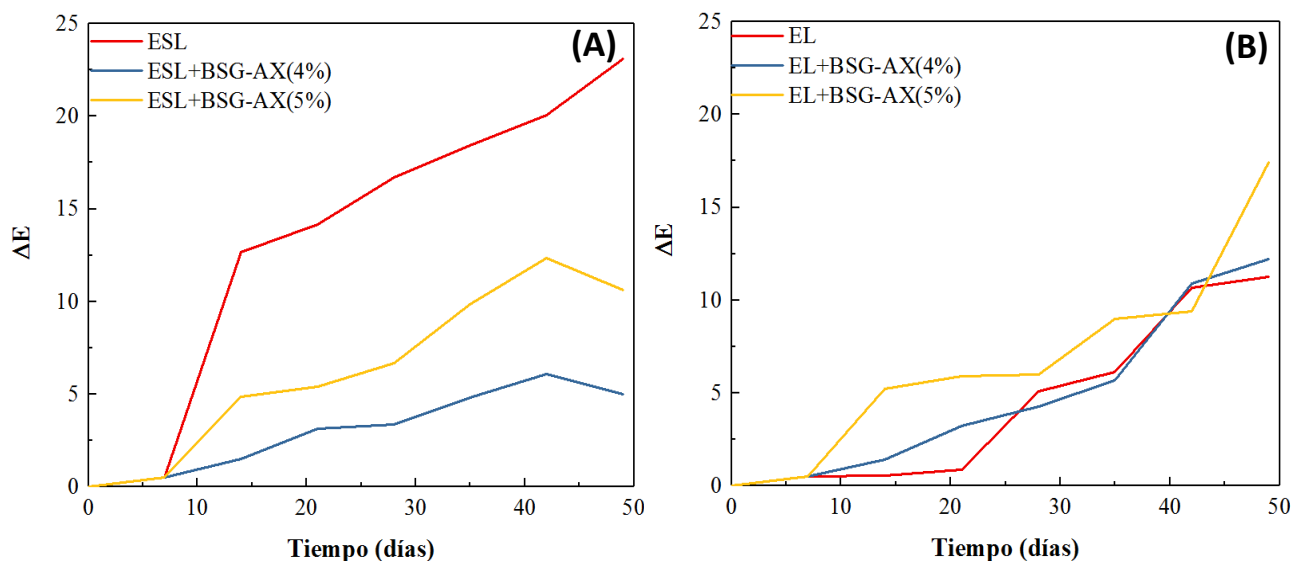
Al comparar el color de ambos extractos (ESL y EL) en ácido cítrico (Fig. 1 B-C) se observa que, el ESL presenta mayor luminosidad, así como valores más elevados en  $a^*$  y  $b^*$ , con un  $\Delta E$  de 8.2998, es decir, el cambio de color es perceptible con un vistazo;

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

### CONCLUSIÓN

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

### BIBLIOGRAFÍA

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

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

## Obtención y caracterización de polvos de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) gastada

K.F. Romo-Zamarrón\*<sup>1</sup>, X.C. García-Muñoz<sup>1</sup>, G. Ávila-Ruvalcaba<sup>1</sup>, L.E. Pérez-Cabrera<sup>1</sup> y R.E. Ramírez-Carrillo<sup>1</sup>

**1** Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ciencias de los Alimentos, Avenida Universidad No. 940, Colonia Ciudad Universitaria, CP.20100, Aguascalientes, Aguascalientes, México. \*[karla.romo@edu.uaa.mx](mailto:karla.romo@edu.uaa.mx)

### RESUMEN

Diversos estudios han demostrado las propiedades benéficas que tienen los extractos de los calices de la flor de jamaica, sin embargo, el proceso de obtención de estos deja como residuo los calices gastados. El objetivo de este estudio fue la obtención y caracterización de este subproducto para su evaluación como posible ingrediente alimentario. De los resultados obtenidos se concluye que existe un alto nivel de contenido total de fibra dietética y el prometedor contenido de compuestos fenólicos, así como sus características fisicoquímicas (CRA, CRAC, pH, acidez) de polvos de calices de flor de jamaica gastada con diferentes tamaños de partícula (J50, J60 y J80) en comparación de calices sin extracción (JSE).

**Palabras clave:** calices de jamaica gastada, fibra dietética, propiedades fisicoquímicas, compuestos fenólicos.

### ABSTRACT

Various studies have shown the beneficial properties of the extracts of the calyxes of the roselle, however, the process of obtaining these leaves the spent calyxes as a residue. The objective of this study was to obtain and characterize this by-product for its evaluation as a possible food ingredient. From the results obtained, it is concluded that there is a high level of total dietary fiber content and the promising content of phenolic compounds, as well as their physicochemical characteristics (CRA, CRAC, pH, acidity) of spent roselle calyx powders with different particle sizes (J50, J60 and J80) compared to calyxes without extraction (JSE).

**Key words:** spent hibiscus flower calyxes, dietary fiber, physicochemical properties, phenolic compounds.

### INTRODUCCIÓN

El aprovechamiento de los residuos generados de los procesos de la agroindustria es una alternativa para reducir su impacto negativo en el ambiente y apoyar la sostenibilidad (Cury *et al.*, 2017). Los residuos son productos orgánicos sólidos, semisólidos o líquidos generados a partir del uso indirecto de los productos primarios o de su industrialización y que no pueden ser útiles para el proceso que los generó, pero si son susceptibles de un aprovechamiento o transformación que genere otro producto con valor económico de interés comercial y/o social (Chacon *et al.*, 2016), debido a que son materiales en su mayoría con un alto contenido nutricional y que son considerados como materia prima para la formación y desarrollo de nuevos productos (Sadh *et al.*, 2018). Su acumulación representa no solo el deterioro ambiental sino también la pérdida de una gran cantidad de material potencialmente valioso (Nigam *et al.*, 2009).

La flor (cáliz) fresca o deshidratada de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) se usan en la preparación de bebidas calientes o frías, bebidas fermentadas, vino, mermeladas, salsas, helado, y conservas (Da-

Costa-Rocha *et al.*, 2014). En la mayoría de las elaboraciones a base de jamaica se aplica extracción acuosa para obtener un concentrado o extracto, y los calices gastados son considerados residuos. El objetivo de este trabajo es determinar las características fisicoquímicas, microbiológicas, bromatológicas y compuestos fenólicos solubles totales de polvos de calices de flor de jamaica gastada provenientes de la fabricación de extracto, para determinar el cambio en las propiedades y su posible utilización como ingredientes alimentarios.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materias primas

Los cálices gastados de flor de jamaica, fueron obtenidos en la unidad productiva “Purificadora de agua” perteneciente al área de Tecnología de Alimentos de la Posta Zootécnica de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA).

### Producción de polvos de calices de flor de jamaica gastada (PFJG):

El área productiva “Purificadora de agua” fabrica en promedio 700 botellas de 500 mL de agua de jamaica / semana generando 4kg de residuos/semana (base húmeda). Para la obtención de los cálices gastados de flor de jamaica, se llevó a cabo la extracción acuosa (p/v) de cálices (Member’s Mark): agua caliente 1:60 con tiempo de extracción de 25 min. a una temperatura de  $94 \pm 2$  °C, para obtener un concentrado que posteriormente fue utilizado para la elaboración de agua de jamaica. Los calices gastados se molieron, se deshidrataron por aire caliente forzado (Excalibur Parralex) a una temperatura de 57°C por 8h, se sometieron a molienda (Oster, 6832) y posteriormente se tamizaron (Tamizadora, Quimilab; Tamices, Flicc. S.A de C.V), durante 30 min. De esta manera los polvos fueron divididos en tres tamaños de partícula: J50)  $>300 \mu\text{m}$ , J60)  $250 \mu\text{m}$ , J80)  $<180 \mu\text{m}$ , y se usó cálices de flor de jamaica molida sin extracción como control (JSE).

### Análisis microbiológico y bromatológico de los PFJG:

Para el análisis microbiológico se realizaron las diluciones de las muestras de acuerdo con las especificaciones de la norma oficial mexicana (NOM-110-SSA1-1994) y se utilizó el método de vaciado en placa, para determinar coliformes totales (NOM-113-SSA1-1994), mesófilos aerobios (NOM-092-SSA1-1994) y hongos y levaduras (NOM-111-SSA1-1994). Posteriormente, se realizó el análisis químico proximal, donde se determinó el contenido de: humedad (%H) por método gravimétrico de secado en estufa (Felisa, 120 UAC) siguiendo el método 44-15.02 (AOAC 1984); cenizas (%C) por medio de calcinaron en una mufla (AACC 08-01.01; Felisa, FD-293D) a 550 °C; grasa (extracto etereo) (%G) siguiendo el método de Goldfisch AOAC 1984 (CRAFT®, EG-600); el contenido de proteína (%P) mediante el análisis elemental de nitrógeno proteico (Método 46-16.01; AOAC, 1984), donde, se siguió la metodología de Dumas (LECO, FP-528). También se determinó el contenido total de fibra dietética soluble (%FDS) e insoluble (%FDI), utilizando el método gravimétrico enzimático con el kit de Megazyme (K-TDFR-100A/K-TDFR-200A 04/17) y carbohidratos totales (%CHOS) por medio de diferencia. Todos los resultados fueron expresados en porcentaje.

### Análisis del contenido de compuestos fenólicos solubles totales



Se realizó la extracción de los compuestos fenólicos solubles totales mediante el método establecido por Hassan *et al.*, (2011). La cuantificación de estos se realizó utilizando el método espectrofotométrico descrito por Singleton *et al.*, (1999), que consiste en una reacción redox entre los compuestos fenólicos presentes en la muestra y el reactivo Folin Ciocalteu, utilizando ácido gálico (AG) y ácido clorogénico (AC) como patrones. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

### **Caracterización fisicoquímica de PFJG:**

La acidez titulable (%), se determinó mediante la norma mexicana (NMX-F-102-S-1978) para productos secos. Los sólidos solubles ( $^{\circ}\text{Bx}$ ), se determinaron en un refractómetro de mesa Hanna Instrument (HI 96801) y el pH (pH-metro, Hanna Instrument, HI98 12-5 N). La solubilidad (%), se determinó por medio de una adaptación del método de Serna *et al.*, (2015), sobre tubos Falcon se colocaron 50 mL de agua desliada y se agregaron 0.5 g de muestra (ADAM PW, Modelo 254), se colocaron en agitación constante (Thermo scientific-SP131325) a 1150 rpm por 5 min. Posteriormente se centrifugaron a 3000 rpm por 5 min. Una alícuota de 12.5 mL del sobrenadante se transfirió a una capsula de vidrio previamente pesada, y se secaron en estufa a 105  $^{\circ}\text{C}$  durante 5 h. La capacidad de retención de agua (CRA) y aceite (CRAC) se determinaron siguiendo el método descrito por Hassan *et al.*, (2011). Cada muestra se midió por triplicado en cada uno de los parámetros analizados. Para la determinación de color se utilizaron vasos de precipitado de 25 mL, los cuales fueron llenados hasta su máxima capacidad con las muestras y colocados en un fondo blanco, posteriormente se midieron con un colorímetro (Konica Minolta Sensing Americas, Inc., CR-400, Japón), empleando el iluminante D65 observador 2 $^{\circ}$  para obtener las coordenadas CIE-L\*C\*h\*. Donde L\* es la diferencia entre la luz (L\*=100) y la oscuridad (L\*=0); C\* es la coordenada croma, que es la distancia perpendicular desde la luminosidad; y h\* es el ángulo de tono expresado en grados. Se realizaron diez mediciones a cada muestra.

### **Análisis estadístico**

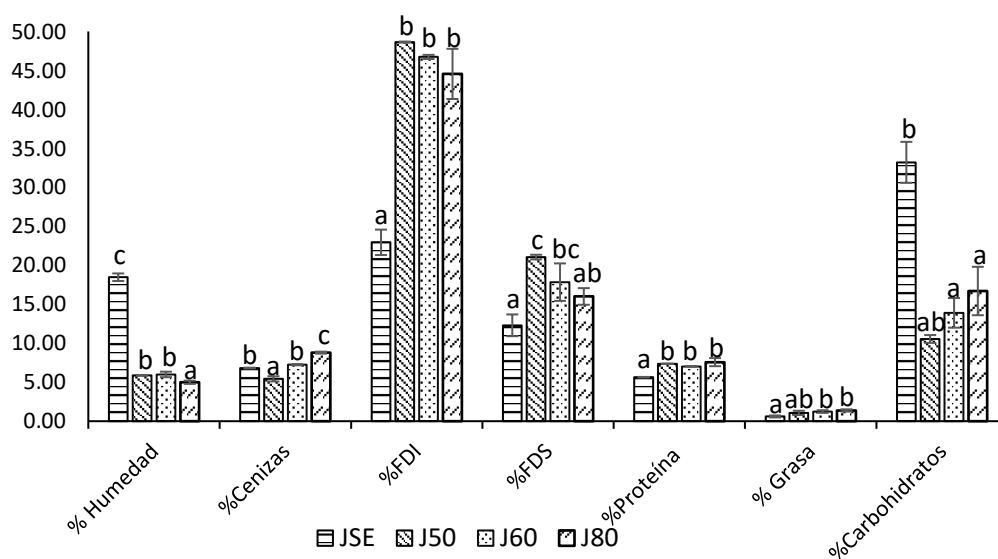
Los resultados obtenidos de los análisis se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar (n=3) y fueron sometidos al análisis de normalidad y homoscedasticidad. Se utilizó el análisis unidireccional de varianza (ANOVA); aplicando análisis de Tukey ( $p < 0.05$ ) para medias con diferencias significativas en los análisis. Los datos se analizaron utilizando el paquete estadístico InfoStat para Windows. En el mismo paquete estadístico se realizaron análisis de componentes principales (ACP). Se tomaron los valores de las variables fisicoquímicas, bromatológicas y de compuestos fenólicos solubles totales (FST), y se transformaron en componentes. Posteriormente se realizó la representación gráfica de las dos primeras componentes por medio de un Biplot de Forma Multivariante de Ordenación, con el fin de observar de una manera más sencilla la relación que existe entre dichas características y el tipo de muestra.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Figura 1, se pueden observar los resultados obtenidos del análisis bromatológico, existen diferencias significativas en cada uno de los parámetros evaluados entre la muestra control sin extracción (JSE) y los polvos de flor de jamaica gastados (J50, J60 y J80), presentado estos últimos una menor humedad (%H = 4.9 – 6) y valores dentro de la NMX-FF-116-SCFI-2010, y la JSE fuera de la norma. Un menor contenido de carbohidratos (% CHOS = 10.5 -16.7) para J50, J60 y J80, pero un mayor contenido de proteína (%P = 7.03 – 7.58), cenizas (%C= 5.4 – 6.0 valor dentro de la NMX-

FF-116-SCFI-2010), grasa (%G = 1.07 – 1.38), fibra dietética insoluble (%FDI = 44.5 - 48.6) y soluble (%FDS = 16.0 – 21.06). Estas diferencias entre las muestras se deben a que durante el proceso de extracción de la flor de jamaica, en el extracto se va aproximadamente el 50% de los carbohidratos disponibles, lo que cambia de manera significativa la composición de la flor de jamaica gastada, dejando de esta manera un subproducto con una composición nutrimental, que pudiera ser utilizado para enriquecer alimentos con un bajo contenido de fibra dietética soluble e insoluble, así como de proteína. Ya que existen diversos estudios donde las fibras dietéticas de los subproductos del procesamiento de alimentos se han agregado a una gran variedad de alimentos con el fin de impartir propiedades funcionales y tecnológicas específicas (Fernández-López *et al.*, 2008, Martínez-Cervera *et al.*, 2011, Sánchez-Zapata *et al.*, 2011, Romo *et al.*, 2019).

Los resultados obtenidos en la muestra control (%H = 18.47, %P = 5.64, %C = 6.82, %G = 0.62, %CHOS = 33.21, %FDS = 13.30 y FDI = 22.95) comparados con los obtenidos por Sayago-Ayerdi *et al.*, (2012) (%H = 9.1 -11.2, %P = 5.2 – 12.9, %C = 3.4 -8.4, %G = 0.9 – 1.4, %CHOS = 6.8 -14.9, %FDS = 7 – 8.3 y FDI = 15.7 -20.2) que analizaron diferentes variedades de *Hibiscus sabdariffa* sin extracción, resultaron ser similares a los obtenidos en el presente estudio difiriendo para el contenido de humedad y de carbohidratos cuyos valores fueron más altos. Mientras que Mauto *et al.*, (2015) estudiaron una variedad negra de *Hibiscus var. sabdariffa* sin extracción (%H = 8.09, %C = 8.4, %FDS = 0.2 y FDI = 5.5), mostraron valores significativamente diferentes en cuanto al contenido de FDS y FDI, así como en la humedad.



**Figura 1.** Análisis bromatológicos de polvos de flor de jamaica gastada expresados en porcentaje. <sup>a-d</sup> Medias con letra en común en cada parámetro evaluado no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Existieron diferencias significativas para los parámetros bromatológicos entre los diferentes tamaños de partícula de los polvos de jamaica gastados, donde a menor tamaño de partícula menor humedad, FDS y FDI, pero mayor contenido de cenizas, proteína, grasa y carbohidratos. Existen pocos estudios que indiquen la composición de la flor de jamaica gastada, sin embargo, Sayago-Ayerdi *et al.*, (2012) en su estudio evaluaron la composición de polvos de flor de jamaica después de un proceso de

extracción en una relación 1:20 (p/v) por 5 min a 100 °C y obtuvieron valores similares a los obtenidos en este trabajo en la mayoría de los parámetros con excepción del contenido de FDS y FDI, puesto que sus valores son inferiores (FDS = 7 – 9.8 y FDI = 12.5 – 15.6) a los obtenidos en este trabajo (FDS = 16 – 21 y FDI = 44 – 48) respectivamente, lo que sugiere que el residuo todavía estaba lleno de compuestos extraíbles, tales como sólidos solubles. Estos resultados se pueden correlacionar estrechamente con los obtenidos por Mauto *et al.*, (2015) quienes estudiaron polvos gastados de flor de jamaica obtenidos de diferentes procesos de extracción y reextracción en relación p/v, y pudieron observar que las variables cantidad de disolvente, tiempo de extracción y temperatura tienen un rol significativo en la composición de los polvos de flor de jamaica gastados, ya el aumento de la temperatura en condiciones ácidas (pH < 2.5) puede conducir a la despolimerización de algunos polisacáridos que producen niveles de FDS más altos, y que permanecieron en la matriz a bajos volúmenes de extracción. Pero cuando el volumen de disolvente se incrementó hasta un cierto nivel, el hidrolizado y / o algunas fracciones pécticas se solubilizaron y se lavaron en el disolvente, lo que llevó a una disminución de FDS a volúmenes de extracción más altos. La solubilización puede deberse a la unión al agua de los grupos hidroxilo libres de la FDI. En este estudio podemos complementar dichos resultados teniendo en cuenta que el tamaño de partícula también influye en la composición de estos polvos gastados, ya que, a menor tamaño de partícula, se pueden observar menores contenidos de FDS y FDI, lo cual incrementa el campo de aplicación de estos polvos en el desarrollo de nuevas matrices alimenticias según el tamaño de partícula.

**Tabla I.** Contenido de compuestos fenólicos solubles totales en polvos de flor de jamaica gastada y un control sin extracción

<b>Muestra</b>	<b>Fenoles solubles totales (mg Eq. AG/ g de BS)</b>	<b>Fenoles solubles totales (mg Eq. AC/ g de BS)</b>
JSE	6.216 ± 0.281 <sup>b</sup>	56.579 ± 1.221 <sup>c</sup>
J50	2.641 ± 0.135 <sup>a</sup>	25.125 ± 0.752 <sup>a</sup>
J60	2.787 ± 0.044 <sup>a</sup>	25.862 ± 0.752 <sup>ab</sup>
J80	2.632 ± 0.274 <sup>a</sup>	26.449 ± 0.501 <sup>b</sup>
<b>ANOVA</b>	0.0001	0.0001

Medias de las tres dos por diez repeticiones ± SD. Eq. AG = equivalentes a ácido gálico; Eq. AC = equivalentes a ácido clorogénico; BS = base seca. <sup>a-d</sup> Medias con letra en común en cada parámetro evaluado no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Las especificaciones microbiológicas para la flor (cáliz) de jamaica de la NMX-FF-116-SCFI-2010 para las muestras JSE y J50, J60 y J80 para coliformes totales en placa se encuentran dentro del límite de 10 UFC/g max, sin embargo, para JSE sobrepasa el límite de bacterias mesofílicas aerobias UFC/g (100 UFC/g máx) con 535 UFC/g, con las muestras J50, J60 y J80 se obtuvieron recuentos por debajo del límite. Para mohos y levaduras todas las muestras presentan recuentos superiores de 10 UFC /g límite máximo según la NMX-FF-116-SCFI-2010 .

La Tabla 1, muestra los resultados obtenidos del análisis de compuestos fenólicos solubles totales presentes en las diferentes muestras expresados como equivalentes de ácido gálico y ácido clorogénico, en donde podemos observar que en ambos patrones existen diferencias significativas entre la muestra control sin extracción (FST = 6.21 ± 0.28 mg Eq. AG/ g de BS y FST = 56.57 ± 1.221 mg Eq. AC/ g de BS) y con los polvos de flor de jamaica gastados (FST = ~2.6 ± 0.1 mg Eq.

AG/ g de BS y FST =  $\sim 25.4 \pm 0.4$  mg Eq. AC/ g de BS), donde podemos observar que durante el proceso de extracción se pierden un poco más de la mitad de estos compuestos. Dichas diferencias eran de esperarse puesto que en el proceso de extracción no solo se pierden la mitad de los carbohidratos disponibles, si no, que también una gran cantidad de estos compuestos funcionales, resultados similares fueron obtenidos por Mauto *et al.*, (2015) y Sayago-Ayerdi *et al.*, (2012) tanto en muestras sin extracción (15 -20 g/ kg eq AG) como en polvos de flor de jamaica gastada respectivamente (5.3-13 g/kg eq AG y 1-8.4 g/kg eqAG). A pesar de esta pérdida de FST, se puede establecer que del proceso de extracción queda un subproducto con importantes características funcionales, capaces de inducir efectos protectores como cardioprotección, actividad antimutagénica y algunas propiedades antimicrobianas. Desde el punto de vista nutricional, pueden ejercer efectos fisiológicos, puesto que estos compuestos se vinculan estrechamente a la FDI y la FDS, lo que hace que estas funcionen como fibras dietéticas antioxidantes, cuyo aprovechamiento es directamente en el colón, donde por medio de la fermentación pueden ser liberados, y se pueden unir a los radicales libres que generan enfermedades como el cáncer de colon (Goñi *et al.*, 2005; Saura-Calixto *et al.*, 2007; Marston & Hostettman *et al.*, 2006; Sayago-Ayerdi *et al.*, 2007; Juliani *et al.*, 2009; Mauto *et al.*, 2015; Romo *et al.*, 2019).

En la Tabla 2, se pueden observar los resultados de la caracterización fisicoquímica, donde se presentaron diferencias significativas en cada uno de los parámetros fisicoquímicos evaluados, entre JSE (pH = 2.2, °Bx = 4.6, %S = 40.12 y %CRA = 2.9 y %CRAC = 3.7) y los polvos de flor de jamaica gastados (J50, J60 y J80), presentando estos últimos un pH más alto (pH = 2.3-2.4), pero valores dentro de la NMX-FF-116-SCFI-2010, es decir son menos ácidos, contienen un menor contenido de sólidos solubles (°Bx = 1.5-1.7) tienen menor solubilidad (%S = 12.9-13.9), pero presentan una mayor capacidad de retención de agua y aceite respectivamente (%CRA = 6.5-7.4 y %CRAC = 4.7-5.1).

Los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica reflejan las posibles funciones tecnológicas que pueden tener dichos polvos, ya que al ser un polvo con pH bajo, CRA y CRAC significativas, pueden servir para mejorar las características reológicas de diversas matrices alimenticias en conjunto con sus propiedades nutritivas, sirviendo como ingredientes en el desarrollo de alimentos tales como mermeladas, galletas, waffles y queso petit suisse para sustituir ingredientes como colorantes, saborizantes, o mejoradores de textura.

**Tabla II.** Análisis fisicoquímicos en polvos de flor de jamaica gastada y un control sin extracción

Muestra	pH	%Sólidos solubles	%Acidez	%Solubilidad	% CRA	%CRAC
JSE	2.20 ± 0.00 <sup>a</sup>	4.633 ± 0.115 <sup>c</sup>	15.851 ± 0.037 <sup>c</sup>	40.122 ± 1.996 <sup>b</sup>	2.910 ± 0.271 <sup>a</sup>	3.775 ± 0.094 <sup>a</sup>
J50	2.23 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.500 ± 0.000 <sup>a</sup>	10.667 ± 0.148 <sup>b</sup>	12.984 ± 0.267 <sup>a</sup>	7.220 ± 0.497 <sup>b</sup>	5.045 ± 0.425 <sup>b</sup>
J60	2.37 ± 0.06 <sup>b</sup>	1.633 ± 0.115 <sup>ab</sup>	10.133 ± 0.297 <sup>a</sup>	13.137 ± 0.471 <sup>a</sup>	6.555 ± 0.641 <sup>b</sup>	4.757 ± 0.550 <sup>ab</sup>
J80	2.40 ± 0.00 <sup>b</sup>	1.733 ± 0.058 <sup>b</sup>	9.813 ± 0.149 <sup>a</sup>	13.986 ± 0.114 <sup>a</sup>	7.488 ± 0.660 <sup>b</sup>	5.164 ± 0.572 <sup>b</sup>
<b>ANOVA</b>	0.0007	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0208

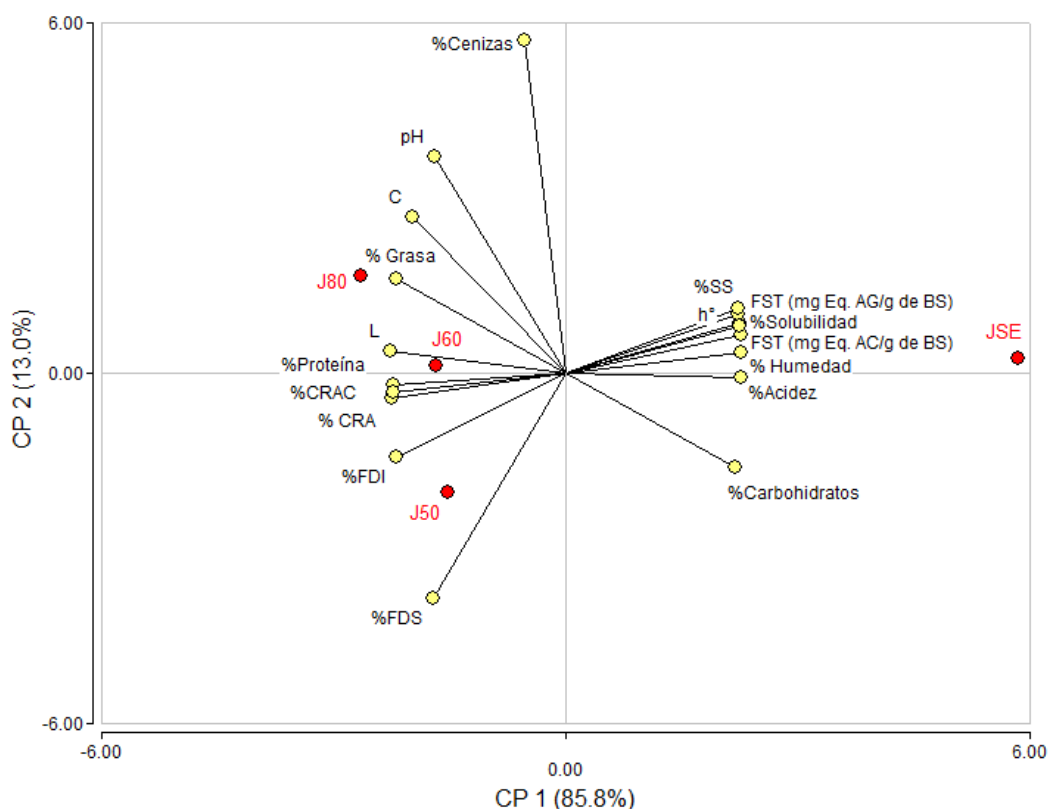
Medias de las seis mediciones por triplicado ± SD. %CRA= capacidad de retención de agua; %CRAC=capacidad de retención de aceite. <sup>a-d</sup> Medias con letra en común en cada parámetro evaluado no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

En la Tabla 2, se pueden observar los resultados obtenidos de la medición del color. El color de las muestras es significativamente diferente teniendo como tendencia colores más rojizos y menos violáceos al disminuir el tamaño de partícula de los polvos

**Tabla III.** Análisis de color en polvos de jamaica sin extracción (JSE) y gastada (J50, J60 y J80)

Muestra	L	C	h°
JSE	17.79 ± 2.23 <sup>a</sup>	6.32 ± 0.78 <sup>a</sup>	43.39 ± 2.05 <sup>c</sup>
J50	46.49 ± 0.85 <sup>b</sup>	9.21 ± 0.39 <sup>b</sup>	21.59 ± 0.64 <sup>a</sup>
J60	46.96 ± 0.54 <sup>b</sup>	10.09 ± 0.34 <sup>b</sup>	21.86 ± 1.04 <sup>a</sup>
J80	53.34 ± 0.82 <sup>c</sup>	13.21 ± 0.40 <sup>c</sup>	23.57 ± 1.67 <sup>b</sup>
<b>ANOVA</b>	0.0001	0.0001	0.0001

Medias de las tres mediciones por diez repeticiones ± SD. L = luminosidad; C = croma; h° = tono. <sup>a-d</sup> Medias con letra en común en cada parámetro evaluado no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )



**Figura 2.** Biplot de Forma Multivariante de los polvos de flor de jamaica gastada y su control sin extracción.

En la Figura 2, se puede observar el análisis de componentes principales realizado, donde se logró observar que las componentes uno (CP1) y dos (CP2) con valor propio de 15.45 y 2.34, representaron el 85.5% y el 13% de la variabilidad total, respectivamente. Las componentes con valores propios  $\geq 1$  se consideran valiosas, ya que explican al menos tanta varianza como una sola variable (Jolliffe, 2002). La combinación de estas dos componentes por medio de un Biplot de Forma Multivariante de

Ordenación pudo explicar el 98.5% de la variabilidad acumulada de las variables, y se consideró que esto era suficientemente alto para una diferenciación confiable entre las características de las muestras, proporcionando la capacidad de agrupar estos polvos en grupos en función de la similitud de sus características bromatológicas y fisicoquímicas. Se puede observar que los tratamientos más afines a cada variable se localizan más cerca de la flecha, para el caso de los polvos de jamaica gastada existe un agrupamiento de estas muestras presentando mayor % cenizas, %grasa, %proteína, %CRA, %CRAC, %FDI, %FDS, un pH más alto, así como colores similares. Comparado con la muestra control que presento una menor cantidad de los componentes mencionados anteriormente pero un mayor %SS, FST (mg eq AG/g de BS), FST (mg eq Ac/g de BS), % humedad, % acidez, %carbohidratos y %solubilidad.

### CONCLUSIÓN

Los polvos de flor de jamaica gastada representan una fuente potencial para el uso como ingrediente en la industria alimentaria debido al alto nivel de contenido total de fibra dietética y el prometedor contenido de compuestos fenólicos, así como sus características fisicoquímicas. El tamaño de partícula de dichos polvos juega un papel de suma importancia ya que, entre mayor es el tamaño de partícula presenta un mayor contenido de FDS y FDI, pero un menor contenido de sólidos solubles, en comparación con los polvos con tamaños de partícula más pequeños que incluso presentan un contenido de minerales más elevados. Esta separación de los tamaños de partícula nos permite ampliar el espectro de aplicaciones como ingredientes de dichos polvos en el desarrollo de nuevas matrices alimenticias, ya que polvos con partícula más grande pudieran ser utilizados para mejorar en contenido de FDS y FDI, así como de FPS, sin añadir una cantidad considerable de sólidos solubles, y de esta manera poder satisfacer la creciente demanda actual de alimentos más bajos en carbohidratos, pero altos en proteína y fibra.

### BIBLIOGRAFÍA

- Cury R, K., Aguas M, Y., Martinez M, A., Olivero V, R., & Chams Ch, L. (2017). Residuos agroindustriales su impacto, manejo y aprovechamiento. *Revista Colombiana De Ciencia Animal - RECIA*, 9(S1), 122–132. <https://doi.org/10.24188/recia.v9.nS.2017.530>
- Chacon-Olivares, M., Pacheco-Rivera, A., Cendejas-López, M., & Ortega-Herrera, F. (2016). Tendencia del crecimiento en la cultura del reciclaje. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*, 63–72.
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M. (2014). Hibiscus sabdariffa L. - a phytochemical and pharmacological review. *Food chemistry*, 165, 424–443. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.002>
- Fernández-López, Juana & Sendra, Esther & Sayas-Barberá, E. & Navarro Rodríguez De Vera, Casilda & Pérez-Álvarez, Jose. (2008). Physio-chemical and microbiological profiles of “Salchichon” (Spanish dry-fermented sausage) enriched with orange fiber. *Meat science*. 80. 410-7. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.01.010>.
- Goñi, I. and Serrano, J. (2005), The intake of dietary fiber from grape seeds modifies the antioxidant status in rat cecum. *J. Sci. Food Agric.*, 85: 1877-1881. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2213>
- Hassan, F. A., Ismail, A., Hamid, A. A., Azlan, A., & Al-sheraji, S. H. (2011). Characterisation of fibre-rich powder and antioxidant capacity of Mangifera pajang K. fruit peels. *Food Chemistry*, 126(1), 283-288.

- Jolliffe, I. T. (2002). Graphical representation of data using principal components. *Principal component analysis*, 78-110.
- Juliani, H. R., Welch, C. R., Wu, Q., Diouf, B., Malainy, D., & Simon, J. E. (2009). Chemistry and quality of Hibiscus (*Hibiscus sabdariffa*) for developing the natural-product industry in Senegal. *Journal of food science*, 74(2), S113–S121. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01076.x>
- Marston A and Hostettmann K, (2006). Separation and quantification of flavonoids, In: O.M. Andersen and K.R. Markham, Eds., *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*, CRC Press, USA, 2005, pp. 1-36. <http://dx.doi.org/10.1201/9781420039443.ch1>
- Martínez-Cervera, S., Salvador, A., Muguerza, B., Moulay, L., Fiszman, S.M. (2011). Cocoa fibre and its application as a fat replacer in chocolate muffins. *LWT - Food Science and Technology*. Vol. 44(3):729-736. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.06.035>
- Mouto Kalla, Liliane & Nso Jong, Emmanuel & Kayem, Joseph & Sreekumar, M.M. & Nisha, Prakasan. (2015). Effect of re-extraction parameters and drying temperature on the antioxidant properties and dietary fiber of Red sorrel (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces residues. *Industrial Crops and Products*. 74. 680-688. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.028>.
- Nigam, P., Gupta, N. & Anthwal, A. (2009). Pre-treatment of Agro-Industrial Residues. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9942-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9942-7_2).
- Romo-Zamarrón, K. , Pérez-Cabrera, L. and Tecante, A. (2019) Physicochemical and Sensory Properties of Gummy Candies Enriched with Pineapple and Papaya Peel Powders. *Food and Nutrition Sciences*, 10, 1300-1312. doi: <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2019.1011094>.
- Sadh, P.K., Duhan, S. & Duhan, J.S. (2018) Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. *Bioresour. Bioprocess.* 5, 1. <https://doi.org/10.1186/s40643-017-0187-z>
- Sánchez-Zapata E., Fernández-López J., M. Peñaranda, E. Fuentes-Zaragoza, E. Sendra, E. Sayas, J.A. Pérez-Alvarez. (2011). Technological properties of date paste obtained from date by-products and its effect on the quality of a cooked meat product. *Food Research International*. 44. 2401–2407. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.04.034>.
- Saura-Calixto, F., Serrano, J., Goñi, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*. 101. 492-501. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.006>.
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Arranz, S., Serrano, J., & Goñi, I. (2007). Dietary fiber content and associated antioxidant compounds in Roselle flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(19), 7886–7890. <https://doi.org/10.1021/jf070485b>
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Moreno-Hernández, C. L., Montalvo-González, E., García-Magaña, M. L., de Oca, M. M.-M., Torres, J.L., y Pérez-Jiménez, J. (2012). Mexican ‘Ataulfo’ Mango (*Mangifera indica* L) as a source of hydrolyzable tannins. Analysis by MALDI-TOF/TOF MS. *Food Research International*. 51. 188-94. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.11.034>.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. (1999) Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178. [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

## Efecto de los pretratamientos físico, químico y biológico, en la hidrólisis enzimática de la cáscara de piña (*Ananas comosus*)

M.R. González-González\*<sup>1</sup>, R. Miranda-López<sup>1</sup> y J.E. Botello-Alvarez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tecnológico Nacional de México en Celaya, Tecnológico Nacional de México, Doctorado en Ciencias de la Ingeniería. Antonio García Cubas 600, Fovissste, 38010, Celaya, Guanajuato, México.

\*[marglez.ibq@live.com.mx](mailto:marglez.ibq@live.com.mx)

### RESUMEN

La piña ocupa el tercer lugar de frutos tropicales cultivados en el mundo. La cáscara corresponde por lo menos al 25% del peso total del fruto, y posee importante actividad biológica como antioxidante. A la actualidad se ha empleado en la producción de biocombustibles, sin embargo, se busca que mediante la acción de las glicosil hidrolasas (GH) se promueva la liberación de compuestos fenólicos, para ello los pretratamientos juegan un papel importante para promover la disponibilidad del sustrato a la enzima. El tratamiento físico (mecánico) reduce el tamaño de partícula, ejerciendo efectos favorables sobre la producción de glucosa y compuestos fenólicos. En el caso aquí descrito, el tratamiento químico con  $\text{CH}_3\text{COOH}$  y la  $\text{NaHCO}_3$  no producen cambios significativos, incluso reduce el avance de la hidrólisis. Finalmente, el tratamiento biológico con xilanasas causó la degradación de la hemicelulosa, reduciendo la barrera para la celulasas e incrementando la producción de glucosa. Se identificaron las condiciones óptimas de reacción para la GH. Para determinar el avance de la hidrólisis se midió la concentración de glucosa (mg/dL) y el contenido fenólico total (mg GAE/g muestra).

**Palabras clave:** Hidrólisis enzimática, *Ananas comosus*, glicosil hidrolasas, fenoles totales, cáscara, piña.

### ABSTRACT

The pineapple occupies the third place of cultivated tropical fruits in the world. The peel corresponds to at least 25% of the total weight of the fruit and has important biological activity as an antioxidant. At present it has been used in the production of biofuels, however, it is sought that through the action of glycosyl hydrolases (GH) the release of phenolic compounds is promoted, for this the pretreatments play an important role to promote the availability of the substrate to the enzyme. The physical (mechanical) treatment reduces the particle size, exerting favorable effects on the production of glucose and phenolic compounds. In the case described here, chemical treatment with  $\text{CH}_3\text{COOH}$  and  $\text{NaHCO}_3$  do not produce significant changes, even reducing the progress of hydrolysis. Finally, the biological treatment with xylanases caused hemicellulose degradation, reducing the cellulase barrier and increasing glucose production. Optimal reaction conditions for GH were identified. To determine the progress of hydrolysis, glucose concentration (mg/dL) and total phenolic content (mg GAE/g sample) were measured.

**Key words:** Enzymatic hydrolysis, *Ananas comosus*, glycosyl hydrolases, total phenols, peel, pineapple.



### INTRODUCCIÓN

La piña es considerada el tercer cultivo de frutas tropicales más importante a nivel mundial, en 2019 alcanzó una producción total de 29.40 millones de TM (FAOSTAT, 2020). El 80% de la producción mundial es utilizada por la industria procesadora, la cual genera alrededor de 5.50 millones de TM anuales de cáscara, esto se ve reflejado como un problema creciente ya que es propensa a la descomposición microbiana y causa graves problemas ambientales. Por otro lado, la cáscara de piña está compuesta principalmente por fibra dietaria, pectinas, azúcares, polifenoles, vitaminas, minerales y posee importante actividad biológica como antioxidante, antimicrobiana y efecto protector gastrointestinal (Hu *et al.*, 2019). La cáscara de piña posee un mayor contenido de compuestos fenólicos incluso que la propia pulpa (Da Silva *et al.*, 2014). Dadas las características nutricionales, las propiedades bioactivas y el problema que genera su disposición, este subproducto se puede considerar como materia prima de uso potencial para la generación de productos con valor agregado.

La piña posee microfibrillas insolubles de celulosa, altamente ordenadas y fuertemente empaquetadas, esto debido a su asociación con otras sustancias como lignina y hemicelulosa, dando como resultado morfologías complejas y heterogéneas que encapsulan los compuestos bioactivos (Seguí & Fito Maupoey, 2018). La descomposición mecánica y bioquímica de la matriz de la planta durante la ruptura celular, permite la liberación de compuestos bioactivos y cadenas cortas de fibra dietaria portadora de una cantidad significativa de polifenoles, que pueden ejercer funciones biológicas asociadas con su consumo (González *et al.*, 2017).

La hidrólisis enzimática de matrices lignocelulósicas, consiste en mediante la adición de enzimas específicas lograr la degradación de la pared celular, la hidrólisis de la celulosa se obtiene mediante la interacción cooperativa de las GH (Moreda-Piñeiro *et al.*, 2018). El grado de polimerización de las celulasas afecta la actividad relativa de las enzimas, al reducirse el tamaño de partícula, el grado de polimerización de la cadena de celulosa se ve reducido, y facilita la posterior hidrólisis enzimática (Kafle *et al.*, 2015). Diferentes autores demuestran que pretratamientos químicos promueven una degradación de la barrera física generada por la lignina, dando como resultado un mejor acceso por parte de las GH a la cadena de celulosa. La hemicelulosa por su parte juega un papel importante en restringir el acceso de las celulasas, por lo que, enzimas auxiliares tales como las xilanasas, reducen la barrera generada por la hemicelulosa, proporcionando mejores rendimientos durante la hidrólisis enzimática (Wojtusik, 2019). En el presente trabajo se analizó el tamaño de partícula de la cáscara de piña, la aplicación de un medio ácido o base para la degradación de la lignina, así como el tratamiento biológico con xilanasas para lograr una hidrólisis enzimática más efectiva, utilizando como variable de respuesta el contenido de fenoles totales y el contenido de glucosa en las muestras hidrolizadas, todo esto con la finalidad de lograr la hidrólisis de la pared celular de la cáscara de piña, liberar una mayor cantidad de compuestos fenólicos y en una posterior investigación generar productos de valor agregado a partir de los hidrolizados.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 1.1 La piña

La piña variedad Cayena Lisa se adquirió en la central de Abastos de Celaya Gto. El fruto tiene su procedencia del pueblo de Isla del estado de Veracruz y de Compostela Nayarit, fue adquirida con una madurez mínima de  $\frac{3}{4}$  (NMX-FF-028-1995). Se lavó y sanitizó con hipoclorito de sodio a 200 ppm.

#### 1.2 Pretratamientos

Como pretratamientos se llevaron a cabo la reducción del tamaño de partícula de la cáscara de piña; el tratamiento químico ácido y base y el tratamiento biológico con xilanasas. Posteriormente las muestras tratadas se hidrolizaron con Celulasas, a una temperatura de 50 °C y una agitación de 150 rpm. Junto al pretratamiento se describen las condiciones de hidrólisis consideradas para cada experimento.

### 1.2.1 Pretratamiento físico, tamaño de partícula

En cuanto al tamaño de partícula se consideraron dos factores, el primero de ellos consistió en trocear la cáscara a un tamaño de 1 cm<sup>3</sup> aproximadamente, el segundo fue una molienda fina colocando la cáscara en un procesador de alimentos (Nutribullet 900 W) durante 60 segundos.

A la par del tratamiento físico, se corrió un experimento donde se observó la hidrólisis con dos tipos de enzimas, la “Enzima S” que corresponde a un coctel enzimático de GH > 5000 U/g, y la “Enzima C” celulasas de *Trichoderma reesei* >700 U/g. El experimento se llevó a cabo en una proporción 1:3 cáscara de piña: agua destilada, a una concentración de enzima S de 0.40% y para C de 0.52 % con respecto a la muestra en fresco. La hidrólisis se llevó a cabo en una incubadora con agitación (marca Shel lab modelo SS15) a una temperatura de 50 °C y una agitación de 150 rpm., se midió el contenido de fenoles totales cada 2 horas durante 24 horas. Se eligió la enzima S y la muestra molida para continuar con la experimentación y observar el efecto de los tratamientos químicos y biológicos.

### 1.2.2 Pretratamiento químico ácido y base

Se realizó un pretratamiento ácido y uno básico, los tratamientos consistieron en dejar en reposo la cáscara de piña en una solución de ácido acético en agua destilada al 5%, y una solución de bicarbonato de sodio al 9% durante 8 horas, se efectuó un lavado con agua destilada seguido de un ajuste de pH con bicarbonato de sodio hasta 5.5 y 6, a la par se corrió un hidrolizado sin tratamiento previo únicamente ajustando el valor de pH al reportado previamente. Posteriormente se efectuó la hidrólisis durante 10 horas, utilizando la misma proporción y condiciones de temperatura y agitación de la enzima S reportado en el experimento previo. Se midió el contenido de fenoles totales al inicio y término del proceso.

### 1.2.3 Pretratamiento biológico con xilanasas

Se consideró la muestra molida, se colocó la xilanasas (Pentopan mono BG) a una relación enzima sustrato del 5% y se hidrolizó a tres temperaturas, 45, 50 y 55 °C durante 72 horas. Se llevó a cabo la medición de glucosa liberada cada 12 horas durante la hidrólisis.

#### 1.2.3.1 Hidrólisis enzimática de los diferentes pre-tratamientos biológicos

Los hidrolizados previos denominados TP45C, TP50C y TP55C (correspondiente a las temperaturas del pretratamiento de 45, 50 y 55 °C, respectivamente) fueron sometidos a una segunda hidrólisis enzimática esta vez con la enzima S, bajo las condiciones previamente descritas.

### 1.3 Análisis

Se midió el contenido de fenoles totales para monitorear el avance de la hidrólisis del pretratamiento físico, para ello se siguió la metodología de Folin Ciocalteu reportada por Banerjee *et al.*, (2018). Se realizó una extracción fenólica con metanol de la cáscara de piña. Se generó una curva estándar con ácido gálico y se preparó la muestra problema con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20% y el reactivo de Folin, después de una agitación vigorosa y reposo de 2 horas se leyó la muestra en un espectrofotómetro de masas a 760nm.

Para la determinación de glucosa se consideró un medidor de glucosa de marca Accu-Chek performance, la medición se llevó a cabo en el sobrenadante en disolución 1:10 con agua destilada. Modificación de lo realizado por Pocan *et al.*, (2018)

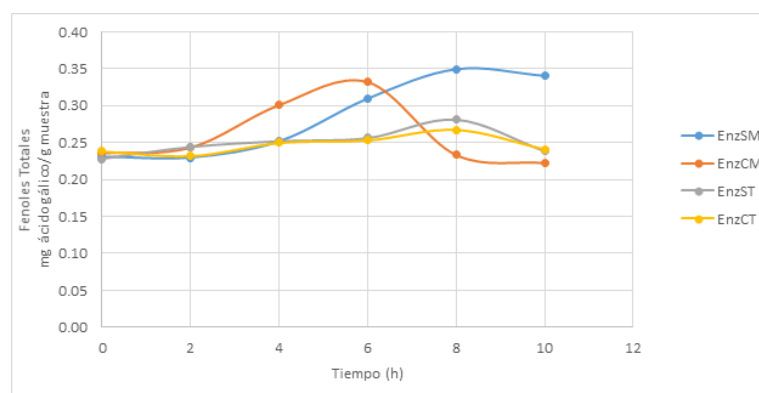
Los datos se expresan como media de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar. Se llevó a cabo un ANOVA para identificar las diferencias existentes entre los tratamientos y el tiempo de proceso para cada uno de los análisis, posteriormente se realizó un post hoc de Tuckey con un intervalo de confianza de 0.05 y una diferencia intermuestral de  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 2.1 Efecto del pretratamiento físico de molienda y tipo de enzima

En la figura 2.1 se puede apreciar el contenido de fenoles totales durante 10 horas de hidrólisis, el producto EnzSM corresponde a la hidrólisis enzimática con la enzima S y pretratamiento de molienda, este presenta una tendencia creciente hasta la hora 8 de trabajo, que fue donde se apreció el mayor contenido de compuestos fenólicos de los 4 tratamientos. El experimento EnzCM mostró un incremento de compuestos fenólicos hasta la hora 6 y posterior decremento. El ensayo EnzST presentó un ligero incremento en el contenido de compuestos fenólicos hasta la hora 8; comportamiento muy semejante al ocurrido en EnzCT. No existen diferencias significativas en el contenido de compuestos fenólicos para los diferentes tratamientos.

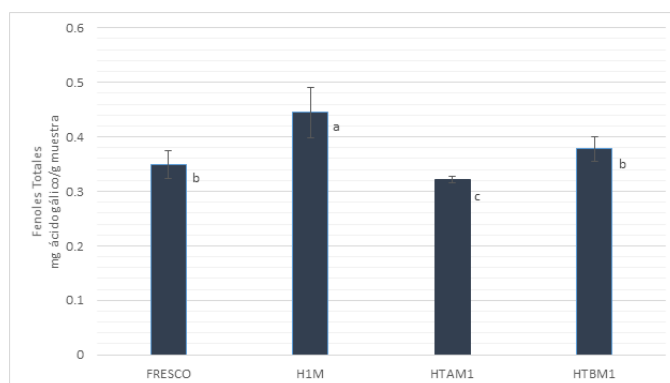
En el caso de la accesibilidad de las GH comprenden principalmente los elementos estructurales presentes en el sustrato. El grado de polimerización de las celulasas afecta la actividad relativa de las GH, al incrementarse o verse reducidos los sitios de unión relacionados directamente con la longitud de la cadena. Al extenderse la cadena de glucano, también se incrementa la cantidad de enlaces entre las microfibrillas, aumentando la resistencia a la hidrólisis (Kafle *et al.*, 2015; Zoghلامي & Paës, 2019). Al reducirse el tamaño de partícula, el grado de polimerización de la cadena de celulosa se ve aminorado, generando mayor actividad enzimática como ocurre con la muestra molida a diferencia de la troceada. Por otro lado, el uso del coctel enzimático (enzimas S) que posee hemicelulasas, reduce la cadena de xilano promoviendo el acceso de las GH a la celulosa. Es por ello que en posteriores experimentos se utiliza la muestra molida y la enzima S.



**Figura 2.1** Contenido de fenoles para el diseño factorial  $2^2$ . Media de 3 repeticiones. Medición mostrada de 10 horas de hidrólisis para enzima S y enzima C, así como pretratamiento de molido y troceado. No hay diferencias significativas por efecto de los pretratamientos.

### 2.2 Pretratamiento ácido y base.

Debido a que el producto está enfocado hacia el consumo se consideran ácidos y bases comunes en la alimentación humana (cómo el ácido acético y el bicarbonato de sodio). En la **figura 2.2** se aprecia la medición de los compuestos fenólicos en mg de ácido gálico por gramo de muestra, la medición se llevó a cabo al finalizar la hidrólisis tras 8 horas de proceso. Se comparó una muestra en fresco molida y sin tratamiento químico (H1M), una muestra molida con tratamiento ácido (HTAM) y finalmente una con tratamiento básico (HTBM). También es posible observar la medición en fresco de la cáscara. La mayor cantidad de compuestos fenólicos al término del proceso se observó en la muestra a la que se le ajustó únicamente el pH, sin tratamientos químicos.



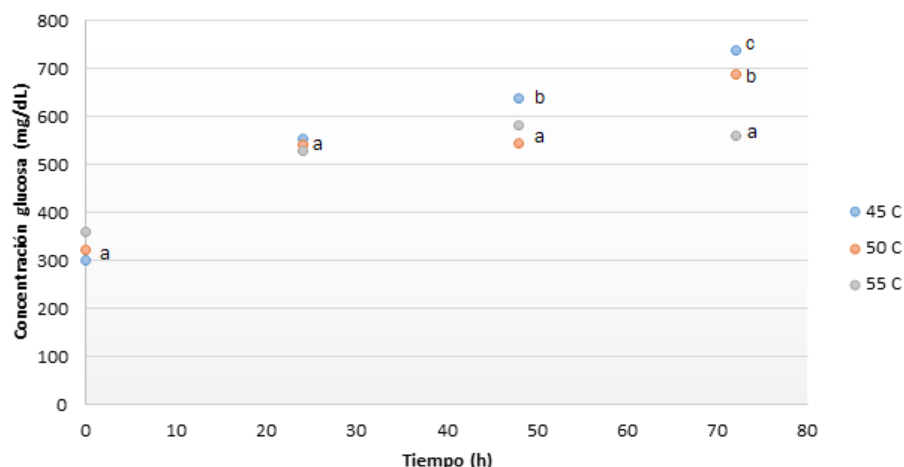
**Figura 2.2.** Contenido de compuestos fenólicos totales en pretratamientos químicos. Letras iguales no presentan diferencia significativa por efecto del pre-tratamiento. Tuckey ( $p < 0.05$ ).

De acuerdo a lo descrito previamente se confirma que el ajuste de pH en las muestras mejora la hidrólisis enzimática. Los tratamientos ácido-base se descartan como pretratamientos para la hidrólisis enzimática al no generar cambios significativos en las muestras. Huang *et al.*, (2015) demostraron que los pretratamientos a base de ácido y álcali no son efectivos para mejorar la sacarificación enzimática del bambú, lo cual puede estar relacionada por el alto contenido de lignina presente en la muestra, semejante al 10% de lignina de la porción de fibras en la cáscara de piña, o bien como inhibición de la actividad enzimática atribuido al pretratamiento por la presencia del alcohol p-cumarílico y coniferílico.

Existen diferentes toxinas solubles en el medio hidrolítico que puede generar la desactivación enzimática, o bien generar la precipitación proteica de la enzima, uno de ellos corresponde a la generación de compuestos durante el proceso, como los compuestos fenólicos derivados de la lignina, esto debido a que el grupo OH podría formar puentes de hidrógeno con el residuo aminoacídico de las celulasas, ocupando el sitio activo e impidiendo la acción enzimática sobre la celulosa y por ende reduciendo el contenido final de compuestos fenólicos (Yao *et al.*, 2018). Otros inhibidores son los residuos de los pretratamientos, principalmente del tipo químico para lograr la amorfogénesis de la lignina, estos pueden verse reducidos al llevar a cabo un lavado abundante de la materia prima posterior al tratamiento (Agrawal *et al.*, 2021). Ahmed *et al.*, (2019) concluye que un secado posterior al pretratamiento y lavado secuencial, reduce la cantidad de toxinas solubles del producto.

### 2.3 Pretratamiento enzimático

Se llevó a cabo la hidrólisis enzimática a 45, 50 y 55 °C de la cáscara de piña con xilanasas durante 72 horas, durante el procesamiento enzimático se realizó la medición de glucosa en las muestras, observándose un incremento de 300 a 700 mg/dL principalmente en las muestras trabajadas a 45 y 50 °C. Se observaron diferencias significativas en la hora 48 y 72 entre las 3 temperaturas (**figura 2.3**).



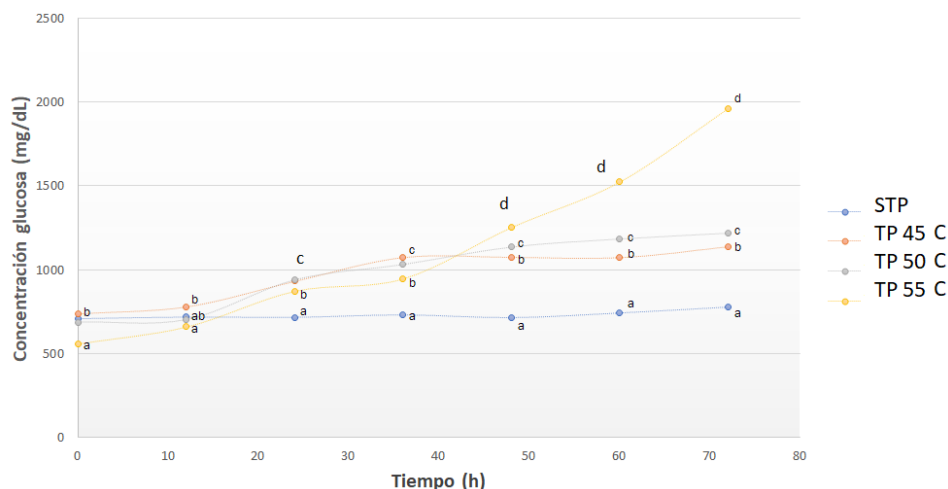
**Figura 2.3** Hidrólisis enzimática de cáscara de piña con xilanasas. Medía de 3 repeticiones, letras iguales no presentan diferencia significativa por efecto de la temperatura. Tuckey ( $p < 0.05$ )

Dado que la hemicelulosa generalmente recubre a las microfibrillas en la pared celular de la planta, y forman una barrera física para la degradación eficiente, es considerada un obstáculo para la digestibilidad enzimática (Hu *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019). Debido a ello se realizó el tratamiento enzimático previo para promover la ruptura de cadenas de celulosa. Las xilanasas se han aplicado para degradar el xilano y romper los enlaces químicos entre la hemicelulosa y las microfibrillas de celulosa, facilitando la sacarificación enzimática de la biomasa pretratada (Huang *et al.*, 2019). Prueba de ello es el contenido de glucosa que se incrementa en el medio durante la hidrólisis enzimática.

El uso de xilanasas se ha extendido para la obtención de xilooligosacáridos con excelente actividad antioxidante (Huang *et al.*, 2019). En un estudio se realizó el tratamiento del bambú moso y se obtuvieron xilooligosacáridos que promovían la producción de *Lactobacillus acidophilus* que mejoran la salud intestinal (Antov & Đorđević, 2017).

### 2.3.1 Hidrólisis enzimática de los diferentes pre-tratamientos biológicos

Posterior a la hidrólisis con xilanasas y subsecuente desactivación de la misma (5 min, 100 °C), se procedió a la adición de celulasas con la finalidad de romper las cadenas de celulosa en la matriz de la cáscara de piña. Como previamente se ha descrito las GH en acción sinérgica rompen los enlaces  $\alpha$ -1,4 glucosídicos de celulosa transformándola en glucosa libre, por tal motivo se midió la glucosa presente en las muestras en ambas de hidrólisis. En la **figura 2.4** se muestra la concentración de glucosa durante la hidrólisis.



**Figura 2.4.** Efecto del pretratamiento en la concentración de glucosa. Media de 3 repeticiones. Letras iguales no presentan diferencias significativas por efecto del pretratamiento. Tukey ( $p < 0.05$ ).

Como se puede observar en la figura el experimento sin tratamiento previo (STP) no presenta diferencias significativas a lo largo del tiempo de proceso. En TP45C se puede apreciar el incremento de glucosa en el sobrenadante de 700mg/dL aproximadamente hasta los 1150 mg/dL en la última evaluación, lo cual indica que la hidrólisis se está llevando a cabo en la muestra. Para TP50C, se observa un incremento de la concentración de glucosa en el sobrenadante de la muestra del tiempo 0 al final del proceso, de 700mg/dL de glucosa hasta 1200 mg/dL, un comportamiento semejante al tratamiento anterior. Finalmente, en TP55C se tiene un incremento exponencial de la concentración de glucosa en la muestra de 600mg/dL hasta casi 2000mg/dL, dicha concentración fue la más alta observada de los tres tratamientos previamente descritos. Si se obtuvieron diferencias significativas por efecto del tiempo de proceso en los tratamientos con xilanasas (figura 2.4)

Las xilanasas son un soporte para aumentar la accesibilidad de la celulasa para actuar en la celulosa, al degradar el recubrimiento de xilano alrededor de las fibras, las estructuras de los carbohidratos complejos unidos a éster, así como los restos de lignina acetilados en el enlace  $\beta$  de la biomasa (Ponnusamy *et al.*, 2019). Es por ello que los resultados aquí descritos demuestran que el tratamiento biológico es prometedor para eficientar la hidrólisis enzimática, y que la temperatura a 55° C del pretratamiento genera una mayor sacarificación en la hidrólisis posterior.

## CONCLUSIÓN

El tratamiento físico de molienda fina reduce el tamaño de partícula, disminuye el grado de polimerización de la matriz lignocelulósica, aumenta el área de acción de las glicosil hidrolasas observándose como un incremento en el contenido de fenoles totales de la cáscara hidrolizada.

Los tratamientos ácido-base se descartan como pretratamientos para la hidrólisis enzimática al no generar cambios significativos en las muestras, atribuido a una posible inhibición de la actividad enzimática por la presencia de los aholes al degradar la lignina.

El tratamiento biológico con xilanasas efectivamente promueve la degradación de la hemicelulosa, dejando disponible la celulosa a la acción de la enzima, liberando de esta manera moléculas de glucosa de los hidrolizados, esto se concluye al comparar las muestras con tratamiento enzimático previo y aquel sin pretratamiento. De acuerdo con los resultados obtenidos se resalta la idea que la enzima a 55° C en el pretratamiento, promueve una mayor cantidad de glucosa al llevarse a cabo la segunda hidrólisis, es

decir refleja un mayor avance en la hidrólisis de la matriz lignocelulósica, atribuido a una mejor degradación de la hemicelulosa a dicha temperatura.

## BIBLIOGRAFÍA

- Agrawal, R., Verma, A., Singhanian, R. R., Varjani, S., Di Dong, C., & Kumar Patel, A. (2021). Current understanding of the inhibition factors and their mechanism of action for the lignocellulosic biomass hydrolysis. *Bioresource Technology*, 332(February), 125042. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125042>
- Ahmed, F., Yan, Z., & Bao, J. (2019). Dry biodegradation of acid pretreated wheat straw for cellulosic ethanol fermentation. *Bioresources and Bioprocessing*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s40643-019-0260-x>
- Antov, M. G., & Đorđević, T. R. (2017). Environmental-friendly technologies for the production of antioxidant xylooligosaccharides from wheat chaff. *Food Chemistry*, 235, 175–180. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.058>
- AOAC International. (1995). *Official methods of analysis of AOAC International*. Arlington, Va: AOAC International.
- Banerjee, S., Ranganathan, V., Patti, A., & Arora, A. (2018). Trends in Food Science & Technology Valorisation of pineapple wastes for food and therapeutic applications. *Trends in Food Science & Technology*, 82(March), 60–70. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.024>
- Da Silva, L. M. R., De Figueiredo, E. A. T., Ricardo, N. M. P. S., Vieira, I. G. P., De Figueiredo, R. W., Brasil, I. M., & Gomes, C. L. (2014). Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 143, 398–404. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.001>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). *FAOSTAT statistical database*. [Consultado:2022] :FAO.
- González-Aguilar, G. A., Blancas-Benítez, F. J., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2017). Polyphenols associated with dietary fibers in plant foods: molecular interactions and bioaccessibility. *Current Opinion in Food Science*, 13, 84–88. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.03.004>
- Hu, H., Zhao, Q., Xie, J., & Sun, D. (2019). Polysaccharides from pineapple pomace: new insight into ultrasonic-cellulase synergistic extraction and hypoglycemic activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 1213–1226. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.054>
- Huang, C., He, J., Li, X., Min, D., & Yong, Q. (2015). Facilitating the enzymatic saccharification of pulped bamboo residues by degrading the remained xylan and lignin-carbohydrates complexes. *Bioresource Technology*, 192, 471–477. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.008>
- Huang, C., Wang, X., Liang, C., Jiang, X., Yang, G., Xu, J., & Yong, Q. (2019). A sustainable process for procuring biologically active fractions of high-purity xylooligosaccharides and water-soluble lignin from Moso bamboo prehydrolyzate. *Biotechnology for Biofuels*, 12(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1527-3>
- Kafle, K., Shin, H., Lee, C. M., Park, S., & Kim, S. H. (2015). Progressive structural changes of Avicel, bleached softwood, and bacterial cellulose during enzymatic hydrolysis. *Scientific Reports*, 5(October), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep15102>
- Moreda-Piñero, J., Sánchez-Piñero, J., Mañana-López, A., Turnes-Carou, I., Alonso-Rodríguez, E., López-Mahía, P., & Muniategui-Lorenzo, S. (2018). Multi-element determinations in foods from Amazon region by ICP-MS after enzymatic hydrolysis assisted by pressurisation and microwave energy. *Microchemical Journal*, 137, 402–409. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.11.018>
- Pocan, P., Bahcegul, E., Oztop, M. H., & Hamamci, H. (2018). Enzymatic Hydrolysis of Fruit Peels and Other Lignocellulosic Biomass as a Source of Sugar. *Waste and Biomass Valorization*, 9(6), 929–937. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9875-3>

- Ponnusamy, V. K., Nguyen, D. D., Dharmaraja, J., Shobana, S., Banu, J. R., Saratale, R. G., Chang, S. W., & Kumar, G. (2019). A review on lignin structure, pretreatments, fermentation reactions and biorefinery potential. *Bioresource Technology*, 271, 462–472. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.070>
- Seguí, L., & Fito Maupoey, P. (2018). An integrated approach for pineapple waste valorisation. Bioethanol production and bromelain extraction from pineapple residues. *Journal of Cleaner Production*, 172, 1224–1231. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.284>
- Wojtusik, M. (2019). *Hidrólisis enzimática de materiales lignocelulósicos*.
- Yao, L., Yoo, C. G., Meng, X., Li, M., Pu, Y., Ragauskas, A. J., & Yang, H. (2018). A structured understanding of cellobiohydrolase i binding to poplar lignin fractions after dilute acid pretreatment. *Biotechnology for Biofuels*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1087-y>
- Zhang, X., Li, Y., & Hou, Y. (2019). Preparation of magnetic polyethylenimine lignin and its adsorption of Pb(II). *International Journal of Biological Macromolecules*, 141, 1102–1110. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.061>
- Zoghlami, A., & Paës, G. (2019). Lignocellulosic Biomass: Understanding Recalcitrance and Predicting Hydrolysis. *Frontiers in Chemistry*, 7(December). <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00874>



## Evaluación de las propiedades tecno-funcionales del almidón de camote (*Ipomoea batatas*)

N.S. Muñoz-Acuña\*<sup>1</sup>, J.G. Báez-González<sup>1</sup>, S.L. Castillo-Hernández<sup>1</sup>, E. García-Márquez<sup>2</sup> y M. Bautista-Villarreal<sup>1</sup>

**1** Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. Departamento de Alimentos. Av. Pedro de Alba s/n, Cd. Universitaria, C.P. 66455 San Nicolás de los Garza, México. **2** Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Unidad Noreste, Parque PIIT, Vía de la innovación 404, C.P. 66600 Apodaca, México. \*[minerva.bautistavl@uanl.edu.mx](mailto:minerva.bautistavl@uanl.edu.mx)

### RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar las propiedades tecno-funcionales del almidón de camote (*Ipomoea batatas*) para determinar las aplicaciones que puede tener como aditivo alimenticio. Primeramente se realizó la extracción del almidón por el método de (Ganga & Corke, 1999). Posteriormente se determinó la capacidad gelificante por el método de (Siddiq *et al.*, 2010) a diferentes concentraciones 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12%, 14% y 16% (%m/v) y se obtuvo del 10 al 16% una gelificación completa. La capacidad emulsionante se realizó de acuerdo al método de (Yasumatsu *et al.*, 1972) y fue de un 35.56%, La claridad del gel con el método de (Hazarika & Sit, 2016) se obtuvo un valor del 19.65 %, que muestra características de poca fuerza asociativa, lo que indica una mayor cantidad de amilosa. La determinación de la estabilidad al congelamiento-descongelamiento (Bello *et al.*, 2002) el gel a temperatura de refrigeración (4°C) con una sinéresis de valor máximo de 3% y para el porcentaje de amilosa y amilopectina, se realizó el análisis (Galicia, 2012) donde el contenido de amilosa fue de 27.14 % . El almidón de camote de acuerdo a sus propiedades tecno-funcionales es una nueva opción para uso como aditivo alimenticio.

**Palabras clave:** almidón, camote, amilosa, capacidad emulsionante.

### ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the techno-functional properties of sweet potato starch (*Ipomoea batatas*) to determine the applications it can have as a food additive. First, starch extraction was performed by the method of (Ganga & Corke, 1999). Subsequently, the gelling capacity was determined by the method of (Siddiq *et al.*, 2010) at different concentrations 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12%, 14% and 16% (%m/v) and a complete gelling was obtained from 10 to 16%. The emulsifying capacity was performed according to the method of (Yasumatsu *et al.*, 1972) and was 35.56%, The clarity of the gel with the method of (Hazarika & Sit, 2016) was obtained a value of 19.65%, which shows characteristics of low associative strength, indicating a greater amount of amylose. The determination of the freeze-thaw stability (Bello *et al.*, 2002) the gel at refrigeration temperature (4°C) with a syneresis of maximum value of 3% and for the percentage of amylose and amylopectin, the analysis was carried out (Galicia, 2012) where the amylose content was 27.14%. Sweet potato starch according to its techno-functional properties is a new option for use as a food additive.

**Key words:** starch, sweet potato, amylose, emulsifying capacity.

## INTRODUCCIÓN

En esta investigación se caracterizó el almidón de camote (*Ipomoea batatas*). Se propone el uso de almidón de camote ya que de acuerdo con datos del (SIAP, 2016) el camote se cultiva en 22 estados y en el 2015 se cosecharon 2,354.3ha, con un rendimiento promedio de 17.72 t/ha para una producción de 41,722.05 toneladas. El almidón de camote posee de un 15-25% de amilosa y el resto de amilopectina (Vargas & Villalobos, 2013). Su producción y porcentaje de amilosa hacen al camote un candidato fuerte para la modificación de su almidón ya que las propiedades de gelatinización son dadas por su composición (amilosa y amilopectina).

### Almidón

El almidón es utilizado como reserva energética en el reino vegetal y se encuentra en pequeños gránulos, lo cual por su estructura compacta le permite almacenar mucha glucosa en una reducida partícula. El almidón está compuesto estructuralmente por dos polisacáridos: la amilosa y la amilopectina. La amilosa es un polímero lineal de unidades de glucosa unidas por enlaces glucosídicos  $\alpha$  (1,4), está conformado por largas cadenas lineales con 200 – 300 unidades y pesos moleculares de hasta un millón de dáltones.

La amilopectina suele diferenciarse de la amilosa por su estructura, que es similar a la de un árbol, estructuralmente está compuesta de glucosa unida con enlaces  $\alpha$  (1-4) con 4.2 a 5.9 % de enlaces  $\alpha$  (1-6) en las ramificaciones localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa, su peso molecular es muy alto y depende de las fracciones, algunas llegan hasta los 200 millones de daltones, el doble en comparación a la amilosa. Los almidones contienen comúnmente un 25% de amilosa y un 75% de amilopectina (Gil, 2010; Fraser-Reid *et al.*, 2008).

### Almidón de camote

Es obtenido de la raíz (*Ipomoea batatas*) actualmente es uno de los cultivos más importantes en Asia y África por su fuente calórica. En Japón es el segundo cultivo más importante y su producción es destinada principalmente para la obtención y el uso del almidón a nivel industrial.

### Almidón modificado

El almidón es utilizado como materia prima para modificar la textura y consistencia de los alimentos por sus propiedades estabilizante, espesante y gelificante, estos factores se ven influenciados por el contenido de amilosa y amilopectina los cuales son dependientes del tipo de especie y de la organización molecular de los gránulos (Bello, 2002). Los gránulos de almidón son insolubles en agua debido a su estructura altamente organizada, por lo que para poder emplearse en la industria alimenticia deben ser sometidos a algún tratamiento previo. Los gránulos poseen una estructura micelar cristalina y la amilopectina se asocia mediante enlaces de hidrógeno con las cadenas lineales de amilosa, por lo que hace al gránulo de almidón insoluble en agua fría.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar las propiedades tecno-funcionales del almidón de camote (*Ipomoea batata*) para determinar las aplicaciones que puede tener como aditivo en alimentos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Método para la extracción de almidón

Para la extracción del almidón se utilizó camote el cual se lavó, descascarilló y posteriormente se cortó en cubos, para después mezclar con tres volúmenes de agua destilada y se vertió en una licuadora (Osterizer, Mexico®) por 5 min a máxima velocidad, a continuación la suspensión se centrifugó a 1500 rpm/ 5 min y después se decantó, el residuo sobrante se volvió a licuar con dos volúmenes de agua y posteriormente se dejó reposar 60 min y se decantó, el sedimento se volvió a licuar durante un minuto a máxima velocidad para después dejar reposar 60 min. Posteriormente el sedimento se filtró a través de un tamiz (Manitox, Mexico®) de 105  $\mu\text{m}$  de apertura de malla. Los sólidos remanentes fueron eliminados y el filtrado se lavó hasta que el agua del lavado fue translúcida, lo cual indicó que el almidón fue extraído. Posteriormente la fracción en donde estuvo contenido el almidón se secó en una estufa (Riossa Digital, México®) a 40°C por 24h y después fue almacenada en contenedores de color ámbar (Ganga & Corke, 1999).

### Capacidad gelificante

Se prepararon soluciones de acuerdo a lo citado por (Siddiq *et al.*, 2010) a diferentes concentraciones 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12%, 14% y 16% (%m/v), por triplicado en 5ml de agua destilada. Se calentaron por 1 hora en baño de agua a 100°C, inmediatamente se enfriaron a flujo de agua potable y se almacenarán a 6 °C por 2 horas, al finalizar se invirtieron los tubos de prueba, se observaron y registraron los resultados.

Interpretación de resultados:

- + : La muestra no se desliza por la pared del tubo o no se cae (Gelificación completa).
- : La muestra cae o se desliza por las paredes del tubo (No hay gelificación).
- ± : Si cae una gota o irregular.

### Capacidad emulsionante

En un tubo y por triplicado se colocaron 1g de almidón con 20 ml de agua destilada y se agitó 5 segundos en vortex, posteriormente se ajustó a pH 7 con HCl 0.1 N o NaOH 0.1 N. Posteriormente se agregó agua destilada hasta obtener un volumen total de 25 ml y se adicionaron 25ml de aceite de maíz, después se agitó 3 min en el homogenizador de alto corte Omni GLH-01 y se centrifugó a 1,300 gravedades por 5min, al finalizar se midió el volumen de la capa emulsionada respecto al total del líquido, el resultado se expresó en porcentaje (Yasumatsu *et al.*, 1972).

### Claridad del gel

La prueba se realizó de acuerdo la metodología de (Hazarika & Sit, 2016). Se preparó una solución de almidón al 1 % (p/v), posteriormente se llevó a ebullición durante 3 minutos, finalmente se enfrió y se leyó la transmitancia de las muestras a 650 nm (GENESYS 10S UV-VIS Thermoscientific) empleando agua destilada como blanco. Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se reportaron en porcentaje.

### Determinación de la estabilidad al congelamiento-descongelamiento.

Se realizó mediante el método de (Bello *et al.*, 2002). Se gelificó una suspensión de almidón en agua al 5% y se introdujo en un congelador por 18 horas a -20°C.

Posteriormente se descongeló a temperatura ambiente durante 6 horas, se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos (HERME Labnet Z326). Finalmente se midió la cantidad de agua separada.

$$\% \text{ sinéresis} = \text{peso de agua} / \text{peso de gel} \times 100 \quad \text{Ec. (1)}$$

### Determinación del porcentaje de amilosa y amilopectina

El análisis se realizó de acuerdo al citado por (Galicia, 2012). Se tomaron 25 mg de almidón y se colocaron en un matraz de aforación de 25 mL, posteriormente 0.25 mL de etanol al 95% y 2.25 mL de NaOH 1M, se dejaron reposar de 20-24 horas, luego se aforó con agua destilada, posteriormente se tomaron 3.5 mL de esta solución y se colocaron en un matraz de aforación de 10 mL, junto con 1 mL de ácido acético 1M y 0.2 mL de solución lugol al 2% y se aforó. Finalmente se leyeron las muestras en el espectrofotómetro GENESYS 10S UV-VIS Thermoscientific a 620 nm, utilizando agua como blanco. Se realizó una curva estándar de 10-35% de amilosa.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Capacidad gelificante

Los resultados de la prueba de capacidad gelificante se muestran en la **Tabla I**, se observa que de un 2 a 8% hay una gelificación parcial y del 10 al 16% hay una gelificación completa. Cuando se someten a calentamiento los gránulos de almidón en presencia de agua, sufren una transición de orden-desorden, llamado gelatinización (Jacobs & Delcour, 1998; O'Brien & Wang, 2008). A medida que aumenta la temperatura, hay una mayor difusión de agua dentro del gránulo, se produce una hidratación progresiva y la amilosa que se comporta como un disolvente de la amilopectina comienza a lixiviar. Al llevarse a cabo el proceso de gelatinización hay una pérdida de la birrefringencia y la cristalinidad, por la disociación de las dobles hélices formadas por la amilopectina y la amilosa (Martín & López, 2009).

**Tabla I.** Capacidad gelificante del almidón de camote.

Concentración	Capacidad gelificante
2%	±
4%	±
6%	±
8%	±
10%	+
12%	+
14%	+
16%	+

No hay gelificación (-), gelificación completa (+), o gelificación parcial (±)

### Capacidad emulsionante

Se evaluó la capacidad emulsionante del almidón de camote como se observa en la **Tabla II**, obteniéndose un 35.56%, por lo que puede ser usado para la elaboración de aderezos, la US Food and Drug Administration establece que los aderezos deben contener al menos un 30% de aceite vegetal (USFDA, 2012).

**Tabla II.** Capacidad emulsionante de almidón de camote.

Repetición	% de aceite
1	34.62
2	36.16
3	35.90
<b>Promedio</b>	<b>35.56±0.82</b>

### Claridad del gel

La transmitancia de luz del almidón gelatinizado puede usarse para indicar la claridad del gel de almidón que varía considerablemente con la fuente de almidón (Thitipraphunkul *et al.*, 2003). Novelo y (Betancurt, 2005) mencionan que los almidones que presentan menor cantidad de amilosa son fácilmente dispersados, por lo que se incrementa su claridad, al igual que los que presentan mayor poder de hinchamiento. La transparencia u opacidad presentada por las pastas de almidón influyen directamente sobre las características de brillantez y opacidad del color de los productos en los que se empleen como espesantes (Betancur *et al.*, 2001). En el trabajo de (Hernández, 2008), el gel de almidón de camote presentó una claridad de gel de 24.6 %, y menciona que almidones que presentan valores elevados de transmitancia, tales como el de yuca (51.8 %) podría ser utilizado en alimentos como mermeladas, gelatinas, y en confitería para la elaboración de gomitas, etc. Mientras que los más opacos, como los de makal (10.9%) y sagú (13.6%), pueden ser utilizados en alimentos poco transparentes, como las mayonesas, los productos cárnicos, las bebidas concentradas tipo néctar o los productos de panificación (Hernández, 2008).

De acuerdo con (Aristizábal *et al.*, 2007), los geles de almidones que tengan valores de transmitancia menores 40% se consideran como opacos o turbios y geles de almidones que tengan valores de transmitancia mayores de 40% se consideran como claros o transparentes. En esta investigación, como se puede observar en la **Tabla III**, se obtuvo un valor de claridad de gel del 19.65 %, que muestra características de poca fuerza asociativa lo que indica una mayor cantidad de amilosa, por lo que la pasta que puede formar es la indicada para el desarrollo de productos como los aderezos.

**Tabla III.** Resultados de la medición de transmitancia (%) a 650nm del almidón de camote.

Repetición	Transmitancia (%)
1	21.04
2	19.36
3	18.58
<b>Promedio</b>	<b>19.66 ± 0.7</b>

### Determinación de la estabilidad al congelamiento-descongelamiento.

La evaluación de la estabilidad a la refrigeración y congelación consiste en verificar la expulsión del agua (sinéresis) contenida en los geles como consecuencia de la reorganización de las moléculas del almidón. De acuerdo con (Corzo, 2018), cuando un gel es sometido a un congelamiento y descongelamiento ocurre un incremento en la asociación entre las moléculas de las cadenas de almidón, específicamente la retrogradación de la amilosa en principio generando una expulsión de agua de la estructura del gel.

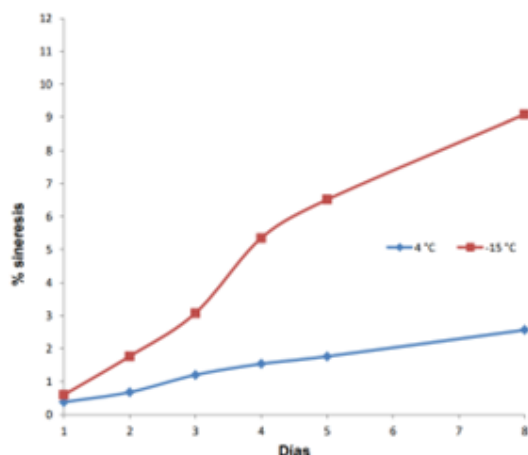


Figura 1. Cinética del % de sinéresis de geles de almidón a 4 y -15°C

Cuando los almidones se someten a sucesivos ciclos de congelación, su estructura se ve afectada, ya que hay una redistribución y dilución de las pastas de almidón por el crecimiento y disolución de los cristales de hielo. Como se muestra en la **Figura 1**, se puede notar como a temperatura de congelación (-15°C) el valor de sinéresis incrementa de manera significativa durante los 8 días a comparación con el gel a temperatura de refrigeración (4°C) con una sinéresis de valor máximo de 10 y 3% respectivamente. Durante la congelación (Abegunde *et al.*, 2013), encontraron que la separación de fases incrementaba con un aumento en el número de ciclos de congelación y descongelación debido a un aumento en la retrogradación de la

amilosa. Cuando se agregan ciclos de descongelación, las cadenas ramificadas de almidón también pueden sufrir efectos de retrogradación. La sinéresis sin un tratamiento de congelación y descongelación (almacenada a 4° C) muestra principalmente la tendencia a basarse en la cantidad de amilosa para retrogradar. Esto coincide con los resultados de (Hernández *et al.*, 2008), quien realizó pruebas de sinéresis en diferentes almidones de diferentes fuentes, encontrando que el almidón de yuca fue el que produjo menor sinéresis tanto en temperatura de refrigeración como en congelación, con el porcentaje de amilosa más bajo de todos los almidones. Con base en lo anterior es posible explicar porque el gel de almidón libera más agua a temperatura de congelación a comparación de la temperatura de refrigeración.

### Determinación del porcentaje de amilosa y amilopectina

El contenido de amilosa de las muestras de camote fue de 27.14 % obtenido de una curva estándar de amilosa. En la investigación de (Moorthy, 2002), quien al comparar el contenido de amilosa en seis variedades de camote procedente de Filipinas encontró un rango de 20-25% esto es muy poca variación entre los diferentes cultivares estudiados. Demostraron que no existe ningún efecto de la fertilización sobre el contenido de amilosa. También confirmaron que no hubo cambios en el contenido de amilosa de dos variedades de batata durante el período de crecimiento. De igual manera en el trabajo de (Chen, 2003), analizaron 3 variedades de camote proveniente de China, y no mostraron diferencia en el contenido de amilosa (20-23%) aunque se informó anteriormente que el contenido de amilosa puede variar del 8.5 al 37.4% para almidones de diferentes variedades de batata (Oduro *et al.*, 2000; Iheagwara, 2013). Himeda *et al.*, (2012) encontraron una disminución de 35.9 % a 27.6 % en el contenido de amilosa en almidones con 6 y 10 meses de maduración; lo anterior concuerda con algunos autores que atribuyen la variación en el contenido de amilosa de almidones provenientes del mismo tubérculo a factores como la especie analizada, la edad del cultivo, el clima y las condiciones de crecimiento (Vargas & Hernández, 2013). Elliason (2004) encontró un contenido de amilosa de 15% a 25%, un rango similar al reportado por (Tecson, 2007), de 12.90% a 29.70%. (Osundahunsi *et al.*, 2003), hizo un estudio con

dos especies de camote (blanco y rojo) procedentes de Nigeria, y reportaron un rango mayor a 32% para ambas. Este autor menciona que las diferencias entre estos resultados pueden deberse a que las condiciones de crecimiento (siembra) de la raíz pueden afectar las propiedades físicas de los almidones; y que, por ejemplo, si la temperatura del suelo aumenta, la temperatura de gelatinización y el tamaño promedio del gránulo pueden variar (Elliason, 2004). Con la información analizada se puede concluir que la diferencias entre las cantidades de amilosa entre estas investigaciones, se deben principalmente al clima de cultivo y las condiciones de crecimiento y en menor medida, pero no menos influyente, la etapa de maduración y las diferentes variedades del mismo tubérculo.

Por otra parte, los resultados obtenidos en este estudio fueron superiores a los de la yuca, makal y sagú, que varían entre (17% a 23.6 %) mientras que fue muy parecido al contenido de amilosa del maíz con 28.3 % (Hernández, 2008). Puede inferirse que estas diferencias encontradas en el contenido de amilosa se deben a la fuente biológica de donde provienen los almidones. El contenido de amilosa es muy importante para la industria alimentaria ya que de ella dependerán varios factores fisicoquímicos. El almidón tiene regiones amorfas las cuales son ricas en amilosa y ésta tiene como característica estructura desordenada, mientras que la región cristalina es una región organizada donde domina la amilopectina en su estructura, hay que mencionar que en el proceso de gelatinización el agua es absorbida en las zonas intermicelares amorfas que son menos organizadas y las más accesibles, por lo tanto un almidón con más regiones amorfas (amilosa) tendría una menor temperatura de gelatinización y de igual manera al tener menos amilosa se reducirá el fenómeno de sinéresis, se puede mencionar que el almidón de maíz el cual es de los más utilizados en la industria alimentaria tiene un contenido similar al del almidón de camote, por lo que se recomienda para su utilización en el desarrollo de productos alimenticios.

### CONCLUSIÓN

De acuerdo con la capacidad emulsionante que presentó el almidón de camote de 35.56% y claridad de gel de 19.65 %, además del contenido de amilosa de 27.14 % y la estabilidad al congelamiento-descongelamiento, en la cual presentó una baja sinéresis. Todas las propiedades tecno-funcionales analizadas en esta investigación son adecuadas para emplearlo como aditivo en alimentos y así tener una nueva opción en este tipo de aditivos.

### BIBLIOGRAFÍA

- Abegunde, O. K., Mu, T. H., Chen, J. W., & Deng, F. M. (2013). Physicochemical characterization of sweet potato starches popularly used in Chinese starch industry. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 169-177.
- Aristizábal, J., Sánchez, T., & Lorío, D. M. (2007). Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- Chen, Z., Schols, H. A., & Voragen, A. G. J. (2003). Physicochemical properties of starches obtained from three varieties of Chinese sweet potatoes. *Journal of Food Science*, 68(2), 431-437
- Corzo Riaño, D. L. (2018). Evaluación de las características del almidón de quinua (*chenopodium quinoa willd*) de dos variedades de Cundinamarca como una posible alternativa tecnológica en la industria de alimentos.
- Bello P. (2002). Propiedades químicas y funcionales del almidón modificado de plátano *Musa paradisiaca* L. (Var. Macho). *Agrociencia: México* 32 (2) 169- 180.
- Betancur, D. et al., Physicochemical and functional characterization of baby lima bean (*Phaseolus lunatus*) starch. *Starch/Stärke*, v. 53, n. 5, p. 219-226, 2001.

- Elliason, A. C. (2004). *Starch in Food. Structure, Function and Application*. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited.
- Fraser-Reid B. O., Tatsuta, K. & Thiem, J. (2008). Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology. In: Robyt, J. F. (editor), *Starch: Structure, Properties, Chemistry, and Enzymology*. 2nd ed., Berlin: Springer, 1437-1472.
- Galicia, L., Miranda, A., Gutiérrez, M. G., Custodio, O., Rosales, A., Ruíz, N., & Palacios, N. (2012). Laboratorio de calidad nutricional de maíz y análisis de tejido vegetal: protocolos de laboratorio 2012. CIMMYT.
- Ganga Z.N., Corke H.1999. Physical properties of starch of Asian-adapted potato varieties. *Journal of Science Food Agriculture*, 79: 1642-1646.
- Gil AH. (2010). Tratado de nutrición: Tomo II Composición y calidad nutritiva de los alimentos. Ediciones MedicaPanamericana: España.
- Hazarika, B. J., y Sit, N. (2016). Effect of dual modification with hydroxypropylation and cross-linking on physicochemical properties of taro starch. *Carbohydrate Polymers*, 140, 269-278.
- Hernández M, Torruco J, Chel L, & Betancur D.(2008). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Ciencia e Tecnología de Alimentos*, 28(3), 718-726.
- Himeda, M., Njintang, N., Nguimbou, R., Gaiani, C., Scher, J., Facho, B. & Mbofung, C. (2012). Physicochemical, rheological and thermal properties of taro (*Colocassia esculenta*) starch harvested at different maturity stages. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 2(3), 14-27
- Iheagwara, M. C. (2013). Isolation, modification and characterization of sweet potato (*Ipomoea batatas* L (Lam)) starch. *Journal of Food Processing and Technology*, 4(1), 1-6
- Jacobs, H. Delcour, J.(1998). Hydrothermal modification of granular starch with retention of the granular structure: A Review *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 2895-2905.
- Martín, J. C., & López, E. (2009). Modificación física del almidón de yuca y evaluación de la susceptibilidad a la hidrólisis enzimática por una alfa amilasa. *Revista colombiana de Química*, 38(3), 395-408.
- Moorthy, S. N. (2002). Physicochemical and functional properties of tropical tuber starches: a review. *Starch-Stärke*, 54(12), 559-592.
- Novelo, C. L.; Betancur, A. D. Chemical and functional properties of *Phaseolus lunatus* and *Manihot esculenta* starch blends. *Starch/Stärke*, 57 (9), 431-441, 2005.
- Osundahunsi, F.O., Fagbemi, N.T., Kesselman, E., Shimoni, E. (2003). Comparison of the physicochemical properties and pasting characteristics of flour and starch from red and white sweet potato cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51,2232–2236.
- Oduro, I., Ellis, W. O., Aryeetey, S. K., Ahenkora, K., & Otoo, J. A. (2000). Pasting characteristics of starch from new varieties of sweet potato. *Tropical science*, 40(1), 25-28.
- O'Brien S, Wang Y. (2008). Susceptibility of annealed starches to hydrolysis by amylase and glucoamylase. *Carbohydrate Polymers*, 72,597-607
- Siddiq M, Ravi R, Harte J.B., Dolan K.D.(2010). Physical and functional characteristics of selected dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Science and Technology* 43,232-237.
- Tecson-Mendoza, E. M. (2007). Development of functional foods in the Philippines. *Food science and technology research*, 13(3), 179-186.
- Thitipraphunkul, K., Uttapap, D., Piyachomkwan, K., Takeda, Y., 2003. A comparative study of edible canna (*Canna edulis*) starch from different cultivars. Part I. Chemical composition and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*. 53, 317–324.
- USFDA. 2012.U.S Food andU.S. Food andDrugAdministration Code ofFederal Regulations, Title 21, Part 169. Food Dressings and Flavorings. U.S. Government Printing Office, Washington, DC. Available at: [http://ecfr.gpoaccess.gov/cgi/t/text/text-idx?c=ecfr&tpl=/ecfrbrowse/Title21/21cfr169\\_main\\_02.tpl](http://ecfr.gpoaccess.gov/cgi/t/text/text-idx?c=ecfr&tpl=/ecfrbrowse/Title21/21cfr169_main_02.tpl).



- Vargas, P., & Hernández, D. (2013). Harinas y almidones de yuca, ñame, camote y ñampí: propiedades funcionales y posibles aplicaciones en la industria alimentaria. *Revista Tecnología en Marcha*, 26(1), 37.
- Yasumatsu, K., Sawada, K., Moritaka, S., Mikasi, M., Toda, T., Tshi, K. (1972). Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agricultural Biochemistry*, 36,719- 727

## Caracterización bioquímica de lipasas presentes en vísceras del mero rojo (*Epinephelus morio*)

J.C. Arceo-Cabrera\*, S.M. Gallegos-Tintoré y M.N. Sánchez-González  
Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Ingeniería Química, Periférico Norte Km 33.5, Chuburná de Hidalgo Inn, C.P. 97203, Mérida, Yucatán, México

\*[Jeaarc1@hotmail.com](mailto:Jeaarc1@hotmail.com)

### RESUMEN

Las actividades lipolíticas, perfil electroforético y estabilidad de la actividad lipolítica fueron estudiadas en los tejidos de páncreas y ciego pilórico de la especie *Epinephelus morio* con el fin de aprovechar los residuos de la industria pesquera. La lipasa se encuentra en un peso molecular estimado de 24.05 kDa para el ciego pilórico y 23.56 kDa para el páncreas y el pH óptimo de actividad fue 8. Considerando estas características los extractos enzimáticos de las vísceras con actividad lipolítica pueden ser candidatos para ciertas industrias como la de detergentes.

**Palabras clave:** Enzimas, lipasas, vísceras, caracterización, ciego pilórico.

### ABSTRACT

The lipolytic activities, electrophoretic profile and stability of lipolytic activity were studied in the pancreas and pyloric caecum tissues of the species *Epinephelus morio* in order to take advantage of the waste from the fishing industry. Lipase was found to have an estimated molecular weight of 24.05 kDa for the pyloric caecum and 23.56 kDa for the pancreas and the optimum pH of activity was 8. Considering these characteristics, enzymatic extracts of viscera with lipolytic activity may be candidates for certain industries such as detergents.

**Keywords:** Enzymes, lipase, viscera, characterization, pyloric caeca.

### INTRODUCCIÓN

Una de las especies de perciformes que es representativa para Yucatán es *Epinephelus morio* ya que se estima que el 80% de la mano de obra en el sector pesquero, tanto de flotas artesanales como de flotas industriales destinan a su captura de *E. morio*, esto ha ocasionado que a través de los años se aporten fluctuaciones del 50 al 60% del volumen total de captura a nivel nacional en México. Considerando el procesamiento de los pescados para la obtención del filete, existe un remanente aproximado del 50% conformado por la cabeza, el esqueleto, aletas y vísceras, esto a su vez representan residuos que tienen impacto ambiental. Dentro de las innovaciones biotecnológicas para el aprovechamiento de estos residuos se pueden obtener extracciones enzimáticas tales como las lipasas sintetizadas en el páncreas y excretadas en el ciego pilórico. Las lipasas se han asociado a severos beneficios en la biotransformación por su selectividad hidrolítica y su capacidad de aplicación en reacciones de síntesis para sustitución de catalizadores contaminantes para el medio ambiente, gracias a esto, se han posicionado el uso de las lipasas en las industrias del 10% del valor global económico de las enzimas. El presente estudio tiene por objetivo analizar las características bioquímicas de las lipasas en las vísceras del mero rojo endémico de Yucatán para aportar mayor información de estas enzimas disponibles en estos residuos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Obtención del extracto enzimático**

Se llevaron a cabo disecciones para obtener los tejidos de páncreas y ciego pilórico los cuales fueron sometidos a desgrasamiento con el solvente orgánico acetona de acuerdo con la metodología de Kuepethkaew *et al.* (2017); tres volúmenes de acetona a -20°C fueron homogenizados con el tejido durante 30 minutos, posteriormente el tejido fue filtrado en vacío y homogenizado en 2 volúmenes de acetona a -20°C por 30 min. Al término del tiempo fue filtrado y el polvo obtenido se mantuvo a 4°C durante 40 minutos. Posteriormente se homogenizó 5 minutos en buffer de extracción (50 mM Tris-HCl, 5 mM Benzamidina-HCl, pH 8) 1:10 (peso/volumen) y se mantuvo en agitación durante 1 hora y 4°C para luego centrifugarse a 12500 rpm por 25 minutos y 4°C, el sobrenadante se consideró el extracto enzimático y se mantuvo a -20°C para su posterior uso.

### **Actividad lipolítica**

La actividad lipolítica fue determinada espectrofotométricamente acorde a la metodología de Patchimpet *et al.* (2019), como sustrato se utilizó 4-Nitrofenil palmitato (pNFP), previo a las reacciones, 1 ml de 7 mM de pNFP disuelto en isopropanol fueron mezclados con 9 ml de buffer 50 mM Tris-HCl, 0.1% goma arábiga y 0.4% de Triton X-100 e incubado por 5 min a 37°C. La reacción inició al mezclar 0.1 ml del extracto enzimático con 0.9 del buffer de reacción con el sustrato y se midió los cambios de absorbancias durante 5 minutos a 410. Una unidad catalítica se definió como el nitrofenil liberado por unidad de minuto. Para las unidades por miligramo de proteína se llevó a cabo una cuantificación de proteína con el reactivo de Bradford (1976).

### **Perfil electroforético**

Para la determinación de los pesos moleculares estimados se llevó a cabo una electroforesis acorde a la metodología de Laemmli (1970) al 12% del gel separador y 6% del gel concentrador, las muestras fueron calentadas a 90°C durante 5 minutos y se utilizó un marcador de bajo peso molecular (Bio-Rad, Cat: 161-0305). Los geles fueron sometidos a amperaje constante de 30 mA durante 1.5 horas y 4°C. Al término de la electroforesis los geles fueron estabilizados en buffer de extracción durante 15 min para posteriormente teñirse con la solución azul de Coomassie R-250 durante 14 horas para luego desteñirse con lavados de la solución decolorante (10% ácido acético glacial, 40% alcohol metílico).

Para la confirmación de la actividad lipolítica se llevó a cabo una electroforesis bajo condiciones no desnaturizantes, posterior a la electroforesis el gel fue inmerso en buffer de extracción con 1.5% Triton X-100 durante 25 minutos y 4°C. La mezcla cromogénica consistió en aceite de oliva (20%), agar (1.5%) y Rodamina B (0.02%) en buffer fosfatos (0.2 M, pH 8) y se dejó en incubación a 37°C por 14 horas.

### **Precipitación con sulfato de amonio**

Para la precipitación de las proteínas acorde a su grado de solubilidad se utilizó sulfato de amonio en cuatro fracciones de saturación. El sulfato de amonio fue disuelto en homogenización durante 30 minutos a temperatura ambiente, posterior se dejó reposar a 4°C para luego centrifugarse a 12000 rpm por 30 minutos y 4°C, el pellet fue resuspendido en buffer de extracción y sometido a dialifiltración con unidades Amicon de 10kDa (Millipore) durante 3 lavados con buffer de extracción.

### **Ultrafiltración**

La fracción con mayor actividad lipolítica fue sometida a una ultrafiltración con unidades Amicon de 30kDa (Millipore) durante 25 minutos y 4°C para luego medir la actividad lipolítica.

### **Estabilidad de pH en la actividad lipolítica**

La actividad lipolítica fue medida en un rango de pH de 2-10 de buffer de actividad, para el pH de 2-7 se utilizó buffer fosfatos (0.2M) y para pH de 7 a 10 se utilizó buffer 50mM Tris-HCl.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de la obtención de los extractos enzimáticos se obtuvo que el tejido con mayor actividad lipolítica en la Tabla 1, es el ciego pilórico con 0.18 U/mg de proteína mientras que el páncreas demostró actividad de 0.10 U/mg de proteína, a lo cual el ciego pilórico fue el tejido candidato para los siguientes pasos de purificación. Las actividades lipolíticas obtenidas se encuentran en los rangos reportados en vísceras de otras especies (Kuepethkaew *et al.*, 2017; Patchimpet *et al.*, 2019; Sae-leaw y Benjakul, 2018; Smichi *et al.*, 2013). La actividad no resultó ser muy alta, esto puede estar relacionado a baja afinidad con el sustrato utilizado, ya que es un ácido graso saturado, mientras que en estudios previo se han encontrado que del 80% del estómago de *E. morio* lo conforman crustáceos decápodos indicando la preferencia por insumir estos alimentos, a lo cual, a nivel nutricional los mariscos poseen escasos niveles de grasas saturadas siendo de mayor aporte las grasas insaturadas. A su vez, la reacción de actividad consiste en la transesterificación a etil palmitato resultando que quizá la lipasa no es prometedora en las industrias de biocombustibles.

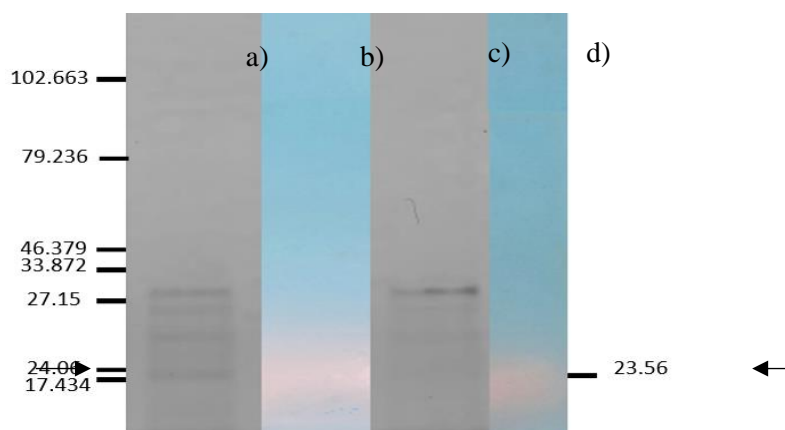
	Ciego pilórico	Páncreas
Actividad* (U/mg de proteína)	0.18±0.002 <sup>a</sup>	0.10±0.006 <sup>b**</sup>

**Tabla I.** Actividad lipolítica en los tejidos de ciego pilórico y páncreas del mero rojo.

\* La actividad fue analizada utilizando p-NPP como sustrato.

\*\*Las diferentes letras indican diferencia significativa (p < 0.05).

Los pesos moleculares estimados obtenidos de actividad lipolítica en el zimograma de la Fig. 1, se encontraron en 24.05 kDa para el ciego pilórico y 23.56 kDa para el páncreas, la proximidad de las bandas podría indicar ser la misma lipasa fundamentando el hecho de que el páncreas es el encargado de sintetizar la enzima para luego depositarla en el ciego pilórico para llevar a cabo la catálisis de los lípidos en la especie.



**Figura 1.** SDS-PAGE al 15% del ciego pilórico (a) y el páncreas (c); Zimografías al 15% utilizando aceite de oliva como sustrato del ciego pilórico (b) y el páncreas (d).

En los pasos de purificación se han obtenido que la mayor actividad lipolítica se encontró en la fracción de saturación de 40-60% mientras que los índices de purificación demuestran un la eficaz purificación de la lipasa.

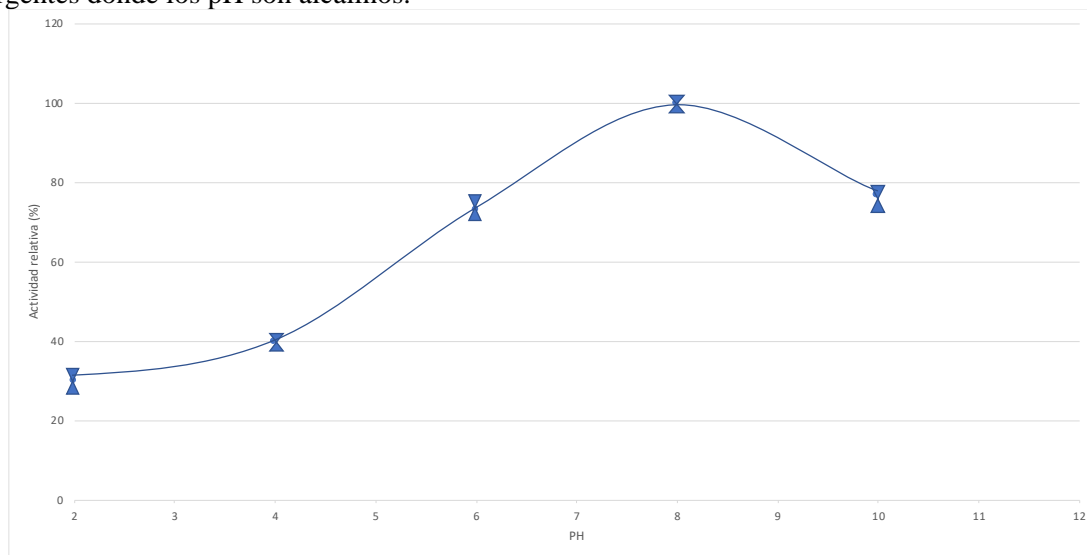
PASO DE PURIFICACIÓN	PROTEÍNA TOTAL <sup>a</sup> (mg)	ACTIVIDAD TOTAL <sup>b</sup> (U)	ACTIVIDAD ESPECÍFICA (U/mg)	RENDIMIENTO	VECES DE PURIFICACIÓN
Extracto crudo	327.3	59.3	0.18±0.002	100%	1
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 40-60%	92.1	22.1	0.24±0.008	28.1%	1.3
Ultrafiltración 30K	9	3.1	0.35±0.007	13.4%	1.9

**Tabla II.** Diagrama de flujo de purificación de lipasa del ciego pilórico del mero rojo.

<sup>a</sup> Las proteínas fueron estimadas con el método de Bradford (1976).

<sup>b</sup> La actividad fue analizada utilizando p-NPP como sustrato.

Los resultados demostraron que la actividad lipolítica tiene un pH óptimo de 8 (Fig. 2), esto indica la posible ausencia de las enzimas lipasas dentro del estomago debido al pH de los ácidos gástricos, a su vez la tendencia ligeramente alcalina podría ser indicio de su posible uso en industrias tales como la de detergentes donde los pH son alcalinos.



**Figura 2.** Estabilidad de la actividad lipolítica en distintos rangos de pH.

## CONCLUSIÓN

Con base en los análisis de la actividad enzimática y la zimografía se puede concluir que existe presencia de lipasas en el sistema digestivo de *E. morio*. El ciego pilórico y el páncreas presentaron actividad lipolítica; sin embargo, esta fue mayor en el ciego pilórico, el cual es considerado desecho ya que en algunas ocasiones existen otras partes de las vísceras las cuales se tienen a insumir, pero en este caso no tiene hasta el momento algún otro uso ni es consumido por lo tanto es un tejido prometedor para la extracción de estas enzimas. En lo que respecta de la actividad lipolítica sería de interés observar el comportamiento de la lipasas con respecto a otros sustratos para promoverla en otras industrias.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alfonso Alvarez-González, C., Cuzon, G. Y., & Gaxiola, G. (n.d.). Protein digestibility by *in vitro* and *in vivo* methods in red grouper *Epinephelus morio*. <https://www.researchgate.net/publication/260336458>
- Arvanitoyannis, I. S., & Kassaveti, A. (2008). Fish industry waste: Treatments, environmental impacts, current and potential uses. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(4), 726–745. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01513>.
- Bradford M.M. (1976) A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-Dye Binding. *Anal Biochem*; 72:248-254
- Castillo, A., Alvarez, A., Cuzon, G., Suárez, J., & Gaxiola, G. (2018). Glycemic response after glucose oral administration of wild juvenile red grouper *Epinephelus morio* fed two different diets. *Fish Physiology and Biochemistry*, 44(1), 219–226. <https://doi.org/10.1007/s10695-017-0426-4>
- Coleman, F. C., Koenig, C. C., Scanlon, K. M., Heppell, S., Hep-Pell, S., & Miller, M. W. (2010). Benthic Habitat Modification through Excavation by Red Grouper, *Epinephelus morio*, in the Northeastern Gulf of Mexico. In *The Open Fish Science Journal* (Vol. 3).
- Collins, L. A., Fitzhugh, G. R., Lombardi-Carlson, L. A., Lyon, H. M., Walling, W. T., & Oliver, D. W. (2002a). Characterization of red grouper (*Serranidae: Epinephelus morio*) reproduction from the eastern Gulf of Mexico.
- Daboor, S. M., Budge, S. M., Ghaly, A. E., Brooks, M. S., & Dave, D. (2012a). Isolation and activation of collagenase from fish processing waste. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 03(03), 191–203. <https://doi.org/10.4236/abb.2012.33028>
- Echazabal-Salazar, O., Morales-Bojórquez, E., & Arreguín-Sánchez, F. (2021a). Biomass dynamic model for multiple data series: An improved approach for the management of the red grouper (*Epinephelus morio*) fishery of the Campeche Bank, Mexico. *Regional Studies in Marine Science*, 47, 101962. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.101962>
- Gajanan, P. G., Elavarasan, K., & Shamasundar, B. A. (2016). Bioactive and functional properties of protein hydrolysates from fish frame processing waste using plant proteases. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(24), 24901–24911. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7618-9>
- Guérard, F., Sellos, D., & le Gal, Y. (2005). Fish and shellfish upgrading, traceability. In *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology* (Vol. 96, pp. 127–163). <https://doi.org/10.1007/b135783>
- Haard, N. F., & Simpson, B. K. (1994). Proteases from aquatic organisms and their uses in the seafood industry. *Fisheries Processing*, 132–154. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5303-8\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5303-8_6)
- Houde, A., Kademi, A., & Leblanc, D. (2004). Lipases and their industrial applications: An overview. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology*, 118(1–3), 155–170. <https://doi.org/10.1385/ABAB:118:1-3:155>
- Hsieh, C. H., Shiau, C. Y., Su, Y. C., Liu, Y. H., & Huang, Y. R. (2016). Isolation and characterization of collagens from the skin of giant grouper (*Epinephelus lanceolatus*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 25(1), 93–104. <https://doi.org/10.1080/10498850.2013.828145>
- Johnston, M. W., & Bernard, A. M. (2017). A bank divided: quantifying a spatial and temporal connectivity break between the Campeche Bank and the northeastern Gulf of Mexico. *Marine Biology*, 164(1). <https://doi.org/10.1007/s00227-016-3038-0>
- Kuepethkaew, S., Sangkharak, K., Benjakul, S., & Klomklao, S. (2017). Laundry detergent-stable lipase from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) hepatopancreas: Effect of extraction media and biochemical characterization. *International Journal of Food Properties*, 20(4), 769–781. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1180534>

- Kurtovic, I., Marshall, S. N., Zhao, X., & Simpson, B. K. (2009). Lipases from mammals and fishes. *Reviews in Fisheries Science*, 17(1), 18–40. <https://doi.org/10.1080/10641260802031322>
- Nurdiani, R., Dissanayake, M., Street, W. E., Donkor, O. N., Singh, T. K., & Vasiljevic, T. (2015). Sustainable use of marine resources - turning waste into food ingredients. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(11), 2329–2339. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12897>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685
- Patchimpet, J., Sangkharak, K., & Klomklao, S. (2019). Lipolytic activity of viscera extract from three freshwater fish species in Phatthalung, Thailand: Comparative studies and potential use as dishwashing detergent additive. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 19(April), 101143. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101143>
- Patton, J. S., Nevenzel, J. C., & Benson, A. A. (1975). Specificity of digestive lipases in hydrolysis of wax esters and triglycerides studied in anchovy and other selected fish. *Lipids*, 10(10), 575–583. <https://doi.org/10.1007/BF02532720>
- Peixoto, S. B., Cladera-Olivera, F., Daroit, D. J., & Brandelli, A. (2011). Cellulase-producing *Bacillus* strains isolated from the intestine of Amazon basin fish. *Aquaculture Research*, 42(6), 887–891. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02727.x>
- Rodriguez, Y. E., Sacristán, H. J., Laitano, M. V., López-Greco, L. S., & Fernández--Gimenez, A. v. (2019). From fish-processing waste to feed additives for crayfish. *Journal of the World Aquaculture Society*, 50(5), 954–968. <https://doi.org/10.1111/jwas.12585>
- Sae-leaw, T., & Benjakul, S. (2018). Lipase from liver of seabass (*Lates calcarifer*): Characteristics and the use for defatting of fish skin. *Food Chemistry*, 240(February 2017), 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.089>
- Sindhu, R., Shiburaj, S., Sabu, A., Fernandes, P., Singhal, R., Mathew, G. M., Nair, I. C., Jayachandran, K., Vidya, J., de Souza Vandenberghe, L. P., Deniz, I., Madhavan, A., Binod, P., Sukumaran, R. K., Kumar, S. S., Anusree, M., Nagavekar, N., Soumya, M., Jayakumar, A. Pandeyl, A. (2020). Enzyme Technology in Food Processing: Recent Developments and Future Prospects. In *Innovative Food Processing Technologies: A Comprehensive Review* (pp. 191–215). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815781-7.00016-0>
- Smichi, N., Gargouri, Y., Miled, N., & Fendri, A. (2013). A grey mullet enzyme displaying both lipase and phospholipase activities: Purification and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 58, 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.03.056>
- Soldo, B., Šimat, V., Vlahović, J., Skroza, D., Ljubenkova, I., & Generalić Mekinić, I. (2019). High Quality Oil Extracted from Sardine By-Products as an Alternative to Whole Sardines: Production and Refining. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(7). <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800513>

## Extracción de arabinosilanos de subproductos agroindustriales adaptada a la estrategia universal de recuperación de compuestos bioactivos

N. Rodríguez-Viveros<sup>1</sup>, R. Paz-Samaniego<sup>3</sup>, A.A. Hernández-Hernández<sup>1</sup>, L. García-Curiel<sup>2</sup>, E. Pérez-Escalante<sup>1</sup>, E. Contreras-López<sup>1</sup> y J.G. Pérez-Flores\*<sup>1</sup>

**1** Área Académica de Química, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo; México, C.P. 42184.

**2** Área Académica de Enfermería, Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo; México, C.P. 42184.

**3** Departamento de Ciencias Químicas Biológicas, Universidad de Sonora. Blvd. Luis Encinas y Rosales S/N, Col. Centro Hermosillo, Sonora, México. \*[jesus\\_perez@uaeh.edu.mx](mailto:jesus_perez@uaeh.edu.mx)

### RESUMEN

Los arabinosilanos (AX) son polisacáridos de tipo hemicelulosa extraídos principalmente de cereales y subproductos agroindustriales. Están formados por una cadena de xilosas, con ramificaciones de arabinosa y otros azúcares. Además, pueden tener ácidos fenólicos como el ácido ferúlico esterificado que permite el entrecruzamiento de las cadenas y las posibles aplicaciones del polímero. Las características de los AX dependen de la fuente y el procedimiento de extracción por lo que en este trabajo se realizó una revisión de los métodos de extracción de AX partir de los subproductos de procesos agroindustriales, centrada en la estrategia universal de recuperación de compuestos bioactivos. Esta técnica se realiza en cinco etapas que van desde el nivel macroscópico al micromoleculare para posteriormente aislar la sustancia bioactiva utilizando técnicas convencionales o emergentes, dependiendo de costos y beneficios en los procesos, así como de las características de la matriz. La muestra puede ser previamente tratada para facilitar la extracción. Existen otros métodos de extracción como extracción alcalina, la extracción ácida y extracción enzimática. La elección de la técnica de extracción es importante para lograr el máximo aprovechamiento y recuperación de los AX de subproductos agroindustriales, para aplicaciones en áreas como la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica.

**Palabras clave:** arabinosilanos, extracción, subproducto.

### ABSTRACT

Arabinosylans (AX) are hemicellulose-type polysaccharides extracted mainly from cereals and agro-industrial by-products. They are formed by a chain of xylose, with ramifications of arabinose and other sugars. Also, they can have phenolic acids such as esterified ferulic acid that allows crosslinking of the chains making the polymer interesting for further applications. The characteristics of the AX depend on the source and the extraction process, so in this work a review of the extraction methods of AX from by-products of agro-industrial processes was carried out, focused on the universal strategy for the recovery of bioactive compounds. This technique is carried out in five stages, from the macroscopic to the micromolecular level to subsequently isolate the bioactive compounds using conventional or emerging techniques, depending on the costs and benefits of the processes and the characteristics of the matrix. The sample can be previously treated to facilitate extraction. Other extraction methods of interest are alkaline extraction, acid extraction and enzymatic extraction. The choice of the extraction technique is important to achieve maximum use and recovery of AX from agro-industrial by-products for applications in food, cosmetic and pharmaceutical industries.

**Keywords:** arabinosylans, extraction, by-product.



## INTRODUCCIÓN

Las industrias de procesamiento de cereales y frutas suelen no utilizar por completo algunas materias primas, como cáscaras, semillas, salvado, etc., siendo comúnmente consideradas como un desecho agroindustrial. Sin embargo, han resultado ser potencialmente valiosas al ser catalogadas como una fuente de extracción de ingredientes funcionales y bioactivos, además de ser de bajo costo (Bosmans *et al.*, 2014; Radenkovs *et al.*, 2018). Entre estos componentes encontramos compuestos fenólicos, así como polímeros como celulosa, hemicelulosa y lignina.

En las últimas décadas se ha observado un creciente interés en la utilización de recursos renovables para la obtención de materiales biológicos sostenibles. En este sentido, la extracción de compuestos antioxidantes y de hemicelulosas, como los arabinoxilanos, son una alternativa para la reutilización de la biomasa lignocelulósica no alimentaria procedente de los procesos agroindustriales (Peng *et al.*, 2019). Estos compuestos, de acuerdo con sus características estructurales, dadas por su método de extracción y la fuente de donde se obtienen, pueden presentar múltiples aplicaciones tecnológicas, ecológicas y/o económicas en algunas industrias como la agroalimentaria, cosmética y biomédica (Pérez *et al.*, 2019). Por esta razón en este trabajo se revisan las técnicas de extracción de arabinoxilanos de subproductos agroindustriales reportadas por varios autores.

### Componentes de la biomasa lignocelulósica

La biomasa lignocelulósica está compuesta principalmente por tres polímeros: celulosa (38-50%), hemicelulosas (23-32%) y lignina (15-25%) (Singh *et al.*, 2018). La celulosa es el polímero más abundante y forma microfibrillas que gracias a la hemicelulosa y la lignina se mantienen unidas a través de una combinación de enlaces covalentes y puentes de hidrógeno. (Naidu, *et al.*, 2018). Por otro lado, las hemicelulosas forman la segunda mayor parte de la biomasa después de la celulosa, siendo los xilanos, las hemicelulosas más abundantes y con características estructurales que dependen de la extracción (Limayem & Ricke, 2012).

Los xilanos son un grupo diverso de polisacáridos, que estructuralmente poseen una característica en común, tienen una cadena principal constituida de unidades de  $\beta$ -D-xilopiranosil ( $\beta$ -D-Xylp) unidas en una configuración ecuatorial (Ogaji *et al.*, 2012) mediante enlaces glicosídicos  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) (Cantu *et al.*, 2017). Según la fuente y el método de extracción, a la cadena principal de  $\beta$ -D-xilopiranosil se pueden unir ácidos urónicos como cadenas laterales, tales como el ácido 4-O-metil- $\alpha$ -D-glucorónico y el ácido  $\alpha$ -D-glucorónico, además de azúcares neutros como la  $\alpha$ -L-arabinosa, la  $\alpha$ -D-xilosa y la  $\alpha$ -D-galactosa (Cantu *et al.*, 2017). Esto da como resultado diferentes categorías de xilanos con composición y características estructurales particulares como los Glucuronoxilanos (GX), Homoxilanos, Arabinoglucuronoxilanos y Arabinoxilanos (AX) (Naidu *et al.*, 2018). Por su potencial aplicación en la industria este trabajo se centrará en las características y métodos de extracción de los arabinoxilanos.

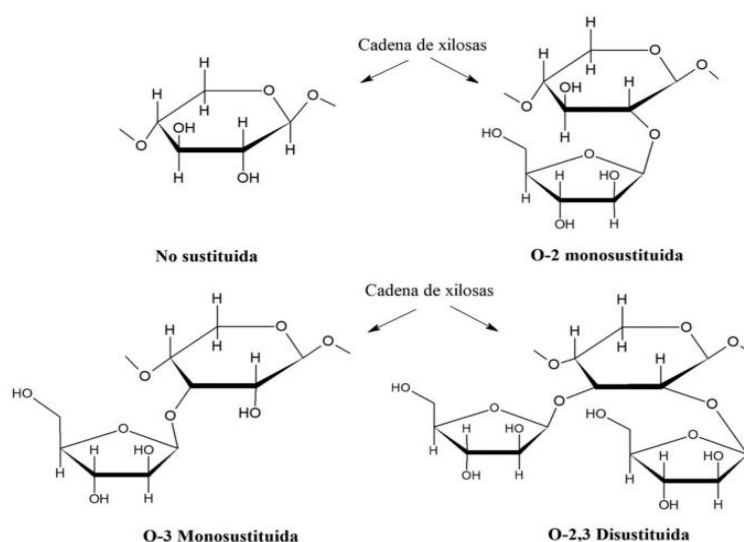
### Arabinoxilanos

Los arabinoxilanos (AX) son polisacáridos heterogéneos no amiláceos localizados en diversos tejidos de los granos de cereales (Izydorzcyk & Biliaderis, 2007) como lo son las paredes celulares del endospermo, la capa de aleurona y el pericarpio (Rosicka *et al.*, 2016). Los AX poseen propiedades que les permiten ser utilizados en la industria alimentaria y biomédica (Paz *et al.*, 2018), las cuales dependen de ciertas características del polisacárido, entre las que se encuentran la masa molar (MW), la proporción o relación arabinosa/xilosa (Ara/Xyl) y el perfil de ácidos hidroxicinámicos (HCA). Estas particularidades

dependerán de la fuente y del método de extracción (Saulnier, 2007). Debido a esto, es importante conocer la estructura de los AX para proponer alternativas para su aplicación.

### Estructura química de los arabinoxilanos

La estructura química de los AX consiste en una cadena principal de  $\beta$ -D-Xylopiranosa ( $\beta$ -D-Xylp) unidos entre sí mediante enlaces  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4), y grupos de  $\alpha$ -L-arabinofuranosil ( $\alpha$ -L-Araf) unidos a la cadena principal mediante enlaces  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3) y/o  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2) (Pérez *et al.*, 2019). Esto proporciona cuatro posibles estructuras diferentes: no sustituida, O-2 monosustituida, O-3 monosustituida y O-2,3 disustituida (Méndez *et al.*, 2019). La cantidad de unidades de  $\alpha$ -L-Araf y el grado de sustitución suelen afectar considerablemente las propiedades fisicoquímicas de los AX (Méndez *et al.*, 2018). En la Figura 1 se muestra una estructura química representativa a los AX y sus posibles sustituciones. Las propiedades de los AX dependen de su composición y características estructurales, por lo que en base a la constitución de las cadenas laterales serán dichas particularidades.



**Figura 1.** Estructuras representativas de arabinoxilanos sustituidos.

### Arabinoxilanos sustituidos

#### 1. Azúcares como sustituyentes

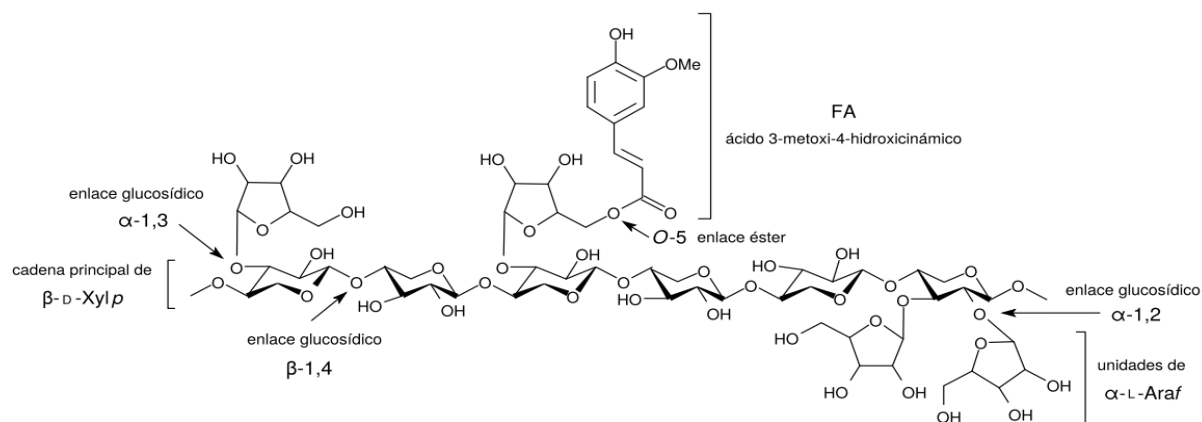
En la cadena principal de  $\beta$ -D-Xylp, además de unidades de  $\alpha$ -L-Araf también pueden encontrarse algunos residuos de azúcares como galactosa, xilosa y ácido glucorónico (Méndez *et al.*, 2018). Sin embargo, se han encontrado algunas otras variaciones en las sustituciones, tales como las que se presentan en la Tabla I. La presencia de ciertos azúcares en la estructura de los arabinoxilanos permite la ramificación a partir de la cadena principal de xilosas, lo cual está relacionado con el carácter hidrofílico del polisacárido, características estructurales y propiedades de solubilidad (Niño *et al.*, 2010).

**Tabla I.** Sustituciones encontradas en la cadena principal de  $\beta$ -D-Xylp.

Sustituyente	Posición en la cadena principal	Procedencia de los AX	Referencias
$\beta$ -D-Xylp(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-Araf(1 $\rightarrow$ 3)	O-3	Cáscara de cebada y arroz, mazorca de maíz y espelta de avena	(Coelho <i>et al.</i> , 2016).
Ácido $\alpha$ -glucorónico y/o ácido 4-O-metil-D-glucorónico (glucuronoxilanos)	—	Plantas dicotiledóneas como el tomate	(Nascimento <i>et al.</i> , 2016).
Grupos acetilados	O-3 y/o O-2,	Paja de trigo	(Sun <i>et al.</i> , 2005).

## 2. Derivados fenólicos

Los AX suelen poseer como característica estructural particular la presencia de ácidos fenólicos, tales como el ácido 3-metoxi-4-hidroxicinámico o FA y el ácido 4-hidroxicinámico o ácido *p*-cumárico. Estos ácidos suelen estar unidos a residuos de  $\alpha$ -L-Araf mediante enlaces éster en las posiciones O-5 (Bartolomé *et al.*, 2002) como se muestra en la Figura II. La presencia de FA influye sobre las propiedades fisicoquímicas de los AX, ya que la unión mediante un enlace covalente de al menos dos de estos residuos, genera el entrecruzamiento de las cadenas de AX, aumentando la viscosidad de la solución y favoreciendo la formación de hidrogeles (Katapodis *et al.*, 2003). Se han identificado arabinoxilanos ferulados (FAX) con estructuras de monómeros, dímeros y trímeros de FA (Ayala *et al.*, 2016). Del mismo modo, el FA puede formar enlaces covalentes con lignina (Kiszonas *et al.*, 2016), celulosa, glucosa,  $\beta$ -glucanos (Zhang *et al.*, 2014) y proteínas (Zhang *et al.*, 2014, Kiszonas *et al.*, 2016). Las posibles aplicaciones de los AX dependen en gran medida del FA presente en la molécula, por lo que el método y la fuente de extracción definen el contenido del ácido fenólico.


**Figura 2.** Estructura química representativa de una fracción de FAX.

### Clasificación de los arabinoxilanos

Los AX se clasifican, según su capacidad para disolverse en agua en arabinoxilanos extraíbles en agua y no extraíbles en agua, es decir, WEAX y WUAX respectivamente (Fadel *et al.*, 2018). La diferencia en la solubilidad puede estar influenciada por los patrones de sustitución, la MW, el grado de entrecruzamiento, enlaces covalentes entre los grupos hidróxilo de los AX y los grupos carboxilo de ácidos urónicos (Niño *et al.*, 2010) y la formación de puentes de di-FA entre cadenas de AX adyacentes (Zhang *et al.*, 2015).

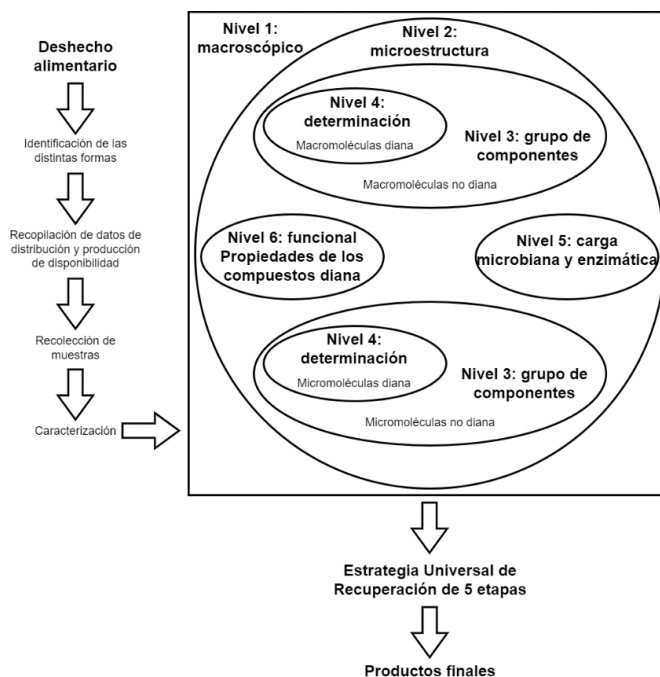
Los WEAX se localizan ligeramente unidos a la superficie de la pared celular, donde la presencia de cadenas laterales de  $\alpha$ -L-Araf, de glucosa y galactosa, puede evitar la interacción entre cadenas de AX, incrementando su solubilidad y por tanto su extractabilidad en agua (Muralikrishna & Subba Rao, 2007). Por otro lado, los WUAX, se encuentran enlazados a través de puentes de hidrógeno y enlaces covalentes, a componentes de la matriz celular, tales como proteínas y lignina (Courtin & Delcour, 2002). En cereales y subproductos de los mismos, el contenido de WUAX es mucho mayor que el de WEAX (Zhang *et al.*, 2014), es por ello que dichos subproductos son una potencial fuente de extracción de AX.

### Recuperación de WUAX

El establecimiento de una técnica de aislamiento y obtención de AX es de suma importancia para lograr el total aprovechamiento y recuperación de los compuestos de subproductos agroindustriales, para aplicaciones en diferentes áreas. Como ejemplos de posibles aplicaciones están la activación de los macrófagos murinos y el crecimiento de los pollos de engorda por el uso de AX extraídos de cáscara de maíz (Zhang *et al.*, 2004), la modulación de la microbiota colónica humana a través de la fermentación de O.acetil.arabinoxilano extraído de virutas de bambú (Huang *et al.*, 2019). Así como la integración de la extracción de AX de bagazo de caña de azúcar con la producción etanol (Campbell *et al.*, 2019), la utilización de AX extraídos de bagazo de zanahoria en el sistema alimentario como agentes texturizantes y controladores de humedad, debido a su alta capacidad de retención de agua (CRA) (Yadav *et al.*, 2017). En general, el proceso de extracción de AX define las características estructurales, composición, propiedades fisicoquímicas y posibles usos del polisacárido por lo que es necesario conocer las técnicas de extracción y aislamiento.

### Estrategia universal de recuperación de compuestos bioactivos

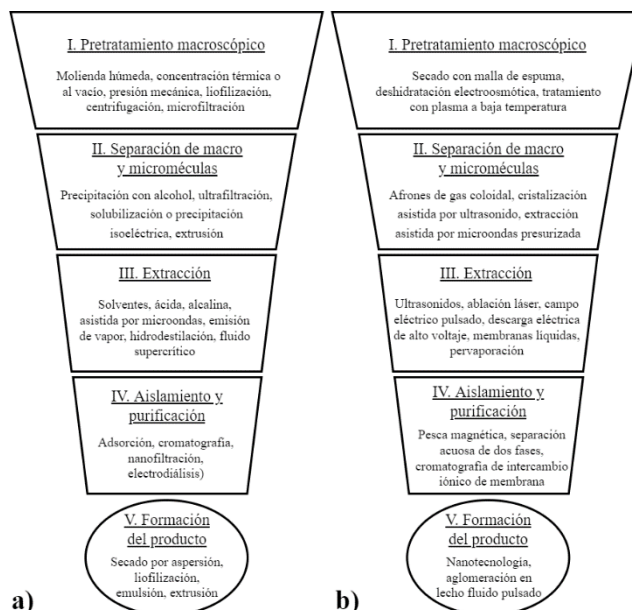
La recuperación de compuestos bioactivos de alto valor agregado a partir de subproductos agroindustriales y su reutilización en la industria puede llevarse a cabo mediante un proceso de recuperación universal de cinco etapas, aunque existen pasos que deben ejecutarse previamente (Galanakis, 2015). Una vez realizados dichos pasos, la recuperación del procedimiento posterior podría lograrse en cinco etapas distintas que siguen los principios de la química analítica. Este procedimiento se lleva a cabo realizando la separación desde el nivel macroscópico al macromolecular y luego al nivel micromolecular; para posteriormente aplicar un paso de clarificación o aislamiento y, finalmente, la formación del producto o la encapsulación de los compuestos objetivo como se observa en la Figura III (Galanakis, 2012). Cada paso puede realizarse con diferentes tecnologías convencionales (Figura IV A) o emergentes (Figura IV B) según el costo de procesamiento, la conveniencia y las restricciones específicas de cada matriz.



**Figura 3.** Desarrollo de la estrategia de recuperación universal.

### Pretratamiento de la muestra

En la extracción de WUAX a partir de subproductos de la industria de cereales, se han realizado y reportado diversos pretratamientos de muestra, que se realizan con la finalidad de retirar ciertos componentes que puedan interferir. Entre estos tratamientos destacan la remoción de humedad por secado en estufa a 60°C (Stoklosa *et al.*, 2019) o por liofilización (Perez *et al.*, 2019) y la reducción de tamaño por pulverización o fraccionamiento por tamizado logrando tamaños de 30 a 60  $\mu\text{m}$  (Arai *et al.*, 2019). Además, la hidrólisis enzimática del almidón utilizando Termamyl  $\alpha$ -amilasa termoestable y eliminando las maltodextrinas con lavados de agua destilada (Stoklosa *et al.*, 2019); el desalmidonado y desproteización por tratamientos enzimáticos con  $\alpha$ -amilasa y proteasas (Escarnot *et al.*, 2011); entre otros.



**Figura 4.** Proceso de recuperación universal de 5 etapas. a) Tecnologías convencionales y b) Tecnologías emergentes.

## MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

### 1. Extracción alcalina

Al aplicar tratamiento alcalino se genera el hinchamiento de la celulosa, lo que aumenta la solubilidad de la hemicelulosa y se afecta la estructura jerárquica nativa de esta y en donde la fracción liberada de WUAX es conocida también como arabinosilanos solubilizados en álcali (AS-AX) (Courtin & Delcour, 2002). Dicho tratamiento se realiza comúnmente con álcalis fuertes como NaOH (Pérez *et al.*, 2019), KOH (Sheikhi & Petroudy, 2018), Ba(OH)<sub>2</sub> (Tian *et al.*, 2015) y Ca(OH)<sub>2</sub> (Bender *et al.*, 2017).

### 2. Extracción ácida

La extracción de WUAX también puede darse en presencia de condiciones ácidas (Xu *et al.*, 2006). Por ejemplo, para lograr la extracción de 85.54% de AX de salvado de trigo se utilizó un pH de 5.5 ajustado con 0.1 mol/L de HCl, el tratamiento se realizó por 2 horas a 60°C (Zhou *et al.*, 2010).

### 3. Extracción enzimática

La extracción también puede ser el resultado del uso de hidrólisis enzimática con endo-β-(1,4)-xilanasas (EC 3.2.1.8, xilanasas), produciendo arabinosilanos solubilizados por enzimas (ES-AX) y que conlleva a la hidrólisis de la cadena principal y a una reducción en la MW (Van Craeyveld *et al.*, 2009). El tratamiento con dicha enzima, suele aplicarse por ejemplo, en la extracción de AX de salvado de centeno, por un tiempo de 1.5 horas a 50°C (Bender *et al.*, 2017).

### Aislamiento y purificación

Los AX pueden aislarse utilizando precipitación por acidificación, con etanol, fraccionamiento de membrana, por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) o por cromatografía de intercambio iónico (IEC) (Peng et al., 2012). Posteriormente, para la purificación destacan los métodos de extracción enzimática con  $\alpha$ -amilasa y proteasa y una posterior diálisis para eliminar especies con MW < 12 kDa (Anderson & Simsek, 2019). Finalmente, para la obtención de AX en polvo se necesita eliminar agua por secado a vacío a 50°C, por liofilización o aspersión (Jacquemin *et al.*, 2015).

### CONCLUSIONES

En este trabajo se realizó una revisión de los métodos de extracción de AX de subproductos agroindustriales, principalmente en la estrategia universal de recuperación de compuestos bioactivos. Esta estrategia se realiza en cinco etapas utilizando técnicas convencionales o emergentes, que dependerán de la matriz y de la relación costo-beneficio. Existen varios métodos de extracción de AX como la extracción con álcalis, con ácidos y por vía enzimática. La elección del método de extracción permitirá mejorar el aprovechamiento y posible aplicación del AX en áreas como la farmacéutica, cosmética y alimenticia.

### BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, C., & Simsek, S. (2019). A novel combination of methods for the extraction and purification of arabinoxylan from by-products of the cereal industry. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-9.
- Arai, T., Biely, P., Uhliariková, I., Sato, N., Makishima, S., Mizuno, M., & Amano, Y. (2019). Structural characterization of hemicellulose released from corn cob in continuous flow type hydrothermal reactor. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 127 (2), 222-230.
- Ayala, S. F. E., Serna, S. S. O., & Welti, C. J. (2016). Effect of processing time, temperature and alkali concentration on yield extraction, structure and gelling properties of corn fiber arabinoxylans. *Food Hydrocolloids*, 60, 21-28.
- Bartolomé, B., Santos, M., Jiménez, J., Del Nozal, M., & Gómez-Cordovés, C. (2002). Pentoses and hydroxycinnamic acids in brewer's spent grain. *Journal of Cereal Science*, 36 (1), 51-58.
- Bender, D., Nemeth, R., Wimmer, M., Götschhofer, S., Biolchi, M., Török, K., & Schoenlechner, R. (2017). Optimization of arabinoxylan isolation from rye bran by adapting extraction solvent and use of enzymes. *Journal of Food Science*, 82 (11), 2562-2568.
- Bosmans, T. J., Stépén, A. M., Toriz, G., Renneckar, S., Karabulut, E., Wågberg, L., & Gatenholm, P. (2014). Assembly of debranched xylan from solution and on nanocellulosic surfaces. *Biomacromolecules*, 15 (3), 924-930.
- Cantu, J. T. M., Iacomini, M., Cipriani, T. R., & Cordeiro, L. M. (2017). Isolation and characterization of a xylan with industrial and biomedical applications from edible açai berries (Euterpe oleraceae). *Food Chemistry*, 221, 1595-1597.
- Campbell, G. M., Mustač, N. C., Alyassin, M., Gomez, L. D., Simister, R., Flint, J., Philips, D. J., Gronnow, M. J., & Westwood, N. J. (2019). Integrated processing of sugarcane bagasse: Arabinoxylan extraction integrated with ethanol production. *Biochemical Engineering Journal* 146, 31-40.
- Coelho, E., Rocha, M. A. M., Moreira, A. S., Domingues, M. R. M., & Coimbra, M. A. (2016). Revisiting the structural features of arabinoxylans from brewers' spent grain. *Carbohydrate Polymers*, 139, 167-176.

- Courtin, C. M., & Delcour, J. A. (2002). Arabinoxylans and endoxylanases in wheat flour breadmaking. *Journal of Cereal Science*, 35 (3), 225-243.
- Escarnot, E., Aguedo, M., Agneessens, R., Wathelet, B., & Paquot, M. (2011). Extraction and characterization of water-extractable and water-unextractable arabinoxylans from spelt bran: Study of the hydrolysis conditions for monosaccharides analysis. *Journal of Cereal Science*, 53 (1), 45-52.
- Fadel, A., Plunkett, A., Li, W., Tessu, G. V. E., Nyaranga, R. R., Fadel, F., & Ashworth, J. J. (2018). Modulation of innate and adaptive immune responses by arabinoxylans. *Journal of Food Biochemistry*, 42 (2).
- Galanakis, C. M. (2012). Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends Food Sci. Technol.*, 26, 68-87.
- Galanakis, C. M. (2015). The universal recovery strategy. *Food Waste Recovery*, 59-81. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800351-0.00003-1>.
- Huang, J., Wang, Q., Xu, Q., Zhang, Y., Lin, B., Guan, X., Qian, L., & Zheng, Y. (2019). In vitro fermentation of O-acetyl-arabinoxylan from bamboo shavings by human colonic microbiota. *International Journal of Biological Macromolecules* 125, 27-34.
- Izydorczyk, M. S., & Biliaderis, C. G. (2007). Arabinoxylans: Technologically and nutritionally functional plant polysaccharides. En M. S. Biliaderis, C.G. & Izydorczyk (Ed.), *Functional Food Carbohydrates*, 249-283. Boca Raton, Florida, United States: CRC Press Taylor and Francis Group. doi: <https://doi.org/10.1201/9781420003512>.
- Jacquemin, L., Mogni, A., Zeitoun, R., Guinot, C., Sablayrolles, C., Saulnier, L., & Pontalier, P. Y. (2015). Comparison of different twin-screw extraction conditions for the production of arabinoxylans. *Carbohydrate Polymers*, 116, 86-94.
- Katapodis, P., Vardakou, M., Kalogeris, E., Kekos, D., Macris, B. J., & Christakopoulos, P. (2003). Enzymic production of a feruloylated oligosaccharide with antioxidant activity from wheat flour arabinoxylan. *European Journal of Nutrition*, 42 (1), 55-60.
- Kiszonas, A. M., Fuerst, E. P., & Morris, C. F. (2013). Wheat arabinoxylan structure provides insight into function. *Cereal Chemistry*, 90 (4), 387-395
- Limayem, A., & Ricke, S. C. (2012). Lignocellulosic biomass for bioethanol production: current perspectives, potential issues and future prospects. *Progress in Energy and Combustion Science*, 38 (4), 449-467
- Mendez, E. M. A., Carvajal, M. E., Rascon, C. A., Astiazaran, G. H. F., & Valencia, R. D. E. (2018). Ferulated Arabinoxylans and Their Gels: Functional Properties and Potential Application as Antioxidant and Anticancer Agent. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018.
- Mendez, E. M. A., Carvajal, M. E., Rascon, C. A., López, F. Y. L. & Lizardi, M. J. (2019). Arabinoxylans and the remaining protein fraction relationship with the gelling capability of the polysaccharide. *Acta universitaria* 29, <https://doi.org/10.15174/au.2019.1755>.
- Muralikrishna, G., & Subba Rao, M. (2007). Cereal non-cellulosic polysaccharides: structure and function relationship—an overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47 (6), 599-610.
- Naidu, D. S., Hlangothi, S. P., & John, M. J. (2018). Bio-based products from xylan: A review. *Carbohydrate Polymers*, 179, 28-41.
- Nascimento, G. E. d., Baggio, C. H., Werner, M. F. D., Iacomini, M., & Cordeiro, L. M. (2016). Arabinoxylan from Mucilage of Tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.): Structure and Antinociceptive Effect in Mouse Models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (6), 1239-1244



- Niño, M. G. , Carvajal, M. E. , Rascon, C. A. , Marquez, E. J., Guerrero, V. , & Salas, M. E. (2010). Feruloylated arabinoxylans and arabinoxylan gels: Structure, sources and applications. *Phytochemistry Reviews* , 9 (1), 111-120. doi: <https://doi.org/10.1007/s11101-009-9147-3>
- Paz, S. R., Rascón, C. A., Brown, B. F., Carvajal, M. E., Pedroza, M. M., Silva, C. E., & Lizar, M. J. (2018). Electrospray-assisted fabrication of coreshell arabinoxylan gel particles for insulin and probiotics entrapment. *Journal of Applied Polymer Science*, 135 (26), 46411.
- Peng, F., Peng, P., Xu, F., & Sun, R. C. (2012). Fractional purification and bioconversion of hemicelluloses. *Biotechnology Advances*, 30 (4), 879-903.
- Peng, X., Nie, S., Li, X., Huang, X., & Li, Q. (2019). Characteristics of the Water-and Alkali-Soluble Hemicelluloses Fractionated by Sequential Acidification and Graded-Ethanol from Sweet Maize Stems. *Molecules*, 24 (1), 212.
- Pérez, F. J. G., Contreras, L. E., Castañeda, O. A., Pérez, M. F., Aguilar, A. K., Álvarez, R. G. A., & Téllez, J. A. (2019). Physicochemical characterization of an arabinoxylan-rich fraction from brewers' spent grain and its application as a release matrix for caffeine. *Food Research International*, 116, 1020-1030.
- Radenkovs, V., Juhnevica, R. K., Górnas, P., & Seglina, D. (2018). Non-waste technology through the enzymatic hydrolysis of agro-industrial by-products. *Trends in Food Science & Technology*, 77, 64-76.
- Rosicka, K. J., Komisarczyk, A., Nebesny, E., & Makowski, B. (2016). The influence of arabinoxylans on the quality of grain industry products. *European Food Research and Technology*, 242 (3), 295-303.
- Saulnier, L., Sado, P. E., Branlard, G., Charmet, G., & Guillon, F. (2007). Wheat arabinoxylans: exploiting variation in amount and composition to develop enhanced varieties. *Journal of Cereal Science*, 46 (3), 261-281.
- Sheikhi, P., & Petroudy, S. R. D. (2018). Comparative Study of Xylan Extracted by Sodium and Potassium Hydroxides (NaOH and KOH) from Bagasse Pulp: Characterization and Morphological Properties. *Journal of Polymers and the Environment*, 26 (9), 3710-3717.
- Singh, J. K., Vyas, P., Dubey, A., Upadhyaya, C. P., Kothari, R., Tyagi, V., & Kumar, A. (2018). Assessment of different pretreatment technologies for efficient bioconversion of lignocellulose to ethanol. *Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)*, 10, 350-371
- Stoklosa, R. J., Latona, R. J., Bonnaille, L. M., & Yadav, M. P. (2019). Evaluation of Arabinoxylan Isolated from Sorghum Bran, Biomass, and Bagasse for Film Formation. *Carbohydrate Polymers*, 213, 382-392.
- Sun, X. F., Sun, R., Fowler, P., & Baird, M. S. (2005). Extraction and characterization of original lignin and hemicelluloses from wheat straw. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (4), 860-870.
- Tian, L., Gruppen, H., & Schols, H. A. (2015). Characterization of (glucurono) arabinoxylans from oats using enzymatic fingerprinting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63 (50), 10822-10830.
- Van Craeyveld, V., Holopainen, U., Selinheimo, E., Poutanen, K., Delcour, J. A., & Courtin, C. M. (2009). Extensive dry ball milling of wheat and rye bran leads to in situ production of arabinoxylan oligosaccharides through nanoscale fragmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (18), 8467-8473.
- Xu, F., Liu, C., Geng, Z., Sun, J., Sun, R., Hei, B., & Je, J. (2006). Characterisation of degraded organosolv hemicelluloses from wheat straw. *Polymer Degradation and Stability*, 91 (8), 1880-1886.
- Yadav, M. P., Kale, M. S., Hicks, K. B., & Hanah, K. (2017). Isolation, characterization and the functional properties of cellulosic arabinoxylan fiber isolated from agricultural processing by-products, agricultural residues and energy crops. *Food Hydrocolloids*, 63, 545-551.

- Zhang, S., Li, W., Smith, C., & Musa, H. (2015). Cereal-derived arabinoxylans as biological response modifiers: extraction, molecular features, and immune-stimulating properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55 (8), 1035-1052
- Zhang, Z., Smith, C., & Li, W. (2014). Extraction and modification technology of arabinoxylans from cereal by-products: A critical review. *Food Research International*, 65, 423-436.
- Zhang, P., Wampler, J., Bhunia, A. K., Burkholder, K. M., Patterson, J. A., & Whistler, R. L. (2004). Effects of Arabinoxylans on Activation of Murine Macrophages and Growth Performance of Broiler Chicks. *Cereal Chemistry*, 81 (4), 511-514.
- Zhou, S., Liu, X., Guo, Y., Wang, Q., Peng, D., & Cao, L. (2010). Comparison of the immunological activities of arabinoxylans from wheat bran with alkali and xylanase-aided extraction. *Carbohydrate Polymers*, 81 (4), 784-789.

## **Extracción de compuestos bioactivos a partir de los subproductos de la tuna (*Opuntia ficus-indica* spp.): Tendencias y aplicaciones recientes en alimentos**

C.Y. Lazcano-Hernández<sup>1</sup>, A.A. Hernández-Hernández<sup>1</sup>, L. García-Curiel<sup>2</sup>, E. Pérez-Escalante<sup>1</sup>, E. Contreras-López<sup>1</sup> y J.G. Pérez-Flores\*<sup>1</sup>

**1** Área Académica de Química, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo; México, C.P. 42184. **2** Área Académica de Enfermería, Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo; México, C.P. 42184.

\*[jesus.perez@uaeh.edu.mx](mailto:jesus.perez@uaeh.edu.mx)

### **RESUMEN**

La tuna es una fruta que se obtiene de *Opuntia ficus-indica* spp., un arbusto que pertenece a la familia de las cactáceas y que desempeña un papel de gran importancia agronómica a nivel mundial. Actualmente, la producción primaria e industrialización de la tuna genera grandes cantidades de subproductos, tales como frutos dañados mecánicamente, cáscaras, semillas y bagazo, los cuales generan problemas ambientales y pérdidas económicas debido a que no son utilizados eficientemente, de manera que sólo una mínima parte es utilizada como forraje para el ganado. Afortunadamente, en los últimos años, diversos autores han señalado a los subproductos de la tuna como una fuente potencial para la extracción de compuestos bioactivos, tales como fitoquímicos y fibras insolubles, los cuales pueden ser utilizados en el desarrollo de nuevos alimentos o aditivos naturales. Por ejemplo, se ha reportado que contiene ácidos grasos; antioxidantes como la vitamina E, los tocoferoles y la vitamina C; pigmentos (betalainas) y flavonoides como la rutina y la quercetina.

**Palabras clave:** *Opuntia ficus-indica*, métodos de extracción, compuestos bioactivos.

### **ABSTRACT**

Prickly pear is a fruit produced by *Opuntia ficus-indica* spp., a shrub that belongs to the cacti family and that plays an important agronomic role worldwide. Currently, the primary production and industrialization of prickly pear generates large amounts of by-products, such as mechanically damaged fruits, shells, seeds and bagasse. These by-products generate environmental problems and economic losses because they are not used efficiently, only a minimum part is used as fodder for cattle. Fortunately, in recent years, prickly pear by-products have been pointed as a potential source for the extraction of bioactive compounds, such as phytochemicals and insoluble fibers, which can be used in the development of new foods or natural additives. Other bioactive compounds of interest that can be isolated from prickly pear by-products are fatty acids; antioxidants such as vitamin E, tocopherols, and vitamin C; pigments (betalains) and flavonoids such as rutin and quercetin.

**Keywords:** prickly pear, extraction methods, bioactive compounds.

## 1. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, la industria alimentaria produce millones de toneladas de subproductos provenientes de la limpieza, el procesamiento, la cocción y/o el envasado de productos agrícolas. Estos subproductos se han convertido en un grave problema ambiental y generan pérdidas económicas, debido a que no son utilizados eficientemente y no se cuenta con políticas adecuadas para su manejo, por lo que a menudo son utilizados como alimento para animales o como fertilizantes.

En los últimos años, diversos autores han señalado a los subproductos como una importante fuente de compuestos bioactivos los cuales pueden ser utilizados en el desarrollo de nuevos alimentos o aditivos naturales (Dueñas & García-Estévez, 2020; Silva, Benites, & Gomero, 2008). Por ejemplo, Silva et al. (2008) realizaron la extracción y caracterización de las pectinas de los frutos del níspero de la sierra (*Nespilus germánica*) y de la granadilla (*Pasiflora ligularis*). El alto grado de esterificación y peso molecular elevado, confirmaron que las pectinas obtenidas pueden ser empleadas en la elaboración de mermeladas, jaleas, confites, yogures de frutas, en bebidas de bajas calorías, alimentos probióticos, entre otros.

La tuna es una fruta que se obtiene de *Opuntia ficus-indica* spp., un arbusto que pertenece a la familia de las cactáceas, la cual es también conocida como nopal. Las distintas partes de la planta contienen una cantidad considerable de compuestos bioactivos tales como fenoles, flavonoides, antocianinas, betaxantina y betacianina, vitamina C, carotenoides, vitamina E y otros antioxidantes, como ligninas, esteroides, ésteres, saponinas y alcaloides.

Durante su producción primaria e industrialización, la tuna genera grandes cantidades de subproductos, tales como frutos dañados mecánicamente, cáscaras, semillas y bagazo. Estos subproductos, como ya se ha mencionado anteriormente, son generalmente desechados o utilizados como forraje, sin embargo, su alto contenido de compuestos bioactivos le confiere un uso potencial en la formulación, enriquecimiento y mejoramiento de productos alimenticios (Almanza-Merchán & Fischer, 2012; Tahir, Xiaobo, Komla, & Mariod, 2019).

Por ejemplo, Msaddak et al. (2017) evaluaron el perfil de compuestos bioactivos de subproductos de *O. ficus-indica* para su integración en la producción de pan, la sustitución al 5% de la harina de trigo por el polvo de cladodios mejoró considerablemente el contenido total de fenoles y el potencial antioxidante del pan sin tener ningún efecto negativo en su aceptabilidad sensorial. Por lo que los cladodios de *O. ficus-indica* podrían considerarse como un potencial ingrediente funcional promotor de la salud en los productos de panadería.

Aunque, el aprovechamiento de subproductos alimentarios ha aumentado, no se cuenta con información suficiente que permita aprovechar al máximo los compuestos bioactivos extraídos a partir de subproductos de la tuna. Por lo que, este trabajo permitirá identificar sus posibles aplicaciones en la industria alimentaria, así como los métodos de extracción de compuestos bioactivos, a partir de los subproductos de la tuna, mediante la recopilación y la revisión de artículos científicos y capítulos de libros relacionados con el tema, con el propósito de incentivar el emprendimiento de nuevas investigaciones.

## 2. *Opuntia ficus-indica* spp.

El nopal (*Opuntia ficus-indica*) es un cactus domesticado de la familia de las cactáceas que puede alcanzar de 3 a 5 m de altura, tiene un tronco corto y robusto de 30 -45 cm de diámetro con tallos de color verde grisáceo formados por una serie de segmentos carnosos ovalados de 25-60 cm de largo y 20-40 cm de ancho. En México, el fruto de *Opuntia* spp. se denomina comúnmente como “tuna” la cual es una fruta carnosa de forma ovalada con abundantes semillas que está recubierta con una cáscara gruesa y espinosa. Es un fruto no climatérico que tiene un diámetro entre 5.7-6.8 cm, longitudes desde 5.2-12

cm y un peso alrededor de 45 a 280 g (Almanza-Merchán & Fischer, 2012; Fideicomiso de Riesgo Compartido, 2017; Lim, 2012).

### 2.1. Variedades de *Opuntia ficus-indica* spp.

En general, la variedades de tuna presentan características similares pero se distinguen principalmente por la coloración de su pulpa, entre las que destacan rojo siciliano (Sanguigna), amarilla (Surfarina) y blanca (Muscaredda); o bien por el color de la cáscara, el cual puede cambiar de verde a naranja-amarillo para los cultivares amarillos (Gialla), de verde a rojo rubí para los cultivares de tuna roja (Rossa) y de verde a verde blanquecino para los cultivares de color blanco (Bianca) (FAO, 2018).

### 2.2. Producción y comercialización en México

La producción de tuna se lleva a cabo en aproximadamente 32 países, entre los cuales destaca México al aportar el 44% de la producción mundial (Almanza-Merchán & Fischer, 2012). Este cuenta con aproximadamente 20 mil productores de tuna, quienes producen alrededor de 352 mil toneladas anuales cosechadas en 48 mil hectáreas (Almanza-Merchán & Fischer, 2012; Fideicomiso de Riesgo Compartido, 2017). El mayor volumen de producción se concentra en los estados de México, Zacatecas, Puebla e Hidalgo, los cuales representan el 80% de la producción nacional (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2018).

### 2.3. Composición química

La composición química de las tunas depende de muchos factores tales como, especie, variedad, manejo del cultivo, manejo postcosecha y, en mayor medida, la madurez, debido a que la tuna es una fruta no-climática, por lo que es importante cosechar en el punto de madurez óptimo de consumo (Piga, 2004).

La pulpa está compuesta por agua (84-90%) y azúcares reductores (10% a 15%), siendo la glucosa y fructosa los azúcares predominantes. Además, la pulpa es rica en minerales como, calcio, magnesio, potasio y fósforo (Almanza-Merchán & Fischer, 2012; Kossori, Villaume, Boustani, Sauvair, & Méjean, 1998; Piga, 2004). Por otra parte, El Kossori et al. (1998) analizaron la composición química de las semillas y el pericarpio mostrando que las semillas tienen un alto contenido de celulosa, proteínas y lípidos, mientras que la cáscara tiene mayores concentraciones de calcio y potasio. Además, determinaron que la glucosa es el principal carbohidrato presente en la cáscara comparado con la sacarosa y fructosa las cuales se encuentran en pequeñas cantidades (Tabla I).

**Tabla I.** Composición de la tuna.

	<b>Cáscara</b>	<b>Semillas</b>	<b>Pulpa</b>
<b>Composición química</b>	% p/p, materia seca		
Proteína	8.30	11.8	5.3
Lípidos	2.43	6.77	0.97
Fibra	40.8	54.2	20.5
Cenizas	12.1	5.90	8.5

Fuentes: El Kossori et al. (1998).

El contenido de otros componentes, como los lípidos, las proteínas y la fibra son similares a las de otras frutas. Los lípidos están distribuidos en la pulpa, las semillas y la cáscara, esta última contiene cantidades considerables de ácidos grasos poliinsaturados, principalmente ácido linoleico,  $\alpha$ -tocoferol, esteroides,  $\beta$ -

caroteno y vitamina K1. Por otra parte, el  $\gamma$ -tocoferol es el componente predominante en la semilla y el  $\delta$ -tocoferol se encuentra principalmente en la pulpa, mientras que el ácido linoleico es el ácido poliinsaturado mayoritario tanto en la pulpa como en la semilla (Ramadan & Mörsel, 2003).

### 2.3.1. Compuestos bioactivos

Las distintas partes de *Opuntia ficus-indica* spp. son consideradas como una fuente importante de compuestos bioactivos tales como, fenoles, flavonoides, antocianinas, betaxantina y betacianina, vitamina E, vitamina C, carotenoides, ligninas, entre otros (FAO, 2018; Astello-García et al., 2015; De Leo, Abreu, Pawlowska, Cioni, & Braca, 2010; Guevara-Figueroa et al., 2010; Tahir et al., 2019). Los cladodios, por ejemplo presentan un perfil fenólico importante, Guevara-Figueroa et al. (2010) identificaron varios glucósidos flavonoides como isoquercitrina, kaempferol-3-O-rutinósido, isorhamnetina-3-O-glucósido e isorhamnetina-3-O-rutinósido en los cladodios de *Opuntia* spp. Astello-García et al. (2015) encontraron que los principales compuestos fenólicos presentes en diferentes variedades de cladodios de *O. ficus-indica* son el ácido eucómico, el kaempferol 3-O-robinobiosido-7-O-arabinofurósido, la isorhamnetina 3-O-galactósido y la isorhamnetina 3-O-rhamnosido-7-O-rhamnosil hexósido).

En cuanto al fruto, se ha reportado que contiene una cantidad considerable de compuestos bioactivos como betalainas, ácido ascórbico, carotenoides, además de flavonoles como la isorhamnetina, la quercetina y los derivados glucosilados del kaempferol (Mena et al., 2018; Tahir et al., 2019). Mena et al. (2018) realizaron caracterización fitoquímica de la pulpa y cáscara de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., identificaron flavonoides como Kaempferol-di-ramnosa-hexósido Isorhamnetina-ramnosa-rutinósido y Quercetina-hexósido-pentósido; ácidos fenólicos como el ácido cafeico y derivados del ácido ferúlico; y los lignanos, además de otros compuestos como betalainas (Betanina e Isobetanina).

Por otro lado, se ha reportado que los polifenoles y los flavonoides son los principales compuestos bioactivos de las flores de *O. ficus-indica* (Tahir et al., 2019). De leo et al. (2010) identificaron compuestos como kaempferol, quercetina y derivados glucosilados de isorhamnetina.

### 3. Métodos de extracción y purificación de compuestos bioactivos a partir de subproductos de *Opuntia ficus-indica* spp.

En los últimos años se ha descrito una estrategia universal de recuperación de compuestos destinada a la obtención viable, sostenible y segura de los mismos a partir de subproductos alimentarios (Galanakis, 2012, 2015). La recuperación puede llevarse a cabo en cinco etapas distintas, aunque se pueden eliminar etapas y/o cambiar el orden con el propósito de separar eficazmente los compuestos de la matriz alimentaria. El proceso suele pasar del nivel macroscópico al macromolecular. Posteriormente, se realiza la extracción (o eliminación) de compuestos bioactivos de interés y, finalmente, la purificación y encapsulación de los compuestos deseados (Galanakis, 2015).

#### 3.1. Pretratamiento de la muestra

En esta primera etapa se lleva a cabo el tratamiento macroscópico de la matriz de los subproductos alimentarios, el cual tiene como objetivo ajustar del contenido de agua, sólidos y grasas, la activación o desactivación de enzimas, la moderación de la carga microbiana y el aumento de la permeabilidad de la matriz (Galanakis, 2015). Para el caso de los subproductos de *O. ficus-indica*, diversos autores han realizado una reducción en el tamaño de la muestra mediante la molienda para facilitar y mejorar el rendimiento en las siguientes etapas de separación y extracción (Kossori et al., 1998; Lefsih et al., 2017; Lira-Ortiz et al., 2014; Manzur-Valdespino et al., 2020; Msaddak et al., 2017).

Por otro lado, se han realizado procesos térmicos con la finalidad de activar/desactivar enzimas clave como la pectina metil esterasa o polifenol oxidasa, las cuales afectan el rendimiento y la calidad de

compuestos de interés, como la pectina y los fenoles (Galanakis, 2015; Lefsih et al., 2017; Lira-Ortiz et al., 2014; Msaddak et al., 2017).

Otro proceso utilizado para el pretratamiento de muestras de subproductos de tuna es la liofilización, sin embargo, esta presenta algunas limitaciones como un alto consumo de tiempo y energía, así como un mayor costo debido a la presencia de condiciones de vacío (Galanakis, 2012; Kossori et al., 1998; Manzur-Valdespino et al., 2020).

### 3.2. Separación de macro y micromoléculas

La segunda etapa consiste en la separación de los compuestos pequeños (antioxidantes, ácidos o iones) de las macromoléculas (proteínas o fibras alimentarias). Este procedimiento suele realizarse mediante precipitación con alcohol, ya que es un método barato y de fácil aplicación. Sin embargo, no es selectivo ni permite separar los complejos formados entre las moléculas más pequeñas y las más grandes (Ammar, Ennouri, & Attia, 2015; Ciriminna et al., 2019; Coba, Flores, Elizabeth, & Salazar Llangari, 2019; Galanakis, 2012, 2015; Lira-Ortiz et al., 2014).

Por otra parte, Ciriminna et al. (2019) realizaron la separación de pectina de las cáscaras de *Opuntia ficus-indica* mediante la precipitación con etanol (relación molar 25:1 etanol:agua) seguido de una centrifugación a 4000 rpm durante 40 min. Lira-Ortiz et al. (2014) también realizaron la extracción de pectina y de betanina a partir de residuos de frutos de nopales (*Opuntia albicarpa*) utilizando etanol al 96%, con el propósito de eliminar las sales y los azúcares libres. Otro tipo de proceso eficaz para la separación de macromoléculas es la ultrafiltración a través del uso de membranas, ya que son fáciles de usar y no son destructivas (Galanakis, 2015).

### 3.3. Extracción de compuestos de interés *Opuntia ficus-indica* spp.

#### 3.3.1. Polímeros

Los principales componentes de los cladodios y la cáscara de *O. ficus-indica* spp. son polímeros que contienen carbohidratos, los cuales comprenden una mezcla de mucílago y pectina (FAO, 2008). La extracción de estos compuestos resulta de gran importancia para su uso en la industria alimentaria como espesante en alimentos debido a su capacidad de absorber agua (Sáenz, Sepúlveda, & Matsuhira, 2004).

La extracción de estos compuestos se ha realizado utilizando métodos tradicionales como Soxhlet y maceración (Lefsih et al., 2017). Diversos autores han realizado la extracción y purificación del mucílago, la mayoría de ellos homogenizan las cactáceas con agua y etanol para su precipitación (Cárdenas, Higuera-Ciapara, & Goycoolea, 1997; Saag, Sanderson, Moyna, & Ramos, 1975; Sáenz et al., 2004). Sin embargo, los métodos de extracción convencionales tienen los inconvenientes de tener un tiempo de extracción más largo y de requerir una cantidad considerable de solventes. Por lo que, muchos autores se han interesado por las tecnologías emergentes como método alternativo para mejorar la extracción (Lefsih et al., 2017). Por ejemplo, Lefsih et al. (2017) estudiaron la extracción asistida por microondas (MAE) de pectina soluble en agua de cladodios de *O. ficus-indica*. Reduciendo el consumo de energía y de cantidades de disolventes orgánicos. La extracción con este método mejoró un 12.56% la recuperación de pectina comparado al método convencional.

#### 3.3.2. Pigmentos

Hoy en día, los consumidores desean comprar alimentos con colorantes naturales debido a la toxicidad de los colorantes sintéticos. En el caso de los subproductos de tuna la variación de color se atribuye principalmente a la combinación de dos pigmentos hidrosolubles derivados de las betalainas y son betaxantinas (amarillo) y betacianinas (rojo) (Prakash Maran & Manikandan, 2012; Tahir et al., 2019). La obtención de colorantes naturales a partir de tuna para su uso alimenticio se realiza con base a la

estrategia universal, ya que se inicia por el pretratamiento de la muestra mediante secado, seguido de la extracción por solventes y finaliza con la purificación (Coba et al., 2019).

Coba et al. (2019) realizaron la extracción de pigmentos naturales de *Opuntia ficus-indica*. El proceso de obtención se desarrolló inicialmente por secado (liofilización), el sólido resultante se sometió a extracción con etanol al 96 % en equipo Soxhlet. Posteriormente la mezcla se purificó mediante destilación y se obtuvo el colorante.

Uno de los inconvenientes de los métodos de extracción convencionales para la recuperación de pigmentos de *Opuntia* es el uso de grandes cantidades de disolvente, así como varios procesos de purificación lo que limita su uso a escalas industriales. Por lo anterior, es de gran importancia encontrar nuevas tecnologías que permitan reducir o eliminar el uso de disolventes tóxicos, además de reducir el tiempo y la energía de las operaciones, así como la mejora de los rendimientos de extracción (Koubaa et al., 2016). Por ello, diversos autores se han interesado por tecnologías emergentes las cuales reducen o eliminan los disolventes tóxicos, minimizan tiempo y energía de las operaciones (Galanakis, 2012). Por ejemplo, Koubaa et al. (2016) evaluaron el potencial de la extracción con campos eléctricos pulsados (PEFs) y ultrasonidos (USNs) mejorando la extracción de colorantes rojos (betanina/isobetanina) de las cáscaras y pulpas de nopales rojos (*Opuntia stricta* Haw).

### 3.3.1. Compuestos antioxidantes

Se ha reportado que las distintas partes de la planta de nopal (pulpa, cáscara, semillas y cladodios) tienen elevadas cantidades de compuestos antioxidantes como polifenoles, flavonoides, betaxantina y betacianina. La extracción con disolventes es una de las más utilizadas y es de gran utilidad para la obtención de compuestos bioactivos (Galanakis, 2015). Sin embargo, la eficacia de la extracción se ve afectada por factores como el tipo de disolvente y el método de extracción (Ammar et al., 2015; Guevara-Figueroa et al., 2010).

Guevara-Figueroa et al. (2010), realizaron la extracción de los ácidos fenólicos y flavonoides de dos especies comerciales y ocho silvestres de *Opuntia* spp. utilizando etanol a temperatura ambiente durante 48 horas bajo agitación mecánica. Por otro lado, Ammar et al. (2015), evaluaron el efecto de diferentes disolventes utilizando dos métodos de extracción para el contenido total de polifenoles y flavonoides de las flores de *O. ficus-indica*. En este estudio la extracción por Soxhlet, usando MeOH como disolvente, tiene una buena reproducibilidad y eficiencia sobre otros métodos. Además, los extractos obtenidos por este método presentaron elevada actividad antioxidante.

### 3.4. Aislamiento y purificación de los compuestos bioactivos

Para el aislamiento y purificación de compuestos bioactivos de *Opuntia* se han realizado diversos estudios, por ejemplo, Ciriminna et al. (2019), realizaron la extracción de pectina y betanina de la cáscara de *O. ficus-indica* mediante hidrodifusión asistida por microondas, la pectina precipitada se aisló en forma de cristales de gran pureza mediante liofilización. Sin embargo, este proceso de secado consume más tiempo y energía en comparación con otros métodos tales como el secado por aspersión (Galanakis, 2015).

En otro estudio, Lira-Ortiz et al. (2014) llevaron a cabo el proceso de extracción de pectina a partir de subproductos de frutos de *Opuntia albicarpa*, los cuales se secaron a 45°C en un horno de convección, se molieron y tamizaron para producir un polvo homogéneo el cual fue almacenado para su posterior caracterización. Diversos autores han descrito en su metodología el uso de este proceso de secado para el aislamiento y purificación de pectinas (Bayar et al., 2017; Goycoolea & Cardenas, 2003; Lefsih et al., 2017; Lira-Ortiz et al., 2014; Silva et al., 2008). Por ejemplo, Lefsih et al. (2017), después de realizar la extracción asistida por microondas de pectina de los cladodios de *O. ficus indica*, secaron el extracto a 45°C en la estufa de aire caliente hasta obtener un polvo.



#### 4. Tendencias y aplicaciones recientes de los compuestos bioactivos de *Opuntia ficus-indica* spp.

En general, el uso de subproductos de tuna se ha enfocado principalmente en el desarrollo de nuevos productos. Entre los alimentos elaborados a base del fruto se encuentran: mermeladas, jugos y néctares; productos deshidratados; jugos concentrados, jarabes y licores. Por otro lado, entre los productos elaborados a base de los cladodios se encuentran: encurtidos, jugos, mermeladas y otros productos mínimamente procesados. Sin embargo, debido a su composición nutricional y funcional, el uso de los subproductos de *Opuntia ficus-indica* spp. en la industria alimentaria se ha enfocado en la formulación, enriquecimiento y desarrollo de nuevos productos, o bien, para formar parte de la gama de aditivos naturales (Tabla II) (Bouazizi, Montevecchi, Antonelli, & Hamdi, 2020; Chacón-Garza et al., 2020; Chougui et al., 2015; Manzur-Valdespino et al., 2020; Msaddak et al., 2017; Sáenz & Berger, 2006).

**Tabla II.** Ejemplos del uso de *Opuntia ficus-indica* spp. en la industria alimentaria.

Aplicaciones en alimentos	Parte de la planta	Referencia
Elaboración de suplementos alimenticios.	Pulpa y cáscara	Manzur <i>et al.</i> (2020)
Ingrediente funcional en la elaboración de pan.	Cladodios	Msaddak <i>et al.</i> (2017)
Elaboración de Jalea.	Pulpa	Chacón-Garza <i>et al.</i> (2020)
Antioxidante para conservación de la margarina.	Cáscara	Chougui <i>et al.</i> (2015)
Ingrediente en la formulación de galletas.	Cáscara	Bouazizi <i>et al.</i> (2020)

En el caso de los cladodios, segregan un flujo espeso llamado mucílago, el cual es un carbohidrato complejo con gran capacidad para absorber agua, esta propiedad le confiere un uso potencial en la industria alimentaria como espesante en alimentos, tales como las preparaciones en polvo para mezclarse con agua o jugos antes del consumo (Sáenz et al., 2004). Además, se ha evaluado su uso para el desarrollo de películas comestibles con el fin de disminuir los residuos de envases desechables contenedores de alimentos (Del-Valle, Hernández-Muñoz, Guarda, & Galotto, 2005).

Del Valle et al. (2005) probaron películas comestibles de mucílago extraído de *Opuntia ficus-indica* con el fin de determinar sus efectos sobre la calidad sensorial de la fresa. A partir de los resultados, concluyeron que el uso de recubrimientos de mucílago permite aumentar la vida útil de la fruta. Asimismo, *O. ficus-indica* se ha propuesto como un producto de interés para la industria de los complementos alimenticios (Manzur-Valdespino et al., 2020). Y es que, de acuerdo con Manzur et al. (2020), quienes evaluaron el uso *Opuntia ficus-indica* L. Mill en la elaboración de suplementos alimenticios, determinaron que los añadidos con el polvo de subproductos (mesocarpio y pericarpio) del fruto presentaron un mayor contenido fenólico total a comparación de otras formulaciones, además de exhibir buenos valores en la capacidad de retención de lípidos y agua, concluyendo que los comprimidos elaborados con subproductos de *Opuntia* poseen un uso potencial en la industria de los suplementos alimenticios al aportar propiedades funcionales y antioxidantes.

Como se mencionó anteriormente, las betalainas son pigmentos solubles en agua derivados del ácido betalámico, principales responsables del color rojo y amarillo de *Opuntia ficus-indica*. Dentro de las betacianinas se encuentra la betanina, que es utilizada principalmente para colorear alimentos que no son tratados térmicamente, como yogur, helados y jarabes (Sáenz & Berger, 2006; Tahir et al., 2019). Si bien, en la actualidad las betalainas para uso alimentario se extraen de la remolacha roja (*Beta vulgaris* (L.) subsp. *vulgaris* cv. *rubra*), que contiene hasta 50mg/100g de betanina (Piga, 2004), Prakash & Manikandan (2012), mediante la optimización de los parámetros de extracción de pigmentos *O. ficus-*

*indica*, obtuvieron un rendimiento de extracción de 13.43 mg/100g de betacianina y 22.29 mg/100g de betaxantina.

### CONCLUSIÓN

Considerando la composición química de los subproductos de *Opuntia ficus-indica* es posible concluir que su contenido de compuestos bioactivos le confiere un uso potencial en el desarrollo, enriquecimiento y mejoramiento de productos alimenticios. Y es que, si bien, en lo que respecta a la literatura, varios de los compuestos mencionados en esta revisión ya se han estudiado y demostrado sus posibles aplicaciones, es de suma importancia seguir invirtiendo en la investigación y el análisis de estos compuestos, además de optimizar las técnicas de extracción con el propósito de desarrollar estrategias que garanticen la viabilidad de estos procesos para ser utilizados y, de esta manera, asegurar el potencial nutricional y funcional de los subproductos.

### BIBLIOGRAFÍA

- Almanza-Merchán, P., & Fischer, G. (2012). *Tuna (Opuntia ficus-indica (L.) Miller) en Manual para el cultivo de frutales en el trópico*. ProDumedios.
- Ammar, I., Ennouri, M., & Attia, H. (2015). Phenolic content and antioxidant activity of cactus (*Opuntia ficus-indica* L.) flowers are modified according to the extraction method. *Industrial Crops and Products*, 64, 97-104.
- Astello-García, M. G., Cervantes, I., Nair, V., Santos-Díaz, M. del S., Reyes-Agüero, A., Guéraud, F., ... Barba de la Rosa, A. P. (2015). Chemical composition and phenolic compounds profile of cladodes from *Opuntia* spp. Cultivars with different domestication gradient. *Journal of Food Composition and Analysis*, 43, 119-130.
- Bayar, N., Bouallegue, T., Achour, M., Kriaa, M., Bougatef, A., & Kammoun, R. (2017). Ultrasonic extraction of pectin from *Opuntia ficus indica* cladodes after mucilage removal: Optimization of experimental conditions and evaluation of chemical and functional properties. *Food Chemistry*, 235, 275-282.
- Bouazizi, S., Montevecchi, G., Antonelli, A., & Hamdi, M. (2020). Effects of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) peel flour as an innovative ingredient in biscuits formulation. *LWT*, 124, 109155.
- Cardenas, A., Higuera-Ciapara, I., & Goycoolea, F. (1997). Rheology and Aggregation of Cactus (*Opuntia ficus-indica*) Mucilage in Solution. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 2.
- Chacón-Garza, L. E., Hernández-Cervantes, D., Ventura-Sobrevilla, J. M., Aguirre-Joya (2020). Sensory analysis of jelly from prickly pear cactus fruit (*Opuntia ficus indica*). *RIIT. Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica*, 8(44), 1-11.
- Chougui, N., Djerroud, N., Naraoui, F., Hadjal, S., Aliane, K., Zeroual, B., & Larbat, R. (2015). Physicochemical properties and storage stability of margarine containing *Opuntia ficus-indica* peel extract as antioxidant. *Food Chemistry*, 173, 382-390.
- Ciriminna, R., Fidalgo, A., Avellone, G., Danzi, C., Timpanaro, G., Locatelli, M., ... Pagliaro, M. (2019). Integral Extraction of *Opuntia ficus-indica* Peel Bioproducts via Microwave-Assisted Hydrodiffusion and Hydrodistillation. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(8), 7884-7891.
- Coba, R., Flores, L., Elizabeth, P., & Salazar Llangari, K. (2019). Obtención del colorante natural de tuna (*Opuntia ficus- indica*) Obtaining natural colorants tuna (*Opuntia ficus-indica*). *Ciencia Digital*, Vol. 3, 232-240.
- De Leo, M., Abreu, M. B. D., Pawlowska, A. M., Cioni, P. L., & Braca, A. (2010). Profiling the chemical content of *Opuntia ficus-indica* flowers by HPLC-PDA-ESI-MS and GC/EIMS analyses.

- Phytochemistry Letters*, 3(1), 48-52.
- Del-Valle, V., Hernández-Muñoz, P., Guarda, A., & Galotto, M. J. (2005). Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. *Food Chemistry*, 91(4), 751-756.
- Dueñas, M., & García-Estévez, I. (2020). Agricultural and Food Waste: Analysis, Characterization and Extraction of Bioactive Compounds and Their Possible Utilization. *Foods*, 9(6), 817.
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2018). Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal. Roma: Centro Internacional de Investigaciones Agrícolas en Zonas Áridas.
- Fideicomiso de Riesgo Compartido. (2017, septiembre 6). La tuna, una fruta muy mexicana. Recuperado 10 de marzo de 2021, de Gobierno de México website: <https://www.gob.mx/firco/articulos/la-tuna-una-fruta-muy-mexicana?idiom=es>
- Galanakis, C. M. (2012). Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*, 26(2), 68-87.
- Galanakis, C. M. (2015). The universal recovery strategy. En *Food Waste Recovery* (pp. 59-81). Elsevier.
- Goycoolea, F., & Cardenas, A. (2003). Pectins from *Opuntia* spp.: A short review. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 5.
- Guevara-Figueroa, T., Jiménez-Islas, H., Reyes-Escogido, M. L., Mortensen, A. G., Laursen, B. B., Lin, L.-W., ... Barba de la Rosa, A. P. (2010). Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6), 525-532.
- Kossori, R. L. E., Villaume, C., Boustani, E. E., Sauvaire, Y., & Méjean, L. (1998). Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica* sp.). *Plant Foods for Human Nutrition*, 52(3), 263-270.
- Koubaa, M., Barba, F. J., Grimi, N., Mhemdi, H., Koubaa, W., Boussetta, N., & Vorobiev, E. (2016). Recovery of colorants from red prickly pear peels and pulps enhanced by pulsed electric field and ultrasound. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 37, 336-344.
- Lefsih, K., Giacomazza, D., Dahmoune, F., Mangione, M. R., Bulone, D., San Biagio, P. L., ... Madani, K. (2017). Pectin from *Opuntia ficus indica*: Optimization of microwave-assisted extraction and preliminary characterization. *Food Chemistry*, 221, 91-99.
- Lim, T. K. (2012). *Opuntia ficus-indica*. En L. T. K., *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants* (pp. 660-682). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Lira-Ortiz, A. L., Reséndiz-Vega, F., Ríos-Leal, E., Contreras-Esquível, J. C., Chavarría-Hernández, N., Vargas-Torres, A., & Rodríguez-Hernández, A. I. (2014). Pectins from waste of prickly pear fruits (*Opuntia albicarpa* Scheinvar 'Reyna'): Chemical and rheological properties. *Food Hydrocolloids*, 37, 93-99.
- Manzur-Valdespino, S., Ramírez-Moreno, E., Arias-Rico, J., Jaramillo-Morales, O. A., Calderón-Ramos, Z. G., Delgado-Olivares, L., ... Cruz-Cansino, N. del S. (2020). *Opuntia ficus-indica* L. Mill Residues—Properties and Application Possibilities in Food Supplements. *Applied Sciences*, 10(9), 3260.
- Mena, P., Tassotti, M., Andreu, L., Nuncio-Jáuregui, N., Legua, P., Del Rio, D., & Hernández, F. (2018). Phytochemical characterization of different prickly pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) cultivars and botanical parts: UHPLC-ESI-MSn metabolomics profiles and their chemometric analysis. *Food Research International*, 108, 301-308.
- Msaddak, L., Abdelhedi, O., Kridene, A., Rateb, M., Belbahri, L., Ammar, E., ... Zouari, N. (2017). *Opuntia ficus-indica* cladodes as a functional ingredient: Bioactive compounds profile and their effect on antioxidant quality of bread. *Lipids in Health and Disease*, 16(1), 32.
- Piga, A. (2004). Cactus Pear: A Fruit of nutraceutical and functional importance. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 9-22.
- Prakash Maran, J., & Manikandan, S. (2012). Response surface modeling and optimization of process

- parameters for aqueous extraction of pigments from prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit. *Dyes and Pigments*, 95(3), 465-472.
- Ramadan, M. F., & Mörsel, J.-T. (2003). Oil cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.). *Food Chemistry*, 82(3), 339-345.
- Saag, L. M. K., Sanderson, G. R., Moyna, P., & Ramos, G. (1975). Cactaceae mucilage composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26(7), 993-1000.
- Sáenz, C., & Berger, H. (2006). *Utilización agroindustrial del nopal*. Food & Agriculture Org.
- Sáenz, C., Sepúlveda, E., & Matsuhira, B. (2004). *Opuntia* spp mucilage's: A functional component with industrial perspectives. *Journal of Arid Environments*, 57(3), 275-290.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2018, junio 11). En 2017, la producción nacional de tuna y xoconostle fue superior a 470 mil toneladas. Recuperado 13 de marzo de 2021, de Gob.mx website: <http://www.gob.mx/siap/articulos/en-2017-la-produccion-nacional-de-tuna-y-xoconostle-fue-superior-a-470-mil-toneladas>
- Silva, N. C., Benites, E. A., & Gomero, J. C. M. (2008). Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. *Ingeniería Industrial*, (26), 175-199.
- Tahir, H. E., Xiaobo, Z., Komla, M. G., & Mariod, A. A. (2019). Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) as a Source of Bioactive Compounds. En A. A. Mariod, *Wild Fruits: Composition, Nutritional Value and Products* (pp. 333-358). Cham: Springer International Publishing.

## Caracterización de vinazas de la industria tequilera para su uso como medios nutritivos económicos en fermentaciones con bacterias lácticas

L.M. Martínez-Castillo\*<sup>1</sup>, M.G. Bustos-Vázquez<sup>2</sup>, D. Trujillo-Ramírez<sup>2</sup>, G.C. Rodríguez Castillejos<sup>1</sup> y O. Castillo-Ruiz<sup>1</sup>

**1** Universidad Autónoma de Tamaulipas, Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa Aztlán. Calle 16 y Lago de Chapala, Col. Aztlán, Cd. Reynosa, Tamaulipas. CP.88740, Reynosa, Tamaulipas, México. **2** Universidad Autónoma de Tamaulipas, Unidad Académica Multidisciplinaria Mante, Blvd. Enrique Cárdenas González No. 1201 Pte. Col. Jardín C.P. 89840, Ciudad Mante, Tamaulipas, México. \*[linda.martinez.cas@gmail.com](mailto:linda.martinez.cas@gmail.com)

### RESUMEN

Durante los últimos años la contaminación ambiental ha ido en aumento en todo el mundo, los residuos agroindustriales que resultan de los procesos realizados en la industria representan un foco de infección contaminando el ambiente. En este sentido, durante el proceso de obtención del tequila (bebida emblemática de México), se derivan dos tipos de residuos: bagazo y vinazas siendo estas últimas las utilizadas en este estudio. El objetivo principal de este artículo es la caracterización de las vinazas para su aprovechamiento como medio nutritivo y de bajo costo para su uso en fermentaciones utilizando bacterias lácticas. Las vinazas se analizaron mediante análisis fisicoquímicos para determinar el contenido en carbono, nitrógeno, cenizas, sólidos en suspensión, compuestos orgánicos y minerales. Posteriormente se utilizarán como medio nutritivo, comparando los resultados con los medios químicos que representan altos costos de producción en la obtención de aditivos alimentarios.

**Palabras clave:** contaminación, residuos, vinaza, medio nutritivo, bacterias lácticas.

### ABSTRACT

In recent years, environmental pollution has been increasing throughout the world, agro-industrial waste resulting from the processes carried out in the industry, represent a source of infection contaminating the environment. In this sense, during the process of obtaining tequila (the emblematic drink of Mexico), two types of waste are derived: bagasse and stillage, the latter being the ones used in this study. The main objective of this article is the characterization of vinasses for their use as a low-cost nutritive medium for use in fermentations using lactic acid bacteria. The vinasses were analyzed by physicochemical analyzes to determine the content of carbon, nitrogen, ashes, suspended solids, organic and mineral compounds. Subsequently, they will be used as a nutritive medium, comparing the results with chemical means that represent high production costs in obtaining food additives.

**Keywords:** Contamination, waste, vinasse, nutrient medium, lactic acid bacteria.

### INTRODUCCIÓN

Los residuos agroindustriales tienen un amplio potencial para aprovecharse en la obtención de nuevos productos, la agroindustria presenta un gran desarrollo económico y social, pero se debe mantener un equilibrio entre los procesos y la protección del medio ambiente ya que en ocasiones dichos residuos no son distribuidos correctamente y provocan gran contaminación (Corredor & Pérez, 2018).

Actualmente, la biomasa lignocelulósica y lipídica son fuentes que se utilizan para la obtención de alternativas renovables como los biolubricantes y biocombustibles líquidos gaseosos y sólidos (Mejías-Brizuela et al., 2016).

El agave se considera como una planta muy importante en la cultura y economía mexicana, así como en otros países latinoamericanos; se conoce a México el lugar de origen del agave, los científicos han buscado a lo largo del tiempo diversas aplicaciones de este cultivo en la industria, pero sin afectar su sostenibilidad y el medio ambiente; lo que indica que para hacer uso del agave es necesario hacer un estudio profundo de aspectos que conlleva el proceso de la producción como por ejemplo la bioquímica y fisiología vegetal así como una investigación biotecnológica del agave (Nava et al., 2015).

La industria tequilera es una actividad de gran importancia como bebida emblemática en México, pero la cual genera una gran cantidad de residuos, principalmente bagazo y vinazas (CTR Consejo Regulador del Tequila, 2017). En Tamaulipas, se cultiva agave en 21 municipios y se reconocen 18 empresas que se dedican a producir tequila, mezcal y miel de agave; las cuales al realizar los procesos generan entre 100 a 200 toneladas de residuos por mes; aunado a esto, no se aprovechan en su totalidad por lo que pueden causar contaminación ambiental (Hoz-Zavala & Nava-Diguero, 2017).

Los residuos líquidos que provienen de la industria del licor se conocen como vinazas las cuales resultan cuando se realiza la destilación y fermentación, son de color café oscuro con sabor a malta y olor a miel, el promedio de vinaza que se obtiene de un litro de alcohol producido es de 10 a 15 litros, su pH es ácido entre 3.4 y 4.5 (Alzate, 2015). Este residuo presenta un alto grado de contaminación pues tiene una alta carga de materia orgánica y de acuerdo con la NOM-064-ECOL-1994 no cumplen con las reglas ambientales para ser descargadas directamente. Es por ello, que se han propuesto varios tratamientos para reciclar las vinazas y utilizarlas para crear nuevos productos (Topete & Covarrubias, 2015).

Entre los antecedentes de usos que tiene la vinaza se encuentran el producir biogás, levadura forrajera que tiene un alto nivel nutricional y en la industria farmacéutica (Chanfón Curbelo & Lorenzo Acosta, 2014). El bagazo tiene un alto contenido de humedad presenta proteína y fibra que lo convierten en un residuo interesante para la alimentación animal y los estudios lo recomiendan como suplemento para mejorar la digestibilidad, así como el desempeño productivo de los animales (Gutiérrez et al., 2020).

Del bagazo del agave se puede extraer celulosa, mediante la técnica de electro hilado se puede obtener nano fibras de celulosa las cuales tienen propiedades para usarlas en sistemas de liberación y en material de refuerzo (Robles-García et al., 2018). Para poder aprovechar los residuos es importante primero tener una caracterización, que permita identificar posibles usos. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar proximalmente vinazas de agave de una tequilera tamaulipeca.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales

Las vinazas utilizadas en este proyecto fueron donadas amablemente por la tequilera “La Gonzaleña” situada en el municipio de González en el estado de Tamaulipas las cuales se almacenaron a 4°C hasta su utilización.

### Métodos

#### Caracterización de las vinazas tequileras

Se realizaron análisis fisicoquímicos de las vinazas para determinar el contenido en humedad, nitrógeno, cenizas, sólidos en suspensión, proteínas, fibra, grasa, compuestos orgánicos y elementos minerales.

### **Humedad, Cenizas y Sólidos en suspensión**

La determinación de humedad se llevó a cabo de acuerdo con la NMX-AA-016-1984, en cenizas se utilizó la metodología de la NMX-F-607-NORMEX-2013 y para sólidos la NMX-AA-034-SCFI-2015.

Todos los análisis se realizaron por triplicado para mayor exactitud, calculando el porcentaje por medio de ecuaciones.

Por otra parte, se analizaron las vinazas para determinar el contenido de grasas, fibra, nitrógeno y proteínas.

### **Grasa**

La metodología utilizada fue la estipulada en la NMX-AA-005-SCFI-2013 se usó la vinaza deshidratada en un equipo soxhlet (Foss, mod. 2045) con cartuchos (Whatman de 33 mm de diámetro interno por 80 mm de longitud) y hexano como solvente realizándose por triplicado.

### **Nitrógeno**

Se siguió la metodología de la NMX-AA-026-SCFI-2010, utilizando un equipo Kjeldahl (Tecni-lab, Mod: K6U-COMB) se llevaron a cabo 3 pasos, la digestión, destilación y titulación para llegar al porcentaje de nitrógeno presente en la muestra.

### **Proteínas**

La determinación de proteínas según la NMX-AA-026-SCFI-2010 se obtiene al multiplicar el porcentaje de nitrógeno obtenido por el factor correspondiente en este caso 6.25.

### **Determinación de fibra**

Para esta metodología se siguió la NOM-F-90-S-1978 realizándose por triplicado, utilizando la vinaza deshidratada sin grasa, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 0.255 N y NaOH al 0.3 N al terminar la práctica se procedió a realizar los cálculos para determinar el porcentaje obtenido.

### **Azúcares**

La concentración de azúcares se determinó mediante un método cromatográfico, siguiendo la NMX-V-006-NORMEX-2019. La separación se llevó a cabo en un equipo de HPLC (Waters 2695) equipado con un detector de índice de refracción (Waters 2414) y un horno de columna, se utilizó una columna (Waters IC- pak ion- exclusión columna (300 x 7.8 mm). Se utilizó un método isocrático con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5mM como fase móvil a un flujo de 0.5 mL/min a 37°C. La cuantificación se llevó a cabo por el método estándar externo. Para ello, se realizaron curvas de calibración de sacarosa, glucosa, fructosa y xilosa en el rango de 0.625 a 20 g/L.

### **Elementos minerales**

Para la determinación de aniones (Sulfatos y Fosfatos), cationes (Calcio, Magnesio, Sodio, Potasio), Boro y Manganeseo por espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) se siguió la NOM-117-SSA1-1994.

### **pH de la muestra**

Para las vinazas el pH se midió directamente de la muestra siguiendo las indicaciones de la NMX-AA-027-SCFI-2006 realizando el análisis por triplicado, en donde se sumerge el electrodo en la muestra con ayuda de un potenciómetro (Hanna HI98130, México), registrando la lectura después de que se estabilizó.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características de las vinazas tequileras pueden variar dependiendo de las diferencias entre las condiciones de operación del proceso (López-López y Contreras-Ramos, 2015). Los resultados del análisis proximal y sólidos suspendidos se muestran en la Tabla 1.

**Tabla I.** Análisis proximales y solidos suspendidos

Parámetro	Porcentaje
Humedad	95.15 ± 0.02
Cenizas	0.79 ± 0.04
Fibra	12.79 ± 1.11
Nitrógeno	0.34 + 8.07X10 <sup>-5</sup>
Proteína	2.18 + 0.0005
Grasa	0.14 ± 0.08
Sólidos suspendidos	4.84 ± 0.02

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo a los resultados esperados, la humedad de la vinaza fue alta, alcanzando un 95.15% esto debido a su consistencia líquida; la concentración de solidos fue 4.84%; este resultado es similar al reportado por (Robles-González *et al.*, 2012), quienes reportaron que la vinaza presentaba un 95% de agua y 5% de sólidos totales en los cuales se encontraban los orgánicos suspendidos y disueltos, los dos primeros corresponden a compuestos orgánicos, materia orgánica, y el ultimo corresponde a sustancias minerales, cifras que se asemejan a nuestros alcanzados en este estudio.

Por otra parte, en un análisis químico de sólidos de vinazas realizado por (Íñiguez y Peraza, 2007), encontraron un porcentaje de humedad de 82.25% y un 17.75% de sólidos respectivamente.

Las cenizas se conocen como el residuo inorgánico obtenido después de eliminar todos los compuestos orgánicos en la materia prima, las cenizas representan los minerales que se encuentran en una muestra, en este estudio se obtuvo un resultado de 0.79%, en estudios realizados por Ibarra-Camacho *et al.*, 2018, donde analizaron la vinaza procedente de dos distintas tequileras alcanzaron resultados para cenizas de 0.93% y 0.69 %, (Íñiguez y Peraza, 2007) determinaron cenizas en un 0.84% para vinazas procedentes del primer alambique del proceso. El porcentaje de grasa presente en la muestra es de 0.14 lo cual indica que los valores alcanzados en este estudio fueron menores.

Por otra parte, el resultado de nitrógeno alcanzado dio un resultado de 0.34%, estudios previos realizados por (Leal *et al.*, 2003) a dos tipos distintos de vinazas mostraron valores de 0.55 y 0.57%. En una nota informativa de SAGARPA en 2016, mencionan valores de 0.79%, los valores alcanzados en la muestra de vinaza utilizada en este estudio presentaron niveles más bajos de nitrógeno, el estudio de proteína en este análisis nos dio un valor de 2.18%, en los estudios de (Leal *et al.*, 2003) obtuvieron un resultado de 3.43% y 3.56% en los datos de SAGARPA un 4.93%, la vinaza que se uso en este articulo presenta niveles más bajos de proteína.

Los resultados alcanzados de fibra fueron de un 12.79%, de acuerdo con (Estrada-Arriaga *et al.*, 2013) las vinazas contienen fibras de agave, lo que explica el alto contenido.

En lo que respecta al pH, (España-Gamboa, 2011) analizó vinazas tequileras, reportando un promedio de 3.4; este valor es similar a lo reportado por (Retes-Pruneda *et al.*, 2014) que indicaron un valor de 3.9; en el presente estudio la vinaza también tuvo un pH ácido (3.6).



Por otra parte, se analizaron los elementos minerales presentes en la muestra, los resultados se recogen en la Tabla 2.

**Tabla II.** Determinación de elementos minerales por espectrofotometría

Elemento	Ca	Cl	Cu	Br	K	Mg	Mn	Zn	Fe	Al	CN	Nitritos
(mg/L)	400	1	205	0.13	63.2	150	2.216	0.616	30.93	0.028	0.046	15.0

Fuente: Elaboración propia

La vinaza obtuvo valores de cationes: Calcio (400 mg/L), potasio (63.2 mg/L), magnesio (150mg/L), las altas concentraciones de estos componentes ya han sido reportadas por diferentes autores (Retes - Pruneda *et al.*, 2014) encontraron 226 mg/L de Ca, 104 mg/L de Mg, (López - López *et al.*, 2010) reporto 200 mg/L de Ca, 100 mg/L de Mg y 150 mg/L de K. Bustos *et al.*, 2004, alcanzaron valores muy superiores a los obtenidos en este estudio en muestras de lías o fangos del proceso de vinificación, suponiendo que son similares ambos residuos.

En cuanto a los metales pesados como hierro y cobre el estudio arrojó los siguientes datos: Fe 30.93 mg/L y Cu 205 mg/L, autores como (España-Gamboa *et al.*, 2011) reportaron una concentración de 4 mg/L de cobre. De acuerdo con (Prado, 2015), en el tequila se puede encontrar una concentración alta de cobre debido al proceso de corrosión del equipo de destilación que puede llegar hasta 10 mg L<sup>-1</sup> cuando el sistema ha estado fuera de operación unos días. Por lo tanto, también la vinaza contiene parte de este cobre (Cu), cuya concentración se ha reportado entre 0.36 y 4 mg/L por (España-Gamboa *et al.*, 2011). En cuanto al hierro (Fe) tenemos un valor de 30.93%, un estudio de (Retes-Pruneda *et al.*, 2014) indicó un valor de 14 mg/L y (España-Gamboa *et al.*, 2011) 35.2 mg/L, por lo que el valor de este estudio se encuentra por encima de (Retes-Pruneda *et al.*, 2014) y menor que el de España Gamboa *et al.*, 2011).

Los nitritos nos muestran resultados de 15.0 mg/L y los nitratos 0.0 mg/L. Popolizio, 2017 encontró resultados para los nitritos de (3.7 mg/L) no detectando la presencia de nitratos en las muestras, lo cual indicó un proceso de mineralización de la materia orgánica donde apenas empezaba el proceso de nitrificación o desnitrificación.

### Detección de azúcares

Los azúcares analizados fueron glucosa, xilosa, sacarosa, fructosa, por medio de cromatografía, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3.

**Tabla III.** Detección de azúcares por medio de cromatografía

Compuesto	Tiempo de retención (min)	área	Factor de dilución	Concentración (g/L)
Sacarosa	11.502	912,991	10	0.6
Fructosa	14.054	1,486,858	10	9.1

Fuente: Elaboración propia

El análisis de compuestos orgánicos nos indica solo la presencia de sacarosa y fructosa en la muestra en un 0.6 g/L y 9.1 g/L respectivamente, sin la presencia de otro azúcar.

### CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados alcanzados se puede deducir que las vinazas son un residuo con gran potencial para ser utilizadas biotecnológicamente como medios nutritivos debido a su bajo costo en fermentaciones utilizando bacterias lácticas. El uso de vinazas sería un estudio viable para el crecimiento de microorganismos debido a que presenta alto nivel de azúcares lo cual favorece el ambiente para que crezcan los *Lactobacillus*, entre otras cosas la vinaza puede servir perfectamente para alimentación de ganado ya que tiene alto porcentaje de fibra y realizando los procesos químicos correspondientes sería una muy buena opción, el nivel de fructosa que presenta se puede utilizar en la fabricación de aditivos alimentarios en este caso un edulcorante, ya que la literatura menciona que favorece a las personas diabéticas como un sustituto de azúcar ya que no desencadena la producción de insulina por parte del páncreas y al ser más dulce que la sacarosa permite usar menos cantidad por porción. Concluimos que la caracterización de este residuo nos permite encontrar diferentes alternativas de uso de las vinazas en la industria.

### BIBLIOGRAFÍA

- Bustos, G., Moldes, A. B., Cruz, J. M., & Domínguez, J. M. (2004). Formulation of low-cost fermentative media for lactic acid production with *Lactobacillus rhamnosus* using vinification lees as nutrients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(4), 801-808.
- Corredor, Y. A. V., & Pérez, L. I. P. (2018). Aprovechamiento de residuos agroindustriales en el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 59-72.
- España-Gamboa E et al., (2011). Vinasses: Characterization and treatments. *Waste Management Research*.29.1235-1250.
- Estrada Arriaga, E., Garzón Zúñiga, M. A., & Mantilla Morales, G. (2013). Desarrollo de una tecnología de tratamiento para aguas residuales de la industria de bebidas alcohólicas (tequila). Instituto Mexicano de Tecnología del agua
- Gutiérrez, D., Aguirre, L., Ortiz, B., Lima, R., Rodríguez, Z., González, A., & Elías, A. (2020). Valoración nutricional del bagazo de *Agave fourcroydes* (henequén) para uso en la alimentación animal. *Bosques Latitud Cero*, 10(1), 29-38.
- Hoz-Zavala, Ma. E., E. & Nava-Diguero, P. (2017). Situación del Agave y sus residuos en Tamaulipas. *Revista de Energías Renovables* 2017. 1-1:19-31
- Ibarra-Camacho, R., & León-Duharte, L. (2018). Caracterización químico-física de vinazas de destilerías. *Ciencia en su PC*, 1(2), 1-13.
- Íñiguez G. y Peraza F. (2007). Reduction of solids and organic load concentrations in tequila vinasses using a polyacrylamide (PAM) polymer flocculant. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 23, 17-24.
- Leal, I., Chirinos, E., Leal, M., Morán, H., & Barrera, W. (2003). Caracterización fisicoquímica de la vinaza del *Agave cocui* y su posible uso agroindustrial. *Multiciencias*, 3(2).
- López-López, A., Contreras-Ramos, S.M., 2015. Tratamiento de efluentes y aprovechamiento de residuos, in: Gschaedler Mathis, A.C., Rodríguez Garay, B., Prado Ramírez, R., Flores 81 Montaña, J.L. (Eds.), *Ciencia Y Tecnología Del Tequila: Avances Y Perspectivas*. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C., Guadalajara, pp. 343-378.
- López-López, A., Davila-Vazquez, G., León-Becerril, E., Villegas-García, E., Gallardo-Valdez, J., 2010. Tequila vinasses: Generation and full-scale treatment processes. *Revista Environmental Science Biotechnology* 9, 109-116.

- Mejías-Brizuela, N., Orozco-Guillén, E., & Galáan-Hernández, N. (2016). Aprovechamiento de los residuos agroindustriales y su contribución al desarrollo sostenible de México. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*, 2(6), 27-41.
- Nava-Cruz, N. Y., Medina-Morales, M. A., Martínez, J. L., Rodríguez, R., & Aguilar, C. N. (2015). Agave biotechnology: an overview. *Critical reviews in biotechnology*, 35(4), 546-559.
- Norma Oficial Mexicana (NMX-006-NORMEX-2019) Determinación de azúcares (glucosa, fructosa, sacarosa) o Azúcares reductores totales. Método por cromatografía de líquidos de Alta Resolución o método volumétrico.
- Norma Oficial Mexicana (NMX-AA-005-SCFI-2013) Medición de grasas y aceites recuperables en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.
- Norma Oficial Mexicana (NMX-AA-016-1984) Determinación de humedad.
- Norma Oficial Mexicana (NMX-AA-026-SCFI-2010) Medición de nitrógeno total Kjeldahl en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.
- Norma Oficial Mexicana (NMX-AA-027-SCFI-2006) Residuos líquidos - Determinación de pH
- Norma Oficial Mexicana (NMX-AA-034-SCFI-2015) Medición de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.
- Norma Oficial Mexicana (NMX-F-607-NORMEX-2013) Alimentos- Determinación de cenizas en alimentos.
- Norma Oficial Mexicana (NOM-117-SSA1-1994) Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, fierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica.
- Norma Oficial Mexicana (NOM-F-90-S-1978) Determinación de Fibra Cruda en Alimentos.
- Retes-Pruneda, J. L., Davila-Vazquez, G., Medina-Ramírez, I., Chávez-Vela, N. A., Lozano-Álvarez, J. A., Alatraste-Mondragón, F., & Jauregui-Rincón, J. (2014). High removal of chemical and biochemical oxygen demand from tequila vinasses by using physicochemical and biological methods. *Environmental Technology*, 35(14), 1773–1784.
- Robles-García, M. Á., Del-Toro-Sánchez, C.L, Márquez-Ríos, E., Barrera-Rodríguez, A., Aguilar, J., Aguilar, J.A y Rodríguez-Félix, F. (2018). Nanofibras de bagazo de celulosa de Agave tequilana Weber Var. azul por electrohilado: preparación y caracterización. *Polímeros de carbohidratos*, 192, 69-74.
- Robles-González V., Galíndez-Mayer J., Rinderknecht-Seijas N., Poggi-Varaldo H.M. (2012). Treatment of mezcal vinasses: A review. *Journal of Biotechnology*. 157: 524-546.
- SAGARPA (2016). vinazas: alternativas de uso. Nota informativa sobre innovaciones en materia de productividad del sector. Universidad Autónoma Chapingo, 1-12.
- Topete, N. G. M. A., & Covarrubias, G. I. (2015). Fertilizante orgánico obtenido de las vinazas tequileras y estiércol de ganado. *InterSciencePlace*, 1(4).

## **Empaque bioplástico para alimentos con propiedades antifúngicas elaborado a partir de residuos agroindustriales**

D.I. Sandoval-Cárdenas<sup>1</sup>, D.E. Camarillo-Gómez<sup>2</sup>, A. Amaro-Reyes<sup>\*2</sup>, M.T. García-Gasca<sup>3</sup>, R. Campos-Vega<sup>2</sup> y C. Regalado-González<sup>2</sup>

**1** Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Cerro de las Campanas s/n, 76010, Centro Universitario, 76010, Santiago de Querétaro, Querétaro, México. **2** Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Cerro de las Campanas s/n, 76010, Centro Universitario, 76010, Santiago de Querétaro, Querétaro, México. **3** Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Naturales, Av. de las Ciencias s/n, Juriquilla CP 76230, Querétaro, Querétaro, México. \*[aldo.amaro@uaq.edu.mx](mailto:aldo.amaro@uaq.edu.mx)

### **RESUMEN**

El desecho de empaques plásticos no biodegradables para el empaquetamiento de alimentos representa un problema ambiental, por lo que se busca sustituirlos con bioplásticos a partir de materiales sostenibles, biodegradables y con valor añadido. En el presente trabajo se elaboró un bioplástico utilizando un residuo agroindustrial adicionado con plastificantes y acidificantes con propiedades antifúngicas y antioxidantes. El bioplástico mostró un color (sistema CIE L\*a\*b) entre los rojos y verdes, un  $\Delta E$  de  $71.01 \pm 0.61$  y % solubilidad en agua de  $38.19 \pm 1.38$ . El bioplástico inhibió completamente el crecimiento, al ser evaluado por la técnica de difusión en disco, contra *Botrytis cinérea*, *Penicillium* spp y *Aspergillus niger*. El bioplástico mostró potencial como empaque para alimentos con un % de humedad bajo, alargando su vida de anaquel y fungiendo como vehículo de compuestos bioactivos en los alimentos.

**Palabras clave:** Bioplástico, residuo agroindustrial, actividad antifúngica.

### **ABSTRACT**

The disposal of non-biodegradable plastic for food packaging creates an environmental problem, therefore replacing them with bioplastics created from sustainable, biodegradable, and value-added materials is desirable. The present work developed a bioplastic with antifungal and antioxidant properties using an agro-industrial waste added with plasticizers and acidifiers. The bioplastic showed a color (CIE L\*a\*b system) between red and green, a  $\Delta E$  of  $71.01 \pm 0.61$  and water solubility of  $38.19 \pm 1.38$  %, like other materials made from agro-industrial wastes. The bioplastic showed complete growth inhibition when evaluated by disk diffusion technique against *Botrytis cinerea*, *Penicillium* spp and *Aspergillus niger*. The bioplastic produced demonstrates potential as a replacement for plastic food packaging with low moisture content, extending its shelf life and acting as a vehicle for bioactive compounds in food.

**Key words:** Bioplastic, agro-industrial residue, antifungal activity.

## INTRODUCCIÓN

El uso masivo de plásticos exige una gestión adecuada del final de la vida útil del producto. El amplio uso de estos materiales en el mundo ha contribuido enormemente a la contaminación ambiental, ya que los plásticos no son biodegradables y no siempre se desechan, reutilizan o reciclan adecuadamente y, por tanto, persisten en el medio ambiente durante mucho tiempo (Webb et al., 2013; Tavares et al., 2018).

En los últimos años, los bioplásticos han surgido como alternativa al uso de plásticos. Estos materiales biodegradables toman popularidad ya que son menos contaminantes y provienen de fuentes abundantes en la naturaleza (Kowalczyk & Baraniak, 2014; Tavares et al., 2018). Los bioplásticos se componen normalmente de celulosa, almidones, biopolímeros, entre otros materiales. Los plásticos a base de almidón representan actualmente el bioplástico más utilizado, constituyendo alrededor del 50% del mercado total (Jeyasubramanian & Balachander, 2016).

Los residuos de frutas y verduras generados por la agroindustria también generan un impacto ambiental. Tan sólo la industria vitivinícola genera 5510 toneladas de residuos al año, según lo reportado por la FAO (2018). La valorización de estos residuos agroindustriales para la producción de bioplásticos contribuirá a la reducción del impacto ambiental.

Por otra parte, la incidencia de 33 al 100 % de hongos y levaduras en frutos rojos, como la zarzamora y frambuesa, contenidos en empaques plásticos genera fuertes pérdidas económicas. Los hongos que afectan estos productos comúnmente son *Botrytis cinerea*, *Rhizopus* (en fresa), *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium* y *Fusarium* (Tournas y Katsoudas, 2005).

El objetivo de este trabajo fue diseñar un bioplástico con propiedades antifúngicas, como empaque para alimentos, elaborado a partir de un residuo agroindustrial y plastificantes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales

Los materiales para la preparación del empaque, polímeros, agentes plastificantes y reguladores de pH fueron grado reactivo usando marcas PROLAB, Reactivos Analíticos AyT y Gold Bell. Los residuos agroindustriales fueron donados por Tierra de Peña, ubicado en Carretera Bernal, Querétaro.

### Preparación del bioplástico

El bioplástico se elaboró a partir de una mezcla de residuos agroindustriales con plastificante, la cual se encuentra bajo registro de patente. A partir de la mezcla se elaboró una película con 0.54 mm de grosor.

### Determinación de propiedades ópticas

La prueba de transmisión de luz se realizó en la región visible y las propiedades de color de la película se evaluaron utilizando el espacio de color CIELAB mediante un KONICA CM-3600d COLORFLEX-DIFF2. Las coordenadas de color determinadas fueron  $L$  (luminosidad),  $a$  (rojo-verde) y  $b$  (amarillo-azul). El instrumento se calibró con una baldosa blanca estándar. Las medidas se llevaron cabo por quintuplicado en posiciones aleatorias sobre la superficie de la película. Se calcularon los valores medios de estas cinco pruebas. La diferencia de color total ( $\Delta E$ ) se calculó de la siguiente manera Ecuación (1):

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \quad (1)$$

Donde  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  eran los parámetros de color de la placa blanca estándar, y  $L$ ,  $a$  y  $b$  eran los parámetros de color de la muestra de empaque.

### Determinación de la solubilidad en agua del empaque

El análisis de la solubilidad en agua se realizó por triplicado siguiendo el método propuesto por Nogueira et al., (2022). El bioplástico se cortó en circunferencias de 2 cm de diámetro. El porcentaje inicial de materia seca de cada muestra se cuantificó gravimétricamente mediante su deshidratación en estufa a 105 °C durante 24 h. Los empaques secos se sumergieron individualmente en 50 mL de agua destilada durante 24 h a  $25 \pm 2$  °C. Tras este periodo, las muestras no solubilizadas se recuperaron y se secaron en estufa a 105 °C durante 24 h para determinar la materia seca final. La solubilidad en agua de las películas se calculó como el porcentaje de peso que permaneció tras la inmersión en agua, utilizando la Ecuación (2).

$$\% \text{ solubilidad en agua: } \frac{mip - mpf}{mip} \quad (2)$$

Donde  $mip$  es la masa seca inicial de las películas (g) y  $mpf$  es la masa seca final de las películas no solubilizadas (g).

### Evaluación de la actividad antifúngica

El análisis microbiológico se realizó con el método de difusión en disco de agar, siguiendo a la metodología de Ji et al. (2016) con modificaciones. Los hongos se recuperaron de un cultivo madre y se inocularon por picadura en cajas Petri con agar papa dextrosa (APD), *Penicillium* y *Aspergillus niger* se incubaron durante 3 días a 30 °C, mientras que *Botrytis cinérea* se incubó en obscuridad y a temperatura ambiente (~25°C) durante 15 días. Las esporas se recuperaron en suspensión añadiendo dos mililitros de 0.05 % (p/v) Tween 80 estéril a la superficie de cada placa. La concentración de esporas se determinó mediante recuento en cámara de Neubauer y se inocularon a  $1 \times 10^6$  esporas por extensión en superficie en una placa APD de 60 mm. Las placas se incubaron durante 72 h como se mencionó previamente. Posteriormente, se cortaron círculos de biomasa de 7 mm de diámetro, utilizando puntas de micropipeta estériles. Los discos fúngicos se colocaron sobre una lámina de bioplástico, previamente esterilizada por ambos lados mediante exposición durante 15 min a luz UV, colocada dentro de una caja Petri estéril. El control consistió en transferir los discos de biomasa a una placa con APD estéril. Las placas se incubaron durante 72 h a 30 °C o temperatura ambiente, dependiendo de la cepa, y el crecimiento microbiano se determinó midiendo el diámetro de los círculos de cultivo fúngico. El porcentaje de i (3) ón radial se calculó utilizando la Ecuación (3).

$$\% \text{ Tasa de inhibición} = 100 \left( \frac{R - r}{R} \right)$$

Donde  $R$  es el crecimiento radial fúngico del control y  $r$  es el crecimiento radial fúngico sobre el bioplástico.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Propiedades ópticas

Los parámetros de color del empaque se resumen en la Tabla 1. De acuerdo con los valores se puede observar una luminosidad (L) con tendencia hacia la oscuridad. La diferencia entre valores de *a* y *b*, muestra una mayor similitud a colores rojo-verde, que al amarillo-azul; lo cual se atribuye a los colores del residuo agroindustrial utilizado. El valor  $\Delta E$  denotó una coloración intensa. Qin et al., (2019) y Nogueira et al., (2019), presentaron valores similares con poca luminosidad, colores predominantes en rojo-verde y con tendencia a los oscuros con bioplásticos producidos a partir de *Lycium ruthenicum murray* y mora azul. Estos resultados pueden atribuirse a la similitud de residuos o frutos utilizados, con alto contenido de antocianinas y colores morados.

**Tabla I.** Valores de color incluyendo (*L*, *a*, *b* y  $\Delta E$ ) de empaques bioplásticos adicionados con residuo agroindustrial.

Muestras de empaque	L	a	b	$\Delta E$
Empaque con residuo agroindustrial	21.89±0.61	0.54±0.40	-0.79±0.28	71.018±0.61

La media de tres mediciones  $\pm$  valores de DE (desviación estándar) en la misma columna.

### Porcentaje de solubilidad en agua

La solubilidad en agua es un parámetro que indica la afinidad que tiene un empaque o película al agua. El % de solubilidad fue de  $38.19 \pm 1.38$ , similar al reportado por Kurek et al. (2019) y Nogueira et al. (2022) con valores de 40 y 33 %, respectivamente al usar residuos de uva; mientras que fue casi el doble al reportado por Nogueira et al. (2019) con mora azul. Los % altos de solubilidad mostrados por Kurek et al., (2019) pueden ser atribuidos al contenido de glicerol de un 30 %, seguido por los resultados de este proyecto y los presentados por Nogueira et al., (2022). Esta similitud en solubilidad, se debe a el uso de residuos agroindustriales similares, con una naturaleza hidrofílica (Bodini et al., 2020). Por consiguiente al incrementar la cantidad del residuo en la formulación, incrementa la interacción con el agua, facilitando su solubilización. También puede deberse a que el extracto se comportó como plastificante, provocando así una disminución de la cohesividad de la matriz y por ello aumentando la movilidad de la cadena polimérica, lo que contribuyó a la transferencia de agua a su estructura y a su solubilización.

### Evaluación de la actividad antifúngica

La actividad antifúngica del bioplástico contra *Penicillium sp*, *Aspergillus niger* y *Botrytis cinérea*, se determinó mediante la medición del diámetro de crecimiento. Los resultados se muestran en la Tabla 1. Todos los controles mostraron crecimiento; en cambio sobre los empaques hubo una inhibición total del crecimiento fúngico. Mendoza et al., (2013) reportó actividad antifúngica contra *Botrytis cinérea* ante extractos de bagazo de uva, argumentando podría atribuirse a la composición del residuo, encontrándose los ácidos grasos presentes en las fracciones activas.

**Tabla 1.** Actividad antifúngica en empaques adicionados con un residuo agroindustrial

Tiempo (días)	<i>Botrytis cinérea</i>		<i>Penicillium spp</i>		<i>Aspergillus niger</i>	
	Control APD (mm)	Con empaque	Control APD (mm)	Con empaque	Control APD (mm)	Con empaque
1	SC	SC	SC	SC	34.6±1.2	SC
2	38.3±0.5	SC	13.5±0.8	SC	42.3±1	SC
3	49.8±0.4	SC	18.6±0.9	SC	51.3±0.7	SC
4	52.6±0.9	SC	21.7±2	SC	53.2±2.8	SC
5	52.7±1	SC	33.2±4.8	SC	55.5±1	SC
6	53.7±1.5	SC	36.2±1.5	SC	56.7±1.1	SC

SC: Sin crecimiento. La media de tres mediciones  $\pm$  valores de DE (desviación estándar) en la misma columna. Utilizando como control placas con APD inoculadas con los tres diferentes hongos.

## CONCLUSIÓN

En esta investigación se desarrollaron empaques bioplásticos incorporando un residuo agroindustrial que mostró colores que van de los rojos-verdes, con tendencia a los oscuros, alta solubilidad en agua, así como actividad antifúngica. Los empaques bioplásticos tienen potencial aplicación en la industria de los alimentos como alternativa al uso de empaques plásticos. Biodegradable o comestibles.

esto posiblemente puede atribuirse a la cantidad de antocianinas presentes en el residuo utilizado. Por otra parte, su % de solubilidad (38.19%) puede deberse a la adición del residuo y su naturaleza hidrofílica. Por último, el bioplástico muestra una inhibición del 100% contra *Penicillium spp*, *Aspergillus niger* y *Botrytis cinérea*, ya que el residuo es rico en fenoles, los cuales participan directamente en los mecanismos de defensa de las plantas contra hongos patógenos, los cuales podrían aumentar la permeabilidad celular, reduciendo el crecimiento fúngico.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bodini, R. B., Pugine, S. M. P., de Melo, M. P., & de Carvalho, R. A. (2020). Antioxidant and anti-inflammatory properties of orally disintegrating films based on starch and hydroxypropyl methylcellulose incorporated with *Cordia verbenacea* (erva baleeira) extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159, 714–724. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.075>
- Jeyasubramanian, K., & Balachander, R. (2016). Starch bioplastic film as an alternative food-packaging material. *Journal of Achievements of Materials and Manufacturing Engineering*, 75(2), 78–84. <https://doi.org/10.5604/17348412.1228383>



- Ji, N., Liu, C., Zhang, S., Xiong, L., & Sun, Q. (2016). Elaboration and characterization of corn starch films incorporating silver nanoparticles obtained using short glucan chains. *LWT - Food Science and Technology*, 74, 311–318. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.065>
- Kurek, M., Hlupić, L., Elez Garofulić, I., Descours, E., Ščetar, M., & Galić, K. (2019). Comparison of protective supports and antioxidative capacity of two bio-based films with revalorised fruit pomaces extracted from blueberry and red grape skin. *Food Packaging and Shelf Life*, 20(October 2018). <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100315>
- Mendoza, L., Yañez, K., Vivanco, M., Melo, R., & Cotoras, M. (2013). Characterization of extracts from winery by-products with antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Industrial Crops and Products*, 43(1), 360–364. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.048>
- Nogueira, G. F., Fakhouri, F. M., Velasco, J. I., & de Oliveira, R. A. (2019). Active edible films based on arrowroot starch with microparticles of blackberry pulp obtained by freeze-drying for food packaging. *Polymers*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/polym11091382>
- Nogueira, G. F., Soares, I. H. B. T., Soares, C. T., Fakhouri, F. M., & de Oliveira, R. A. (2022). Development and Characterization of Arrowroot Starch Films Incorporated with Grape Pomace Extract. *Polysaccharides*, 3(1), 250–263. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010014>
- Qin, Y., Liu, Y., Yong, H., Liu, J., Zhang, X., & Liu, J. (2019). Preparation and characterization of active and intelligent packaging films based on cassava starch and anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 80–90. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.029>
- Webb, H. K., Arnott, J., Crawford, R. J., & Ivanova, E. P. (2013). Plastic degradation and its environmental implications with special reference to poly(ethylene terephthalate). *Polymers*, 5(1), 1–18. <https://doi.org/10.3390/polym5010001>

## Propiedades tecnofuncionales de la cáscara de tuna cardona (*Opuntia streptacantha*) y su aplicación en un chorizo mexicano

J.G. Acosta-Morales\*<sup>1</sup>, A.J. Sánchez- Hernández<sup>1</sup>, J.J. Martínez-García<sup>1</sup>, M.A. Sáenz Esqueda<sup>1</sup>, M.G. Candelas-Cadillo<sup>1</sup> y J.R. Minjares-Fuentes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango., Av. Artículo 123 S/N, Fracc. Filadelfia, 35010, Gómez Palacio, Dgo., México. \*[acostajesus@hotmail.com](mailto:acostajesus@hotmail.com)

### RESUMEN

Desde el punto de vista económico, es importante utilizar subproductos con valor biológico, de manera que los alimentos resultantes mejoren su aportación a la salud de los consumidores y mayores ganancias a los productores. El objetivo de este estudio fue determinar las propiedades tecnofuncionales de la cáscara de tuna y su aplicación en un chorizo tipo mexicano. La cáscara de tuna fue deshidratada en un secador de bandejas a 60 °C durante 5 h hasta peso constante. La capacidad de retención de agua, de retención de grasa y el hinchamiento de la cáscara de tuna fueron analizadas. Se elaboraron cuatro tipos de chorizo con soya y con carne de cerdo, cada uno con y sin adición de cáscara de tuna a los cuales se les determinó su composición bromatológica. Se hizo la evaluación del nivel de agrado usando una escala hedónica de siete puntos con la participación de 30 jueces consumidores. Los resultados de las propiedades tecnofuncionales indican que la cáscara de tuna es conveniente para usarse como aditivo. La composición bromatológica de las cuatro formulaciones de chorizo es similar a los comerciales y los jueces consumidores ubicaron su nivel de agrado en “me gusta moderadamente” para todos ellos.

**Palabras clave:** Cáscara de tuna, chorizo, propiedades tecnofuncionales, nivel de agrado, composición bromatológica.

### ABSTRACT

From an economic point of view, the use by-products with biological value has become an important activity in food industry, in order to improve the nutritional quality of the resulting foods. The objective of this study was to determine the technofunctional properties of the prickly pear peel and its application in a Mexican-type chorizo. The prickly pear peel was dehydrated at 60 °C for 5 h up to constant weight. The water retention capacity, fat retention capacity and the swelling of the prickly pear peel were analyzed. Four types of chorizo with soy and pork were prepared, either with or without the addition of prickly pear peel, and bromatological composition was determined. The level of liking was evaluated using a seven-point hedonic scale with the participation of 30 consumer judges. The results of the technofunctional properties indicate that the prickly pear shell is convenient to be used as an additive. The bromatological composition and sensorial analysis of the four formulations of chorizo resulted similar to the commercial product.

**Key words:** Prickly pear peel, chorizo, technofunctional properties, sensorial analysis, bromatological composition.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el desarrollo de la industria de alimentos conlleva a la producción de residuos y, por consiguiente, a implementar y perfeccionar nuevas técnicas o métodos para un mejor aprovechamiento. Asimismo, la utilización de residuos agroindustriales, como materia prima de bajo costo para obtener productos químicos finos, representa una opción para transformar los desechos en alternativas atractivas para conseguir compuestos con propiedades benéficas. Sin embargo, los residuos generados por las transformaciones agroindustriales en nuestro país aún no han sido aprovechados eficientemente, en parte, porque su valor es desconocido y sobre todo por la falta de métodos apropiados para la preparación y caracterización de sustancias de mayor valor agregado, las cuales contengan la suficiente calidad e inocuidad como para ser usadas en esos procesos. Desde el punto de vista económico, es importante utilizar subproductos con valor biológico, de manera que los alimentos resultantes mejoren su aportación a la salud de los consumidores y mayores ganancias a los productores. Tal es el caso de la cáscara de tuna que aportará mayor cantidad de fibra a los alimentos donde se adicione. Por ello es deseable disminuir la cantidad de grasa en productos que tradicionalmente la contienen en exceso, pero sin menoscabo de sus propiedades sensoriales.

El objetivo del trabajo fue determinar las propiedades tecnofuncionales de la cáscara de tuna y su aplicación en un chorizo tipo mexicano.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Propiedades tecnofuncionales de la cáscara de tuna Cardona

El estudio se realizó en laboratorios multidisciplinarios de la Facultad de Ciencias Químicas, GP. La cáscara de tuna Cardona previamente triturada fue deshidratada en un secador de bandejas a 60 ° C durante 5 horas continuas hasta obtener peso constante. El resultado en seco fue sometido a pruebas para la determinación de las propiedades tecnofuncionales. Los residuos insolubles en alcohol (AIR's) se obtuvieron sumergiendo las muestras en etanol a punto de ebullición (concentración 85% v/v) acuoso, como lo describen Femenia y col. (1998). Respecto a la capacidad de hinchamiento se pesaron 40 mg de AIR de la muestra seca en tubos cónicos graduados con 10 ml de buffer de fosfato de sodio (1M, pH 6.2), la mezcla se mantuvo en reposo por 24h con el fin de que la suspensión alcanzara el equilibrio. Pasado el periodo estipulado, se midió el volumen de fibra hinchado, expresando el resultado como mL·g<sup>-1</sup> de fibra. Para la determinación de la capacidad de retención de agua (WRC) se realizó el tratamiento anterior, pasado el lapso de reposo se sometió la suspensión a un proceso de centrifugación a 1,600 RPM durante 25 minutos. Las dos fases, sólida y líquida, se separaron por decantación y se pesó la parte sólida correspondiente a la fibra con el agua retenida. La diferencia del peso inicial de la fibra seca y el peso final de la fibra hinchada es la cantidad de agua retenida expresada en g·g<sup>-1</sup>. La capacidad de absorción de grasa (FAC) se realizó pesando 40 mg de muestra seca mezclados con 5 ml de aceite de maíz, para mantenerse en reposo por 24h. Transcurrido el tiempo de reposo, se procedió a centrifugar las muestras a 1,600 RPM por 20 minutos. El exceso de aceite retenido se expresó en g·g<sup>-1</sup>.

Para la elaboración del chorizo se trabajó con cuatro tratamientos como se muestra en la tabla 1. Dos de ellas se realizaron con carne de cerdo y dos más de se realizaron a base de soya, a una de las muestras de cada chorizo se les adicionó el 5% en peso de cáscara de tuna previamente deshidratada y triturada.

Cáscara de tuna	Tipo de chorizo	
	Soya	Carne de cerdo
0%		
5%		

**Tabla I.** Tratamientos utilizados con aplicación de cáscara de tuna

### Análisis bromatológico

Los tratamientos con y sin aplicación de cáscara de tuna se sometieron a un análisis bromatológico completo, donde se determinó el porcentaje de fibra, porcentaje de grasa, cenizas contenidas y humedad retenida, mediante la metodología marcada por la Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994, Apéndice Normativo C (DOF, 1996).

### Evaluación del nivel de agrado

Participaron 30 jueces consumidores, los cuales respondieron apoyándose en una escala hedónica con siete puntos, los cuales son Me gusta mucho (mgm), Me gusta moderadamente (mgmo), Me gusta poco (mgp), Ni me gusta ni me disgusta (nmgnmd), Me disgusta poco (mdp), Me disgusta moderadamente (mdmo) y Me disgusta mucho (mdm). Las muestras de chorizo se colocaron en platos de unicel marcadas con las siguientes claves 156 para el chorizo con carne de cerdo, 467 para la muestra con carne de cerdo y cáscara de tuna, 987 para el de soya y 234 para el de soya y cáscara de tuna.

### Diseño experimental y análisis de datos

Se calculó la media y desviación estándar de las 10 repeticiones correspondientes a las propiedades tecnofuncionales, mientras que para las variables analizadas del chorizo se hizo un análisis descriptivo; para el nivel de agrado se hizo la prueba de Friedman con un nivel de significancia de 0.05.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Propiedades tecnofuncionales de la cáscara de tuna

En la Tabla 2 se muestran los resultados de retención de agua, retención de aceite e hinchamiento del polvo de cáscara de tuna, donde puede observarse que la retención de agua presentó datos más homogéneos con un coeficiente de variación 7.5%, mientras que los valores más dispersos son los de hinchamiento.

	Retención de H <sub>2</sub> O (g/g)	Retención de aceite (g/g)	Hinchamiento (mL/g)
<b>Media</b>	16.30	5.26	19.81
<b>Coefficiente de variación (%)</b>	7.51	13.54	16.29

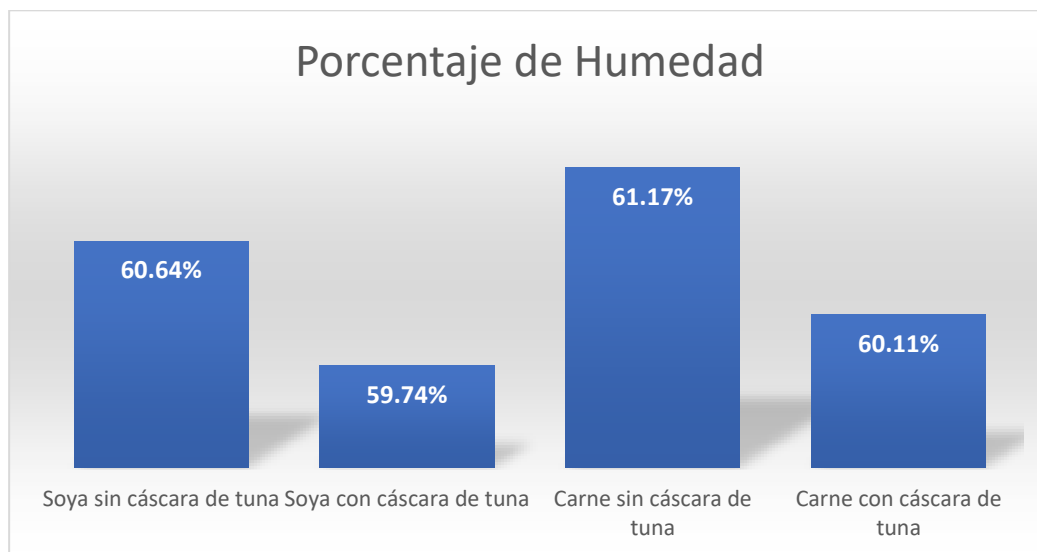
**Tabla II.** Medias y coeficiente de variación de las propiedades tecnofuncionales del polvo de cáscara de tuna

Camacho y col. (2016) reportan 2.745 mL/g de la capacidad de absorción de grasa y la 6.402 g/g de retención de agua para la cáscara de tuna blanca, los cuales son valores por debajo de los obtenidos en este estudio para la tuna cardona.

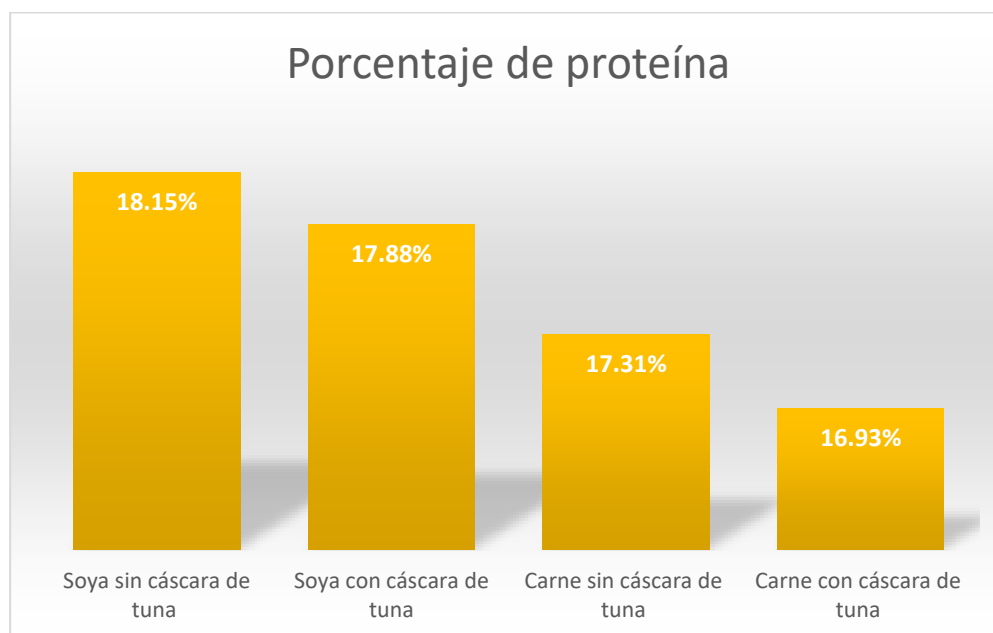
### Análisis bromatológico

Los resultados del análisis bromatológico se presentan en las Figuras de la 1 a la 6. En cuanto a la humedad (Figura 1), los valores fluctúan entre 59.74% y 61.17%, lo cual coincide con los datos reportados por Julio y col. (2014) quienes trabajaron con chorizos formulados con plasma sanguíneo bovino y pasta de ajonjolí, obteniendo humedad desde 63.07% a 66.36%. En ese mismo sentido, Cruz Guillén y col. (2019) reportan 60.1% para un chorizo comercial y 71.3% para chorizo de Jabalí. En contraparte, Cobos Velazco y col. (2014) mencionan que el chorizo de cerdo presentó una humedad de 46.99% y el de cerdo con fibra de trigo, 41.49%. Es evidente que la adición de cáscara de tuna disminuye el porcentaje de humedad en los chorizos de soya y carne de cerdo.

En la Figura 2 se puede observar que el porcentaje de proteína de los diferentes tipos de chorizo se encuentra entre 16.93% y 18.15%, aunque disminuye con la adición de cáscara de tuna, la diferencia es mínima. Estos valores son similares a los reportados por Cobos Velazco y col. (2014), para chorizo de cerdo 19.49% y para chorizo de cerdo con fibra de trigo 18.05%; Julio y col. (2014) mencionan valores entre 16.64% y 24.17% para diversos chorizos comerciales; mientras que Cruz Guillén y col. (2019) señalan 17.8% para chorizo comercial y 20.2% para chorizo de jabalí.



**Figura 1.** Porcentaje de humedad de los diferentes tipos de chorizo



**Figura 2.** Porcentaje de proteína en los diferentes tipos de chorizo

Con respecto al porcentaje de grasa, en la Figura 3 se muestra que los chorizos elaborados con soya tienen una cantidad menor de grasa (12.89% y 12.93%) que los preparados con carne de cerdo (14.59% y 14.37%) y la adición de cáscara de tuna parece no afectar. En los resultados publicados, el intervalo

del porcentaje de grasa es muy amplio, El chorizo elaborado con carne de jabalí solo contiene el 2.9% (Cruz Guillén y col, 2019) mientras que en el chorizo de cerdo con fibra de trigo reportan 30.99% (Cobos Velazco y col., 2014).

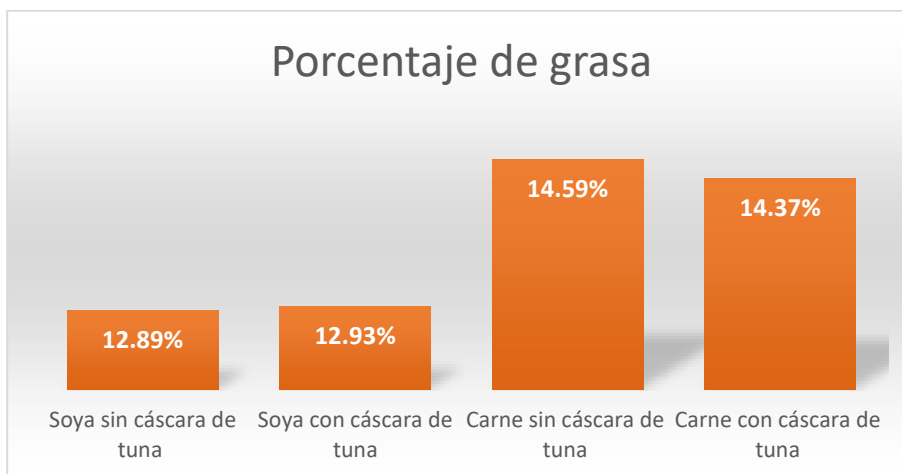
De acuerdo con la Figura 4, el porcentaje de fibra aumenta con la adición de cáscara de tuna, tanto en el chorizo de soya como en el de carne de cerdo. En el trabajo publicado por Cruz Guillén y col. (2019) se reporta 1.8% para chorizo comercial y 0.8% para chorizo de jabalí.

En la Figura 5 se observa que el porcentaje de cenizas es similar en los cuatro tipos de chorizo, fluctuando entre 2.6% a 3.29%. Esto también concuerda con los valores reportados por Cobos Velazco y col. (2014), 4.71% para chorizo de cerdo y 4.59% para chorizo de cerdo con fibra de trigo. Cruz Guillén y col. (2019) mencionan 2.3% para chorizo comercial y 2.4% para chorizo de jabalí.

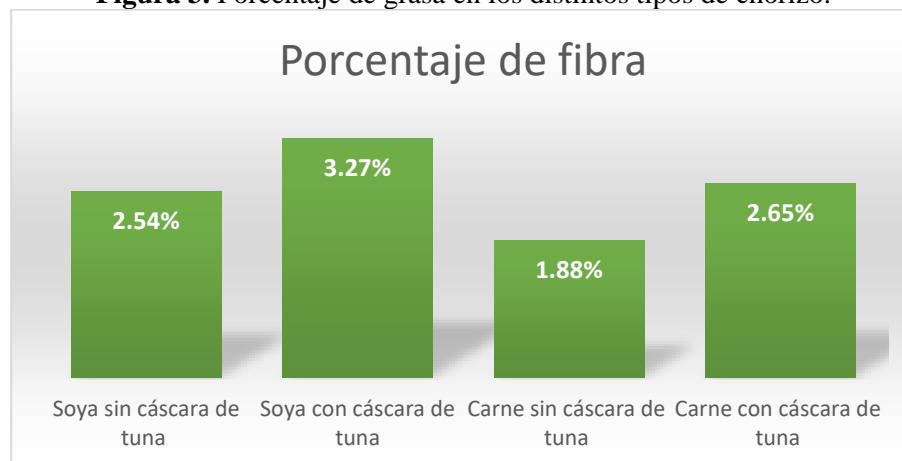
El extracto libre de nitrógeno fue muy similar entre las cuatro muestras de los diferentes tipos de chorizos (Figura 6).

### Nivel de Agrado

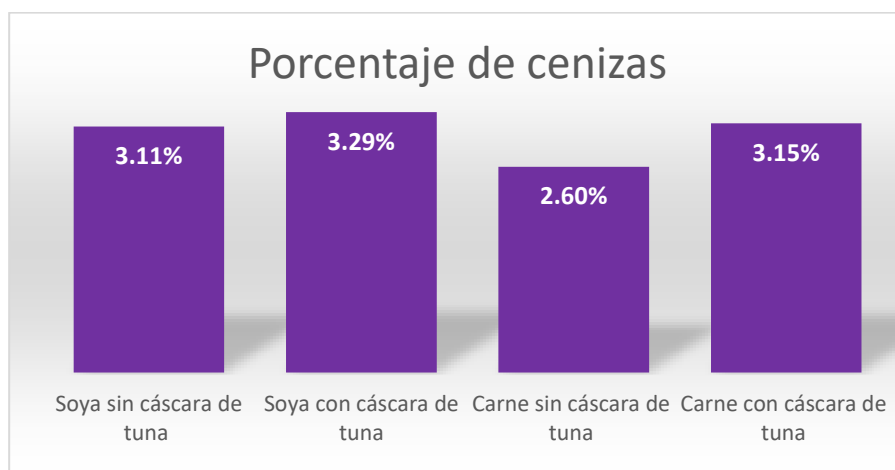
Con relación al nivel de agrado, las respuestas de los 30 jueces consumidores se pueden ver en la Figura 7, donde se muestra que el chorizo de carne de cerdo con cáscara de tuna obtuvo la mejor evaluación, pues el 87% de los jueces ubicó su grado de satisfacción en me gusta mucho y me gusta moderadamente.



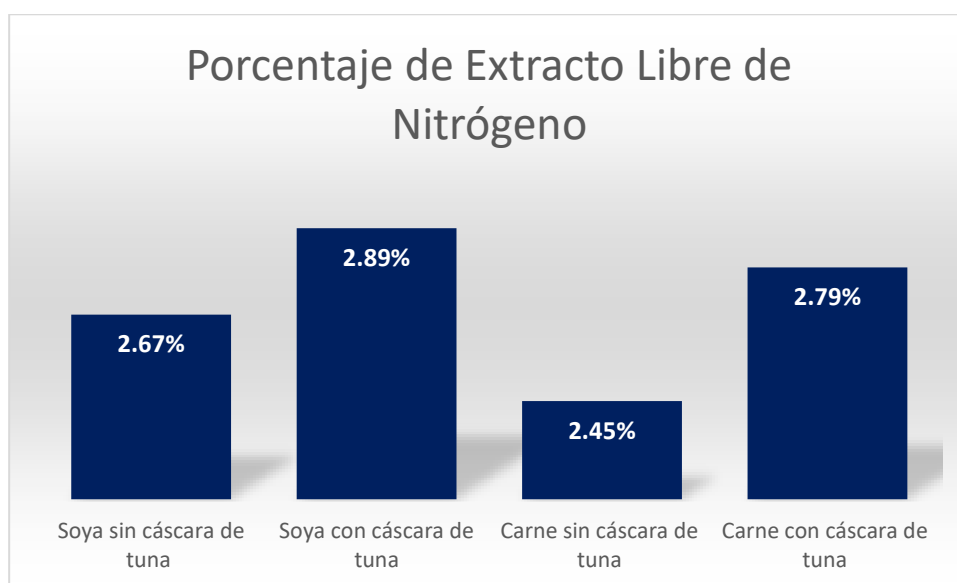
**Figura 3.** Porcentaje de grasa en los distintos tipos de chorizo.



**Figura 4.** Porcentaje de fibra en los distintos tipos de chorizo

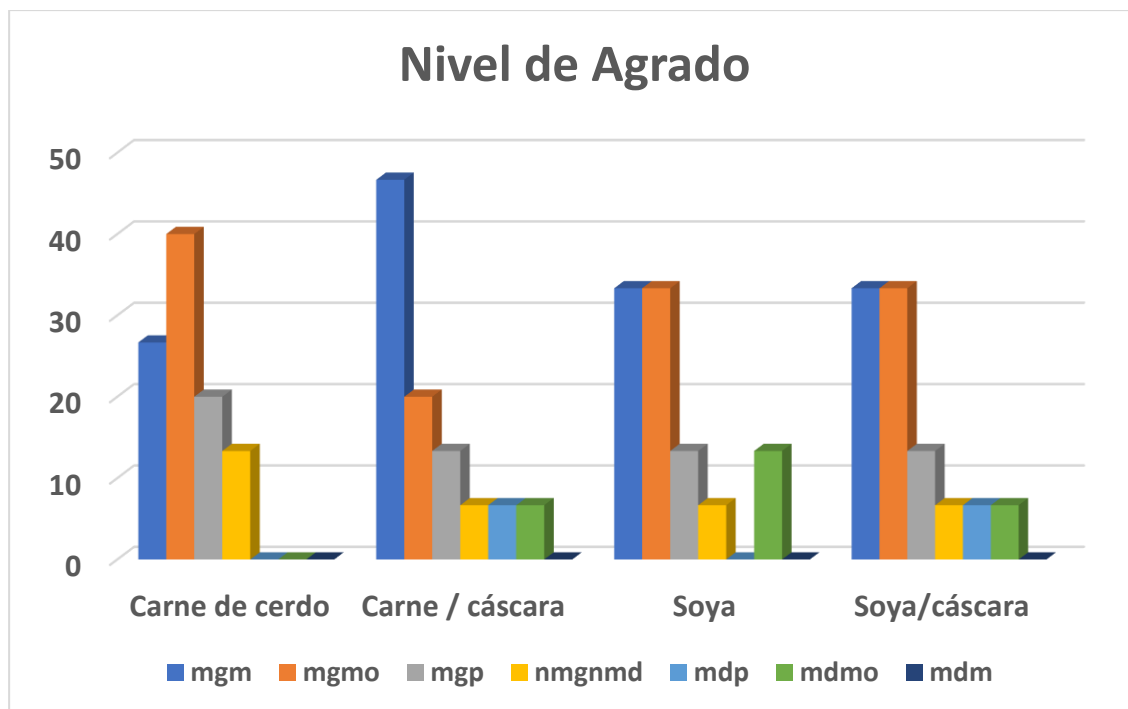


**Figura 5.** Porcentaje de cenizas



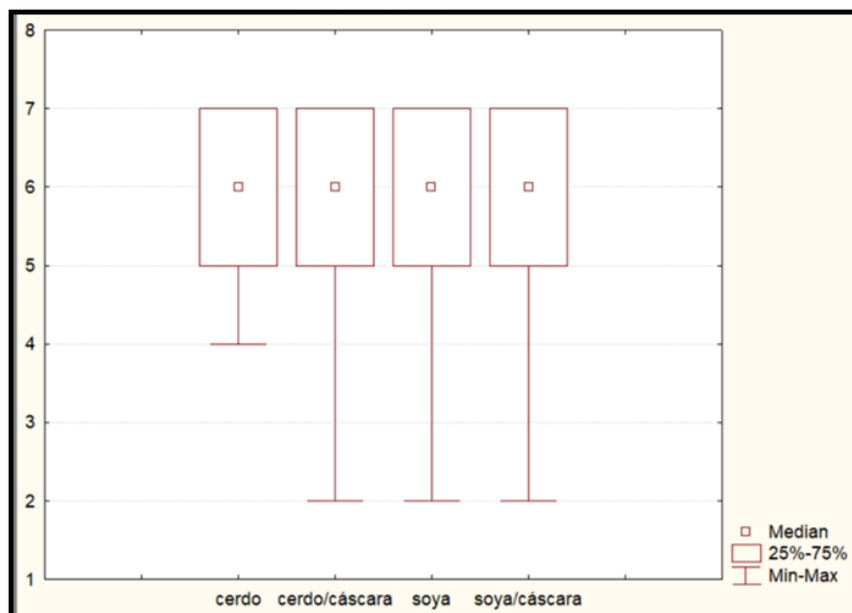
**Figura 6.** Porcentaje de extracto libre de nitrógeno

El de carne de cerdo también alcanzó 87% de las respuestas ubicadas en me gusta mucho y me gusta moderadamente, pero solo el 27% se ubicó en la máxima categoría, y el chorizo de cerdo con cáscara de tuna recibió el 47% en esa misma condición. Cabe mencionar que el chorizo de soya y el de soya con cáscara de tuna tuvieron resultados semejantes entre sí, con 67% en me gusta mucho y me gusta moderadamente. Esto es favorable ya que los jueces no percibieron la presencia de cáscara de tuna.



**Figura 7.** Distribución del nivel de agrado por tipo de chorizo

Para la comparación del nivel de agrado de los cuatro tratamientos se realizó la prueba de Friedman usando un nivel de significancia de 0.05, y se obtuvo como resultado que no hay diferencia significativa ( $\chi^2 = 1.688$  y  $p = 0.640$ ). Como puede verse en la Figura 8, todas las medianas se encuentran en me gusta moderadamente (6).



**Figura 8.** Medianas del nivel de agrado de los diferentes tipos de chorizo



Julio y col. (2014) compararon el nivel de agrado de cinco formulaciones de chorizo elaborado con plasma sanguíneo bovino y pasta de ajonjolí usando una escala de cinco puntos, reportando que no hubo diferencia significativa y la mediana se ubicó en me gusta ligeramente. Estos resultados son muy similares a los que se encontraron en el presente estudio.

### CONCLUSIÓN

Las propiedades tecnofuncionales del polvo de cáscara de tuna, como son capacidad de retención de aceite, capacidad de retención de agua e hinchamiento, resultaron favorables para utilizarlo como aditivo en productos alimenticios. Al probarlo en diferentes tipos de chorizo, de carne de cerdo, de carne de cerdo con cáscara de tuna, de soya y de soya con cáscara de tuna, se encontró que la composición bromatológica de todos ellos está en el rango de los valores reportados por otros autores. Además, los jueces consumidores evaluaron los cuatro tratamientos favorablemente, pues a todos les otorgaron la categoría “me gusta moderadamente”. De tal manera que se recomienda el uso de cáscara de tuna en chorizo mexicano, conservando sus características tradicionales.

### BIBLIOGRAFÍA

- Camacho-Guerrero, J., Chavarría-Martínez, E., Candelas-Cadillo M. G., Ramírez Baca P., Martínez-Rodríguez F. J. 2016. Composición bromatológica y propiedades funcionales de la cáscara de tuna blanca deshidratada (*Opuntia Ficus- Indica*). Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. 1 (2), 633-637.
- Cobos Velasco J. E., Soto Simental S., Alfaro Rodríguez R. H., Aguirre Álvarez G., Rodríguez Pastrana B. R., González Tenorio R. 2014. Evaluación de parámetros de calidad de chorizos elaborados con carne de conejo, cordero y cerdo, adicionados con fibra de trigo. NACAMEH. 8 (1): 50-64
- Cruz-Guillén F. J., Morales-Cruz J., Ibarra-González I., Padilla de Lara, C., González-Arellano M.A. 2019. Elaboración de un chorizo a base de carne de jabalí (*Sus scrofa* L.) con buenas propiedades nutricionales y organolépticas. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. 4: 667 – 671
- Diario Oficial de la Federación. DOF. 1996. NORMA Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994, Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4890075&fecha=26/06/1996#gsc.tab=0](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4890075&fecha=26/06/1996#gsc.tab=0)
- Femenia, A., Robertson, J. A., Waldron, K. W., & Selvendran, R. R. (1998). Cauliflower (*Brassica oleracea* L.), globe artichoke (*Cynara scolymus*) and chicory witloof (*Cichorium intybus*) processing by-products as sources of dietary fibre. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77, 511–518.
- González-Tenorio R., Totosaus A., Caro I. y Mateo J. 2012. Caracterización de Propiedades Químicas y Físicoquímicas de Chorizos Comercializados en la Zona Centro de México. *Información Tecnológica*. 24(2): 3-14.
- Julio L. C., Montero P. M. y Acevedo D. 2014. Calidad y Aceptabilidad de Chorizos Formulados con Plasma Sanguíneo Bovino y Pasta de Ajonjolí. *Información Tecnológica*. 26(3): 25-32
- Ha MA, Jarvis MC, Mann JL: A definition for dietary fibre. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54:861-864.
- Sánchez-Mendoza, N. A., Ruiz-Ruiz, J. C., Dávila-Ortiz, G., & Jiménez-Martínez, C. (2017). Propiedades tecnofuncionales y biológicas de harina, aislado y fracciones proteicas mayoritarias de semillas de *Inga paterno*. *CyTA - Journal of Food*, 15(3), 400–408. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1286522>
- Vargas, M., & Brito, F. (2019, 2 julio). Aprovechamiento de cáscaras de frutas: análisis nutricional y compuestos bioactivos. Recuperado 16 de septiembre de 2020, de [https://www.researchgate.net/publication/332896317\\_Aprovechamiento\\_de\\_cascaras\\_de\\_frutas\\_analisis\\_nutricional\\_y\\_compuestos\\_bioactivos](https://www.researchgate.net/publication/332896317_Aprovechamiento_de_cascaras_de_frutas_analisis_nutricional_y_compuestos_bioactivos)

## Evaluación de la actividad antioxidante de compuestos fenólicos extraídos con microondas de residuos de cáscara de nuez pecanera

K. Cortés-Marín<sup>1</sup>, O. Gaspar-Ramírez<sup>2</sup>, E. Salas-Espinoza<sup>2</sup> y N. Reyes-Vázquez\*<sup>2</sup>

**1** Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Pedro de Alba, Niños Héroes, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L. **2** Subsele Noreste. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A. C. Vía de la Innovación 404. Autopista Mty-Aeropuerto Km 10, Parque PIIT. C.P. 66629. Apodaca, Nuevo León, México. \*[nreyes@ciatej.mx](mailto:nreyes@ciatej.mx)

### RESUMEN

México es un productor de nuez pecanera con 179 mil toneladas en 2019, de la cual 50% es cáscara que resulta una biomasa con gran biodisponibilidad. En este trabajo se utilizó extracción asistida con microondas (EAM) evaluando primeramente temperatura (75 y 95°C), y posteriormente tipo de solvente (Agua y Etanol 50% p/v) y tiempo de extracción (15 y 35min) en cáscaras criolla de Rayones (CR) y Chihuahua (CCh) sobre la obtención de polifenoles totales y actividad antioxidante mediante la remoción del radical DPPH y ABTS. Entre los resultados iniciales destaca que a 75°C CR obtuvo una mayor extracción de bioactivos presentando valores de 274.59 mgGAE/g extracto con 17960 y 2398.86  $\mu\text{molET/g}$  extracto de remoción de DPPH y ABTS que representa 33.64 y 68.53% de inhibición para el primero y segundo respectivamente. Además, se confirmó que a 75°C durante 15min utilizando etanol 50% se obtuvieron resultados adecuados para CR con 470.30 mgGAE/g extracto y 36.77% de inhibición (25650  $\mu\text{molET/g}$  extracto remoción DPPH) y para CCh 442.86 mgGAE/g extracto con 46.87% inhibición (32750  $\mu\text{molET/g}$  extracto remoción DPPH). Por lo que EAM es una tecnología verde prometedora en la obtención de fitocompuestos con actividad antioxidante de la cáscara de nuez pecanera.

**Palabras clave:** Extracción asistida por microondas, contenido total de polifenoles, DPPH, ABTS, cáscara de nuez, % inhibición.

### ABSTRACT

México is a producer of pecan nuts with 179 thousand tons in 2019, of which 50% is shell, resulting in biomass with great bioavailability. In this work, microwave assisted extraction (MAE) was used, first evaluating temperature (75 and 95°C), and then type of solvent (Water and Ethanol 50% w/v) and extraction time (15 and 35min) in Creole shells. de Rayones (CR) and Chihuahua (CCh) on obtaining total polyphenols and antioxidant activity by removing the DPPH and ABTS radicals. Among the initial results, it stands out that at 75°C CR obtained a greater extraction of bioactives, presenting values of 274.59 mgGAE/g extract with 17960 and 2398.86  $\mu\text{molET/g}$  extract of DPPH and ABTS removal, which represents 33.64 and 68.53% inhibition for the first and second respectively. In addition, it was confirmed that at 75°C for 15min using 50% ethanol adequate results were obtained for CR with 470.30 mgGAE/g extract and 36.77% inhibition (25650  $\mu\text{molET/g}$  extract DPPH removal) and for CCh 442.86 mgGAE/g extract with 46.87% inhibition (32750  $\mu\text{molET/g}$  DPPH removal extract). Therefore, EAM is a promising green technology for obtaining phytochemicals with antioxidant activity from pecan nut shells.

**Keywords:** Microwave assisted extraction, total polyphenol content, DPPH, ABTS, walnut shell, % inhibition.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años México se ha posicionado como un actor importante en el mercado de la nuez pecanera hasta escalar al primer puesto en exportación mundial. El gran potencial de producción de nuez pecanera demostrado por México invita a la reflexión sobre su sostenibilidad y aprovechamiento (Suárez *et al.*, 2015). Toda producción agroindustrial genera residuos. Los desechos agrícolas siguen siendo una fuente ignorada de fitoquímicos de alto valor que pueden contribuir a los objetivos de sustentabilidad (Alexandru *et al.*, 2014) (Das & Singh, 2004).

Actualmente hay mucho interés en los fitoquímicos como componentes bioactivos de los alimentos. Estudios recientes han demostrado que muchos constituyentes polifenólicos de la dieta derivados de plantas son antioxidantes más efectivos (Rice *et al.*, 1997). Un compuesto bioactivo es simplemente una sustancia que tiene una actividad biológica, relacionada con su capacidad para modular uno o más procesos metabólicos, lo que resulta en la promoción de mejores condiciones de salud (Dictionary, 2009) (Aryee & Boye, 2015). En el caso de la nuez pecanera numerosos documentos de investigación indican el potencial de su cáscara en la obtención de fitocompuestos como polifenoles, flavonoides y taninos asociados con diversas actividades biológicas, entre las que destacan: antimicrobianas, anticancerígenas, antidiabéticas y antioxidantes, entre otras (Reyes *et al.*, 2022)

Los antioxidantes son considerados agentes protectores que inactivan las especies reactivas de oxígeno, por lo que previenen el daño oxidativo. Entre las enzimas involucradas en contrarrestar el estrés oxidativo se encuentran el superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, las cuales atenúan las especies reactivas de oxígeno generadas por el metabolismo. Adicionalmente las vitaminas E y C, y los polifenoles presentes en los alimentos también exhiben actividad antioxidante (Reyes *et al.*, 2015)

En la almendra de nuez pecanera cultivada en tres regiones de Chihuahua (De La Rosa *et al.*, 2011) han reportado una fuerte correlación de la actividad antioxidante medida como ORAC ( $r^2= 1$ ), DPPH $^{\cdot-}$  ( $r^2= 1$ ), ABTS $^{\cdot-}$  ( $r^2= 0.997$ ) y HO $^{\cdot}$  ( $r^2= 0.997$ ) y la cantidad de fenoles y flavonoides totales, proantocianidinas, ácido gálico y elagico. Adicionalmente, la localidad del cultivo influyó significativamente sobre la actividad antioxidante, particularmente en la cáscara. Lo que indica que las condiciones ambientales, como la exposición a la luz de la cáscara de nuez en las diferentes localidades influyeron en su actividad antioxidante, relacionada con la fracción polifenólica extraíble, principalmente con taninos condensados. Cabe destacar, que en este estudio la capacidad antioxidante, polifenoles totales y taninos condensados fue de 4.5, 6 y 18 veces mayor en cáscara que en almendra de la nuez (de la Rosa *et al.*, 2011). Sin embargo, estos estudios se han realizado mediante extracciones tradicionales hidroalcohólicas, los cuales utilizan elevadas temperaturas, solventes, pueden potencialmente producir contaminantes, por lo que es necesario implementar nuevas tecnologías amigables con el medio ambiente también llamadas verdes.

La EAM, se puede realizar en pocos minutos con alta reproducibilidad, reduciendo el consumo de solvente, simplificando la manipulación, dando mayor pureza al producto final y consumiendo solo una fracción de la energía que normalmente se necesita para la extracción convencional (Chemat & Cravotto, 2012). Los fundamentos del proceso de extracción por microondas (MAE) son diferentes a los de los métodos convencionales (sólido-líquido o simplemente extracción) porque la extracción se produce como resultado de cambios en la estructura celular provocados por ondas electromagnéticas (Chemat & Cravotto, 2012). La técnica de microondas puede plantear protocolos utilizando un mínimo de solventes o agua (Esquivel *et al.*, 2017).

Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue emplear la extracción asistida por microondas en cáscaras de nuez criolla de dos localidades Rayones, Nuevo León y Jiménez, Chihuahua evaluando el efecto de variedad, tiempo, temperatura y solvente sobre el contenido de polifenoles totales y las dos actividades antioxidantes expresada como actividad secuestrante del radical DPPH y ABTS.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Equipos

Plataforma de Reacción por Microondas Multiwave 5000 de Anton Paar, Centrifuga MegaFuge 16R, Liofilizadora FreeZone 4.5, Espectro UV-1800, Lector de placas Termo Fisher Multiskan FC, Espectro Genesys 10S UV- Vis

### Materiales

Cáscara de Nuez Molida Variedad Criolla Rayones y Variedad Criolla Chihuahua con tamaño de partícula de 1mm, Agua Desionizada, Reactivo Folin & Ciocalteu's 1N, Reactivo 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt de Sigma, reactivo 2,2-Diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl de Sigma.

### Obtención de los extractos mediante microondas

En la primera fase experimental, 0.5g de cáscara de nuez criolla de Rayones y Chihuahua se le agregó 5mL de agua desionizada. El tratamiento se realizó en el equipo Multiwave 5000 de Anton Paar a 75 y 95°C por 10 min (rampa) y 75 y 95°C por 15 min (mantenimiento) respectivamente manteniendo agitación alta en el sistema. Las muestras tratadas se centrifugaron a 13000 rpm por 15min a 25°C; se decantaron los extractos y se guardaron a 4°C en tubos de polipropileno. El sólido de las extracciones se re-suspendió con 5mL de agua desionizada para una segunda extracción en microondas bajo las mismas condiciones. Ambos extractos fueron liofilizados por separado en Liofilizadora FreeZone 4.5 por 48 horas a -52°C y presión de 0.66 Pa, para analizarse posteriormente en su contenido de fenoles totales, y actividad antioxidante medida como actividad secuestrante del radical DPPH<sup>•</sup> y ABTS<sup>•-</sup> respectivamente.

Para la segunda fase experimental, réplicas de 0.5g de cada variedad criolla fueron sometidas a la temperatura seleccionada de 75°C a 10 min (rampa) y 75°C durante 5 y 15 min (mantenimiento) para un total de 15 y 35 min de extracción, utilizando los solventes agua y etanol 50% p/v, manteniendo la agitación alta durante el proceso. Una vez finalizado el tiempo de extracción, el sólido fue sometido a una segunda re-extracción, recuperando y mezclando ambos sobrenadantes para su análisis posterior. Éstos fueron sometidos a centrifugación y liofilización en condiciones similares a las descritas con anterioridad, y conservados en frascos oscuros a 4°C hasta su análisis.

### Determinación de Polifenoles Totales

Fueron realizados según Reyes-Vázquez *et al.*, 2012 para lo cual se pesaron 0.0125g de muestra liofilizada, aforándose a 100mL con agua desionizada, posteriormente se tomaron 500µL del extracto, y se añadió 3mL de agua desionizada y 250µL de Folin 1N reposando por 5 min para posteriormente agregarle 750µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20% y 950µL de agua desionizada, agitándose en vórtex y permitiendo el reposo por 30 min. La absorbancia de las muestras se leyó en el espectro Genesys 10S UV- Vis a 765nm. Los compuestos fenólicos totales se calcularon usando una curva estándar de ácido gálico 1mg/mL y se expresaron mgGAE/g extracto BH. La curva estándar tuvo una R<sup>2</sup> de 0.9976 y la ecuación fue la siguiente  $y = 0.0133x - 0.109$ .

### Actividad Antioxidante determinada por remoción del radical ABTS

El valor de TEAC se determinó según Reyes-Vázquez *et al.*, 2012 con algunas modificaciones, para lo cual se preparó una solución stock pesando 0.0193g de radical ABTS disuelto en 5mL de Buffer de Fosfatos (PBS, pH 7.4 y 0.15M NaCl) y 88µL de persulfato de potasio (0.0378g en 1mL de PBS). La solución se incubó en la oscuridad durante 16h, enseguida se tomó 1 mL de la solución stock y se adicionaron 88 mL de metanol 80%. El radical fue ajustado con metanol al 80% a  $0.7 \pm 0.02$  a 734nm. La reacción se inició añadiendo 2970µL de la solución ABTS y 30µL de muestra o solución estándar de

Trolox en metanol. Se dejó reposar 20min en la oscuridad, y se leyó la absorbancia a 734nm en el Lector de placas Thermo Fisher Multiskan FC.

El porcentaje de remoción de ABTS fue calculado:

$$\%RSA = (\text{control Abs} - \text{muestra Abs} / \text{control Abs}) * 100.$$

Se usó una solución de Trolox (6-400  $\mu\text{M}$ ) como estándar, y los resultados se expresaron como micromoles de equivalentes de Trolox (TE) por gramo de extracto BH. La curva estándar tuvo una  $R^2$  de 0.99425 y la ecuación fue la siguiente  $y = -0.0014x + 0.6448$ .

### **Actividad antioxidante remoción radical DPPH**

La actividad secuestrante del radical DPPH se determinó según Reyes-Vázquez *et al.*, 2012 pesando 2.5mg de radical DPPH con 100mL de metanol puro, se ajustó la absorbancia del radical a  $0.7 \pm 0.02$  a una longitud de onda de 515nm. A tubos de ensayo conteniendo 3900 $\mu\text{L}$  del radical se les agregó 100 $\mu\text{L}$  del extracto o solución estándar Trolox en metanol, dejándose reposar por 30min en la oscuridad, para posteriormente leerse a 515nm en el Espectro UV-1800. El blanco se realizó con metanol al 80%.

El porcentaje de remoción de DPPH fue calculado:

$$\%RSA = (\text{control Abs} - \text{muestra Abs} / \text{control Abs}) * 100.$$

Se usó una solución de Trolox (6-400  $\mu\text{M}$ ) como estándar, y los resultados se expresaron como micromoles de equivalentes de Trolox (TE) por gramo de extracto BH. La curva estándar tuvo una  $R^2$  de 0.997 y la ecuación fue la siguiente  $y = -0.0041x + 0.701$ .

### **Diseño y Análisis Estadístico.**

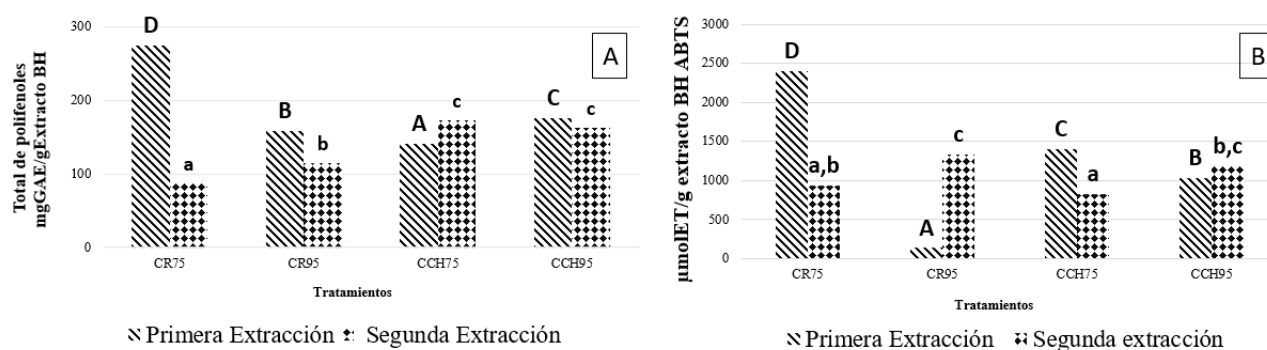
En los experimentos iniciales para evaluar el efecto de temperatura sobre la cantidad de polifenoles y actividad antioxidante se realizó un diseño experimental de una vía. Posteriormente, se realizó un diseño factorial completo para evaluar el efecto de la cáscara de dos variedades criollas provenientes de cultivos de dos diferentes localidades (Rayones y Chihuahua), utilizando dos tipos de solvente (agua y etanol al 50%) y tiempo de extracción (15 y 35 minutos) sobre las mismas variables de respuesta arriba señaladas. Los datos obtenidos de cada uno de los experimentos fueron procesados estadísticamente. Para el análisis de varianza y comparación de medias mediante la mínima diferencia significativa con la ayuda del programa STATGRAPHICS, versión 18.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se ha reportado consistentemente que la cáscara de nuez pecanera contiene un número importante de metabolitos principalmente compuestos polifenólicos, flavonoides y taninos condensados con alta actividad antioxidante De la Rosa *et al.*, 2012; en este sentido, se ha utilizado fundamentalmente las extracciones por métodos tradicionales como infusiones acuosas e hidroalcohólicas con importantes resultados en los perfiles polifenólicos obtenidos y actividades biológicas como antimicrobiana, anticancerígena, antidiabética y antioxidante Reyes-Vázquez 2022, sin embargo hasta donde se sabe no se han reportado extracciones por tecnologías verdes tales como asistidas por microondas en cáscara de nuez pecanera.

Como se puede observar en la figura 1 (A) se describe el efecto de temperatura de extracción sobre el contenido de polifenoles de la cáscara de dos variedades criollas. En la primera extracción CR75 obtuvo

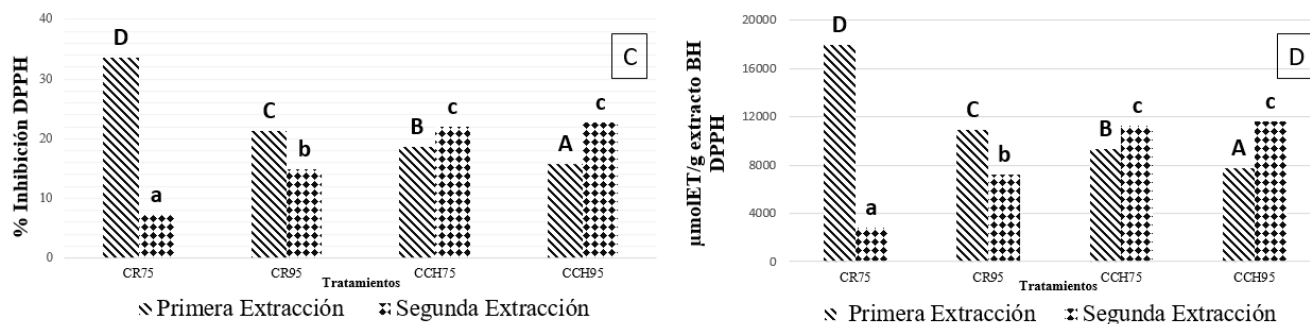
274.59 mgGAE/g extracto de polifenoles significativamente mayor ( $P < 0.05$ ), con relación a CCH75 que obtuvo la menor cantidad con 140.75 mgGAE/g extracto; mientras que las extracciones para CR95 y CCH95 fueron de 157.89 y 175.94 mgGAE/g extracto respectivamente. Es interesante observar que además de la temperatura, la variedad tuvo un impacto importante en la cantidad de polifenoles extraídos, en ambas extracciones particularmente en la segunda, ya que por ejemplo en la cultivada en Rayones se presentaron las cantidades mayores en la primera extracción disminuyendo significativamente en la segunda extracción. Para el caso de Chihuahua inicialmente la extracción fue menor para luego incrementarse con la segunda extracción. Este comportamiento probablemente indica que la naturaleza del material en cuanto a su composición de hemicelulosa, celulosa y lignina, y por tanto dureza, podría estar jugando un papel fundamental en el proceso de extracción tal como lo señala Rodríguez-Padrón 2020 en cáscara verde de nuez de castilla extraída por microondas.



**Figura 1.** Efecto de la temperatura de extracción sobre A) Contenido total de polifenoles y B) Actividad antioxidante expresada como actividad secuestrante del radical ABTS. Criolla Rayones 75°C (CR75) y 95°C (CR95), Criolla Chihuahua 75°C (CCH75) y 95°C (CCH95). Letras mayúsculas y minúsculas distintas en cada columna indican una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) en la primera y segunda extracción respectivamente.

Estos resultados pueden compararse con lo descrito por Pinto et al., 2021 en el cual obtuvo un valor de 173.89 mg de GAE/g PS con extracción acuosa, utilizando EAM con una temperatura de 75° por 10 min y mantenimiento por 15min haciendo solo una extracción. De igual manera Cacciola *et al.*, 2019 reportó un contenido total de polifenoles de 247.63 mg GAE/g de PS para extractos acuosos de cáscaras de Castaña sativa utilizando tiempos de extracción más prolongados. Sin embargo, podemos destacar, que al realizar dos extracciones tal fue el caso de este protocolo se obtienen mejores valores de fitocompuestos.

La mayor actividad antioxidante figura 1(B) se presentó durante la primera extracción de CR75 la cual mostró 2398.86 µmolET/g extracto significativamente mayor ( $P < 0.05$ ) con relación a los otros tratamientos, sugiriendo que a temperaturas 75°C se obtiene una elevada actividad antioxidante, dato que podría estar correlacionado con la cantidad de polifenoles obtenidos y que también favoreció una adecuada extracción de la cáscara de Chihuahua lo que conllevaría a un ahorro de energía y conservación de la actividad biológica.



**Figura 2.** Efecto de la temperatura de extracción sobre actividad antioxidante expresada como C) Porcentaje de inhibición y D)  $\mu\text{molET/g}$  extracto remoción radical DPPH. Criolla Rayones 75°C (CR75) y 95°C (CR95), Criolla Chihuahua 75°C (CCH75) y 95°C (CCH95). Letras mayúsculas y minúsculas distintas en cada columna indican una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) en la primera y segunda extracción respectivamente.

En la figura 2 se presenta el efecto de la temperatura sobre la actividad antioxidante del radical DPPH, e igualmente se observó una posible correlación entre la cantidad de polifenoles extraídos y el % de inhibición con 33.64 en el tratamiento CR75 de la primera extracción que representa 17960  $\mu\text{molET/g}$  extracto, mientras que en la segunda extracción disminuyó significativamente hasta 7.24% que representa 2800  $\mu\text{molET/g}$  extracto, sin embargo para Rayones tratada a 95°C no favorece una mejor recuperación de fitocompuestos con actividad antioxidante ni en la primera ni segunda extracción. En el caso de la variedad Chihuahua a 75°C presentó una actividad antioxidante de 18.66% de inhibición, con 9360  $\mu\text{molET/g}$  extracto remoción radical DPPH, mientras que la segunda extracción tuvo 22.01% de inhibición con 11280  $\mu\text{molET/g}$  extracto remoción radical DPPH, sin embargo, el incremento de temperatura a 95°C no mejoró su actividad antioxidante.

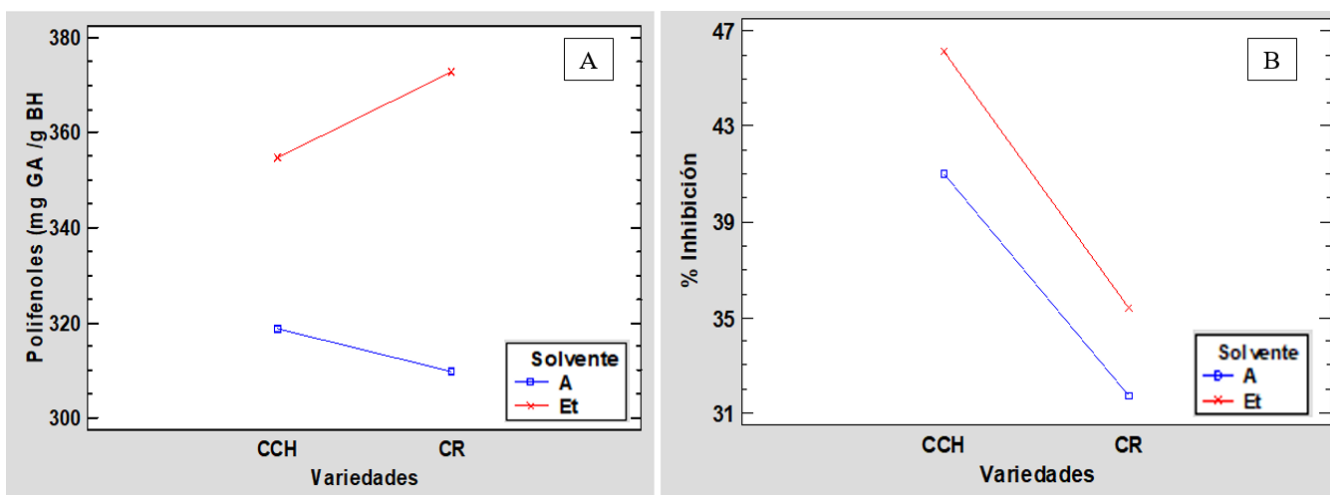
Resultados similares utilizando EAM en cáscara de *C. sativa* fueron reportado por Rodríguez – Padrón 2020 utilizando temperaturas mayores a 100°C durante 30 min se obtienen 99.09 mg de GAE/g extracto BH de polifenoles con un 63% de actividad antioxidante. Estos resultados confirman que a 75°C para ambos residuos agroindustriales se obtienen adecuadas cantidades de polifenoles que preservan su actividad antioxidante.

**Tabla I.** Efecto de variedad, solvente y tiempo de extracción a 75°C sobre la cantidad de polifenoles y actividad antioxidante en cáscaras criolla de nuez pecanera criolla cultivada en Rayones y Chihuahua

Variedad	Solvente	Tiempo	mgGAE/g BH	% inhibición DPPH	$\mu\text{molET/g}$ extracto BH DPPH
CR	Agua	15	368.42	30.58	21300
CR	Agua	35	405.64	32.93	22950
CR	<b>Etanol</b>	<b>15</b>	<b>470.30</b>	<b>36.77</b>	<b>25650</b>
CR	Etanol	35	462.03	34.00	23700
CCH	Agua	15	410.90	42.89	29950
CCH	Agua	35	386.09	39.19	27350
CCH	<b>Etanol</b>	<b>15</b>	<b>442.86</b>	<b>46.87</b>	<b>32750</b>
CCH	Etanol	35	443.98	45.45	31750

Criolla Rayones (CR), Criolla Chihuahua (CCH)

Los resultados de la combinación de las diferentes variables evaluadas se presentan en la tabla 1, la cual nos indica que el solvente etanol al 50% y 15 min de extracción en ambos residuos de cáscara dio como resultado los mejores contenidos de polifenoles y actividad antioxidante cuantificada como porcentaje de remoción del radical DPPH. Para el caso de Rayones fue de 470.30 mgGAE/g BH, 36.77% de inhibición y 25650  $\mu\text{molET/g}$  extracto BH; para Chihuahua 442.86 mgGAE/g BH, 46.87% de inhibición y 32750  $\mu\text{molET/g}$  extracto BH.



**Figura 3.** Gráfico de interacción estadística significativo entre A) efecto de solventes sobre los polifenoles obtenidos para ambas variedades, B) efecto de las diferentes variedades sobre el porcentaje de inhibición para ambos solventes.

Con base al diseño experimental de los parámetros de extracción evaluados el tipo de solvente tuvo un efecto significativo en la cantidad de polifenoles obtenido (figura 3 (A)) en donde se puede observar que el etanol al 50% incremento significativamente ( $P < 0.05$ ) la cantidad de polifenoles obtenidos para ambas variedades, mientras que el agua no favoreció la extracción especialmente en la variedad Rayones. Adicionalmente la variedad tuvo un efecto significativo ( $P < 0.05$ ) en el porcentaje de inhibición, y por tanto en los micromoles equivalentes de trolox obtenidos como se muestra en la figura 3 (B), siendo mayor en las cáscaras de nuez de Chihuahua con respecto a la de Rayones particularmente con el tratamiento etanólico.

## CONCLUSIÓN

La extracción asistida con microondas es un método verde con amplio potencial de extracción de fitocompuestos con elevadas actividades antioxidantes en cáscara de nuez pecanera. En este trabajo bajo las condiciones evaluadas sugieren que para ambas variedades de nuez criolla un protocolo de extracción con etanol 50% a 75°C durante 15min es la más adecuada en la obtención de polifenoles con actividad antioxidante elevada. Actualmente se están realizando esfuerzos en la extracción enzimática asistida con microondas.

## AGRADECIMIENTO

FONDO CONACYT: F0P02-2021/315035



**BIBLIOGRAFÍA**

- Alexandru, L., Binello, A., Mantegna, S., Boffa, L., Chemat, F., & Cravotto, G. (2014). Efficient green extraction of polyphenols from post-harvested agro-industry vegetal sources in Piedmont. *Comptes Rendus Chimie*, 17(3), 212-217.
- Aryee, A. N., & Boye, J. I. (2015). Current and emerging trends in the formulation and manufacture of nutraceuticals and functional food products. *Nutraceutical and functional food processing technology*, 48.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.
- Cacciola, N. A., Squillaci, G., D'Apolito, M., Petillo, O., Veraldi, F., La Cara, F., ... & Morana, A. (2019). Castanea sativa Mill. shells aqueous extract exhibits anticancer properties inducing cytotoxic and pro-apoptotic effects. *Molecules*, 24(18), 3401.
- Chemat, F., & Cravotto, G. (Eds.). (2012). *Microwave-assisted extraction for bioactive compounds: theory and practice (Vol. 4)*. Springer Science & Business Media.
- Das, H., & Singh, S. K. (2004). Useful byproducts from cellulosic wastes of agriculture and food industry—a critical appraisal. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44(2), 77-89.
- de la Rosa, L. A., Alvarez-Parrilla, E., & Shahidi, F. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of kernels and shells of Mexican pecan (*Carya illinoensis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(1), 152-162.
- Reyes-Vázquez, N., de la Rosa, L. A., Morales-Landa, J. L., García-Fajardo, J. A., & García-Cruz, M. Á. (2022). Phytochemical content and potential health applications of pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch] nutshell. *Current topics in medicinal chemistry*, 22(2), 150-167.
- Dictionary of Food Science and Technology (2nd Ed)*. International Food Information Service (IFIS Editor); 2009: 47-48.
- Do Prado, A. C. P., a Silva, H. S., da Silveira, S. M., Barreto, P. L. M., Vieira, C. R. W., Maraschin, M., ... Block, J. M. (2014). Effect of the extraction process on the phenolic compounds profile and the antioxidant and antimicrobial activity of extracts of pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] shell. *Industrial Crops and Products*, 52, 552–561. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.031>
- Esquivel-Hernández, D. A., Ibarra-Garza, I. P., Rodríguez-Rodríguez, J., Cuéllar-Bermúdez, S. P., Rostro-Alanis, M. D. J., Alemán-Nava, G. S., ... & Parra-Saldívar, R. (2017). Green extraction technologies for high-value metabolites from algae: a review. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 11(1), 215-231.
- Fernández-Agulló, A., Pereira, E., Freire, M. S., Valentão, P., Andrade, P. B., GonzálezÁlvarez, J., & Pereira, J. A. (2013). Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. *Industrial Crops and Products*, 42(November), 126–132. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.05.021>
- Lim, T. K. (2012). *Edible medicinal and non-medicinal plants (Vol. 1)*, pp. 656-687. Dordrecht, The Netherlands:: Springer.
- Pinto, D., Silva, A. M., Freitas, V., Vallverdú-Queralt, A., Delerue-Matos, C., & Rodrigues, F. (2021). Microwave-Assisted Extraction as a Green Technology Approach to Recover Polyphenols from *Castanea sativa* Shells. *ACS Food Science & Technology*, 1(2), 229-241.
- Reyes-Vazquez, N., González-Aguilar, G. A., Moo-Huchin, V., Gonzalez-Martinez, M., Villa, J. A., Palafox-Carlos, H., ... & Rodríguez-Buenfil, I. M. (2012). Antioxidant constituents and chemical properties of 'Tommy atkins' Mango grown in Campeche, México. *Global Research Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 3(4), 313-323.

- Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*, 2(4), 152-159.
- Rodriguez-Padron, D., Zhao, D., Garin Ortega, R. N., Len, C., Balu, A. M., Garcia, A., & Luque, R. (2020). Characterization and antioxidant activity of microwave-extracted phenolic compounds from biomass residues. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(3), 1513-1519.
- Reyes-Vázquez, N., Suárez, J. A., Obregón, S. E., Urzúa, E., Cervantes, M. J., García, F. J. A., & Urrea, L. R. (2015). Retos y oportunidades para el aprovechamiento de la nuez pecanera en México. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, AC.(CIATEJ).

## Diseño de pretratamientos antioxidantes para el secado de cascara de plátano con infrarrojo y aire caliente

Y. Gutiérrez-Aguirre<sup>\*1</sup>, C. Ozuna-López<sup>2</sup>, Ma. Del R. Abraham-Juárez<sup>2</sup>, M.G.L. Acosta-Castillo<sup>1</sup>, M.A. Rocha-Mendoza<sup>1</sup> y E. Mares-Mares<sup>1</sup>

**1** Tecnológico Nacional de México, Campus Instituto Tecnológico Superior de Guanajuato. Carr. Guanajuato-Puentecillas km 10.5 Puentecillas. CP. 36262. Guanajuato, Gto., México. **2** Departamento de Alimentos, Posgrado en Biociencias. División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. Carr. Irapuato-Silao km 9. Ex-Hacienda El Copal. CP. 36000. Irapuato, Gto., México.

[\\*emares@itesg.edu.mx](mailto:emares@itesg.edu.mx)

### RESUMEN

El aprovechamiento de subproductos agroindustriales como la cascara de plátano se ve limitada por la oxidación de sus componentes aún cuando se emplean tecnologías emergentes para el desarrollo de productos. El objetivo fue diseñar un pretratamiento antioxidante empleando la metodología de respuesta y secar la cascara con aire caliente e infrarrojo. Se empleó un diseño Box-behnken con MiniTab19 para establecer las concentraciones de ácido cítrico, ascórbico y bisulfito de sodio de acuerdo con los límites establecidos por COFEPRIS. Se evaluó el vector de color con la escala CIELAB. Posteriormente, se analizaron los resultados para optimizar la variable de respuesta y obtener una harina con el máximo de luminosidad. Las concentraciones optimizadas de los aditivos se aplicaron como pretratamiento al secado. De acuerdo con los resultados, el modelo de mejor ajuste es del tipo cuadrático con una  $R^2$  de 93.8%. Las concentraciones óptimas de los aditivos fueron de ácido cítrico al 0.165%, de bisulfito de Sodio al 0.19% y ácido ascórbico al 0.25%. Así mismo, se obtuvo una harina más luminosa empleando el secado por infrarrojo. En conclusión, se diseñó un pretratamiento con la menor cantidad de aditivos para obtener harina de cascara de plátano estable a la oxidación.

**Palabras clave:** Cáscara, plátano, antioxidantes, secado, infrarrojo.

### ABSTRACT

The use of agro-industrial by-products such as banana peel is limited by the oxidation of its components, even when emerging technologies are used for product development. The objective was to design an antioxidant pretreatment using the response surface methodology and to dry the shell with hot and infrared air. A Box-behnken design with MiniTab19 was used to establish the concentrations of citric acid, ascorbic acid, and sodium bisulfite according to the limits established by COFEPRIS. The color vector was evaluated with the CIELAB scale. Subsequently, the results were analyzed to optimize the response variable and obtain some flour with maximum luminosity. The optimized concentrations of the additives were applied as pretreatment to drying. According to the results, the best fit model is of the quadratic type with an  $R^2$  of 93.8%. The optimum concentrations of the additives were 0.165% citric acid, 0.19% sodium bisulfite and 0.25% ascorbic acid. Likewise, a brighter flour was obtained using infrared drying. In conclusion, a pretreatment with the least number of additives was designed to obtain oxidation-stable plantain peel flour.

**Keywords:** Peel, banana, antioxidants, drying, infrared.

### INTRODUCCIÓN

El plátano y el banano son frutos originarios del Sureste Asiático y son una fuente de alimento para habitantes de las zonas tropicales húmedas. Se considera que ocupan el cuarto lugar como cultivos de importancia agronómica a nivel mundial. En frutas tropicales ocupan el primer lugar en consumo fresco. Sin embargo, su producción y transformación está enfocada a la pulpa, lo que genera una cantidad importante de residuos de la cascara o también llamados subproductos del plátano (Rivera et al., 2018). La cáscara de plátano es rica en proteínas, fibra dietética, ácidos grasos, aminoácidos y potasio, además se considera que puede ser una gran fuente de sustancias antioxidantes como la galocatequina y las antimicrobianas, así como compuestos fotoquímicos contra la actividad de radicales libres (Carvajal y Murgueitio, 2017), su uso se podría extender como harinas si se somete a tratamientos antioxidantes y con el correcto empleo de métodos de secado (Rivera et al., 2018).

La utilización de residuos agroindustriales, como materia prima de bajo costo para obtener nuevos productos, representa una opción para transformar los desechos en nuevas materias primas que se perfilan como una alternativa atractiva para conseguir compuestos con propiedades benéficas. Sin embargo, los residuos generados por las transformaciones agroindustriales y por las pérdidas postcosecha en nuestro país aún no han sido aprovechados eficientemente, en parte, porque su valor es desconocido y sobre todo por la falta de métodos apropiados para la preparación y caracterización de sustancias de mayor valor agregado, las cuales contengan la suficiente calidad e inocuidad como para ser usadas en esos procesos (Angulo et al., 2011). Por este motivo, los procesos oxidativos son causantes de alteraciones de múltiples productos dentro de la industria alimenticia debido al detrimento de sus propiedades organolépticas. Como respuesta, este sector productivo debe recurrir al uso de algunos agentes antioxidantes de origen natural o sintético el ácido cítrico, el ácido ascórbico, los sulfitos, el BHT y el BHA (Vargas y Vargas et al., 2019).

El papel que tienen los vegetales y productos alimenticios en la prevención de enfermedades ha sido atribuido a las propiedades antioxidantes de sus compuestos poli fenólicos. Con este conocimiento, se trata de demostrar el valioso potencial de algunos materiales subutilizados o de escaso interés comercial como fuente de compuestos antioxidantes y antimicrobianos (Oliveira *et al.*, 2009). Estos residuos representan una alternativa para la formulación de alimentos funcionales libres de productos químicos sintéticos al aprovechar su capacidad antioxidante con lo que se lograría disminuir el porcentaje de desechos provenientes de la industria al ser empleados como materias primas de fortificación. (Vargas y Vargas et al., 2019). Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue diseñar pretratamientos antioxidantes utilizando la metodología de superficie de respuesta para el secado de cascara de plátano empleando tecnología emergente infrarroja y convencional de aire caliente.

### MATERIALES Y MÉTODOS

**1. Obtención de fibra de cáscara de plátano:** La harina de cáscara de plátano se obtuvo mediante el flujo de operaciones para la obtención de harina de plátano modificado, descrito por Mazzeo et al., (2010), con algunas modificaciones. Se utilizaron plátanos con coloración 80% amarilla y 20% verde, posteriormente fueron lavados con solución de hipoclorito de sodio a 50 ppm por 10 minutos.

- a) Diseño de un modelo de superficie de respuesta: Se empleó el software MiniTab 19 para establecer el diseño de superficie de respuesta “Box-Behnken”, donde se establecieron los intervalos de las concentraciones para ácido cítrico (hasta 0.25%), ácido ascórbico (hasta 0.25%) y Bisulfito de sodio (0.20%). En la Tabla 1, se muestra la corrida de un bloque de reproducibilidad aleatoria obtenida para las formulaciones obtenidas con MiniTab 19. Para el uso de los aditivos antioxidantes empleados en la presente investigación, se consideraron los lineamientos de la legislación nacional vigente de acuerdo con el Anexo 1 (Aditivos con diversas clases funcionales y con una IDA establecida) del Diario Oficial de la Federación para el uso de aditivos (<https://www.gob.mx/cofepris/documentos/anexo-i?state=draft>).

**Tabla I.** Corridas aleatorias de pretratamientos antioxidantes a la cascara de plátano

Pretratamiento	Bisulfito de Sodio	Ácido Cítrico %	Ácido Ascórbico
1	0.20	0.175	0.25
2	0.2	0.1	0.175
3	0.2	0.175	0.1
4	0.2	0.25	0.175
5	0.125	0.175	0.175
6	0.05	0.175	0.1
7	0.125	0.25	0.25
8	0.05	0.1	0.175
9	0.05	0.25	0.175
10	0.125	0.1	0.25
11	0.05	0.175	0.25
12	0.125	0.1	0.1
13	0.125	0.25	0.1

- b) Inmersión: Las cáscaras fueron cortadas en tiras y sumergidas en cada pretratamiento antioxidante de la Tabla 1 por 60 minutos.
- c) Secado: El secado de cascara se llevó a cabo en un equipo convencional de aire caliente a  $65^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  durante 3 horas aproximadamente hasta lograr un producto con un contenido de humedad del  $8.5 \pm 0.3\%$ .
- d) Molienda: Se utilizó una licuadora marca Oster, por la cual se pasaron los trozos de cáscara seca hasta ser pulverizados y filtrados por un tamiz de malla No. 100 para obtener partículas finas

**2. Evaluación de los parámetros de color.** Obtenidas las corridas del diseño experimental Box-Behnken se estudiaron los parámetros de color para las harinas resultantes de los 13 pretratamientos antioxidantes. Se evaluó el color de cada harina a diferentes de manera objetiva empleando un espectro fotocolorímetro 3hn modelo NR60CP, empleando el espacio de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  también conocido como CIELAB. El parámetro de color  $L^*$  corresponde a la luminosidad ( $+L^*$  es blanco y  $-L^*$  es negro) y  $a^*$  indica la dirección del color rojo ( $+a^*$ ) a la dirección del verde, ( $-a$ ). Con los valores  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  se obtuvo el vector de color de acuerdo con la formula:

$$V = \sqrt{L^2 + a^2 + b^2}$$

**3. Optimización de la formulación a partir del modelo predictivo.** Los resultados de la análisis de color se analizaron en el diseño de corridas Box-behnken. Para cada atributo se probó y estudió el modelo matemático de mejor ajuste (con una R-cuadrada mayor a 0.975) y se optimizó la muestra a un máximo de luminosidad de 100 (Harina blanca). Los modelos matemáticos probados fueron lineales, cuadráticos, cúbicos y cúbicos completos (Schffe 1998).

**4. Secado de cáscara de plátano con pretratamientos antioxidantes.** Se emplearon 2 métodos de secado, por aire caliente en un horno convencional y por radiación infrarroja, donde se secaron lotes de 10g de cáscara de plátano con las concentraciones de los aditivos antioxidantes optimizadas para la obtención de una harina blanca (luminosidad de 100). Los experimentos se realizaron por triplicado y se siguieron las condiciones de temperatura establecidas por Mazzeo et al., (2010)

- a) **Método en horno con aire caliente.** El secado de cascara se llevó a cabo en un equipo de aire caliente a una temperatura de  $55^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ , hasta lograr un producto con un contenido de humedad del  $8.5 \pm 0.3\%$ .
- b) **Método de radiación infrarroja.** El secado de cascara se llevó a cabo en un equipo de radiación infrarroja a  $65^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  hasta lograr un producto con un contenido de humedad del  $8.5 \pm 0.3\%$ . Las condiciones de secado por infrarrojo se realizaron con una fuente de emisión infrarroja incandescente de 250 watts, una velocidad de extracción de aire de 2m/s y una distancia entre el emisor y la muestra de 24 cm.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### a) Pretratamientos antioxidantes

Los resultados por triplicado para la medición de color para los 13 pretratamientos antioxidantes se muestran en la Tabla 2 con la obtención del vector de color. Para el parámetro de vector de color se realizó el análisis del diseño Box-Behnken con los diferentes modelos matemáticos (Lineal, cuadrático, cubico y cubico completo) hasta obtener un modelo significativo ( $p < 0.05$ ) y un coeficiente de determinación ajustado ( $R^2$ ) de cercano o mayor a 0.95

**Tabla II.** Parámetros de color de la harina de cascara de plátano en diferentes pretratamiento antioxidantes

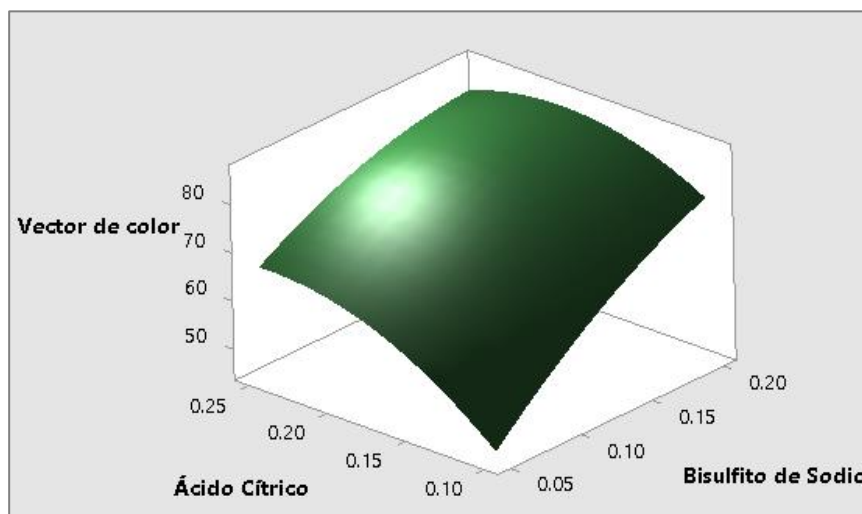
Pretratamiento	Toma	L	a	b	Vector color	Promedio
1	1	63.33	20.98	53.06	85.2421	84.3029026
	2	62.82	20.11	50.72	83.2063	
	3	62.66	19.39	53.21	84.4604	
2	1	61.53	15.32	47.70	79.3469	79.2908194
	2	58.06	16.39	49.86	78.2663	
	3	65.86	12.19	44.22	80.2592	
3	1	59.38	19.60	54.71	83.0863	82.2296318
	2	60.06	20.28	51.75	81.8324	
	3	61.69	18.59	50.35	81.7702	
4	1	62.73	19.86	49.65	82.4293	81.7407032
	2	59.66	18.58	51.41	80.9167	
	3	62.70	19.92	48.74	81.8760	
5	1	53.09	24.91	48.48	76.0879	77.0816486
	2	57.96	20.99	44.86	76.2388	
	3	58.11	24.06	47.67	78.9182	
6	1	49.00	18.85	40.45	66.2761	65.3354681
	2	48.86	18.85	40.42	66.1544	
	3	46.41	17.84	39.62	63.5759	
7	1	60.53	22.18	50.08	81.6323	78.5799395
	2	58.61	22.86	48.53	79.4536	
	3	52.71	23.31	47.45	74.6539	
8	1	37.97	15.19	27.87	49.4893	46.6534406
	2	30.57	11.48	23.99	40.5196	
	3	37.99	14.26	29.13	49.9514	
9	1	46.88	17.44	39.92	63.9960	64.9525845
	2	46.90	17.43	36.17	61.7388	
	3	46.10	34.80	37.97	69.1229	
10	1	50.33	22.37	45.75	71.6002	71.0387536
	2	52.85	18.43	45.66	72.2331	
	3	51.60	20.42	41.48	69.2829	
11	1	40.48	16.72	30.77	53.5255	56.1935712
	2	41.26	17.23	34.98	56.7702	
	3	43.36	16.61	35.23	58.2849	
12	1	36.98	12.20	31.00	49.7731	52.4500378
	2	42.66	13.77	36.62	57.8836	
	3	35.47	13.16	32.22	49.6934	
13	1	53.79	20.87	46.27	73.9583	75.8063413
	2	58.67	20.59	48.04	78.5745	
	3	54.15	21.56	47.02	74.8862	

De acuerdo con los resultados, el modelo matemático para el parámetro analítico de color de mejor ajuste fue del tipo cuadrático ya que presentó el mayor coeficiente de regresión (93.8%) y un valor p significativo ( $p = 0.15$ ). El modelo cuadrático esta representado con la siguiente ecuación:

$$\text{Vector de color} = -38.2 + 335 \text{ Bisulfito de Sodio} + 654 \text{ Ácido Cítrico} + 202 \text{ Ácido Ascórbico} - 567 \text{ Bisulfito de Sodio} * \text{Bisulfito de Sodio} - 1020 \text{ Ácido Cítrico} * \text{Ácido Cítrico}$$

- 335 Ácido Ascórbico\*Ácido Ascórbico - 704 Bisulfito de Sodio\*Ácido Cítrico  
+ 499 Bisulfito de Sodio\*Ácido Ascórbico - 703 Ácido Cítrico\*Ácido Ascórbico

Así mismo, las variables de concentración de ácido cítrico, ácido ascórbico y bisulfito de sodio obtuvieron un valor p de 0.013, 0.342 y 0.001 respectivamente de ajuste al modelo cuadrático. Para el caso del ácido ascórbico no resultó significativo el ajuste. En la Figura 1, se muestra el gráfico de superficie de respuesta del modelo cuadrático con tendencia parabólica.

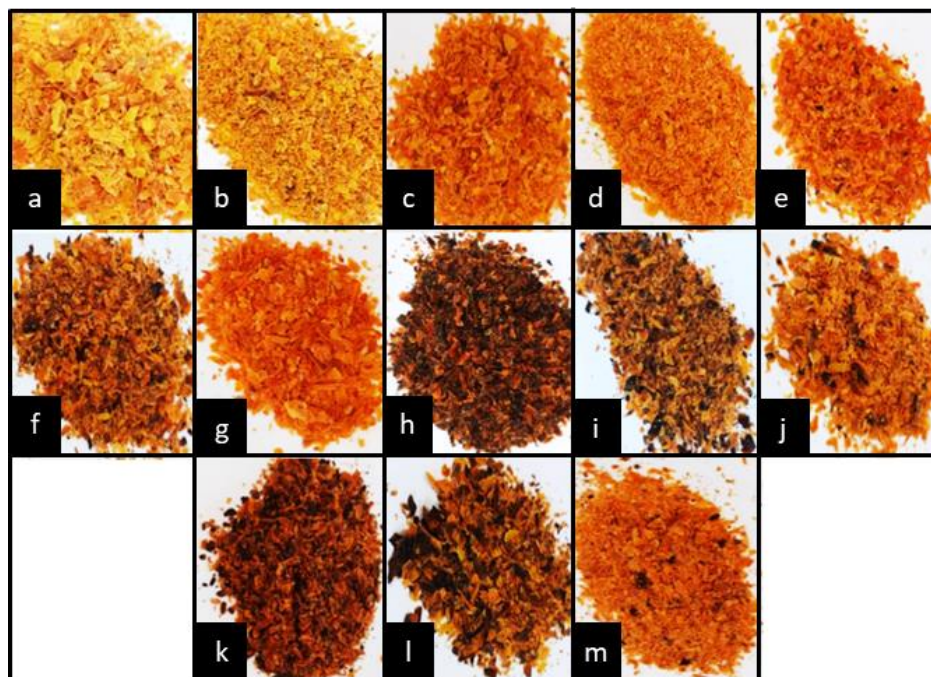


**Figura 1.** Representación del modelo cuadrático del parámetro del vector de color

Una vez obtenido el modelo cuadrático se emplearon los conocimientos de cálculo diferencial para maximizar el valor del vector de color con la máxima luminosidad (Harina blanca). Para ello, se determina que el valor máximo de luminosidad se encuentra en el punto en el cual simultáneamente la derivada parcial del vector de color respecto a la concentración de ácido cítrico, la derivada parcial del vector de color respecto a la concentración de ácido ascórbico y la derivada parcial del vector de color respecto a la concentración de bisulfito son iguales a cero (Mercado et al., 2011).

Obtenidas las ecuaciones de las derivadas parciales se resuelven las incógnitas por el método algebraico y se determinan las concentraciones de los aditivos antioxidantes que dan respuesta a una mayor luminosidad de la harina a través del vector de color, siendo las concentraciones de ácido cítrico al 0.165%, de bisulfito de Sodio al 0.19% y ácido ascórbico al 0.25%. La apariencia de la harina se representa en la Figura 2a.



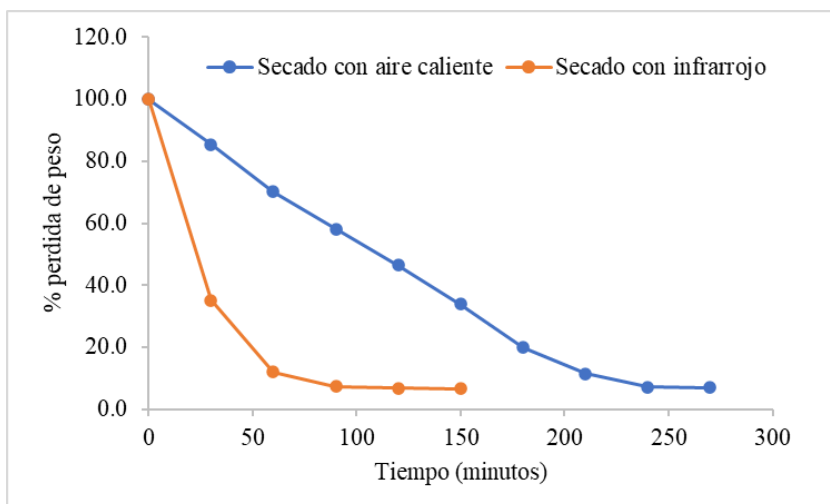


**Figura 2.** Apariencia de la harina de cascara de trigo. Donde a) es la harina con las concentraciones del modelo optimizado y de “b” a “m” corresponden a los 13 pretratamientos del diseño Box-behnken.

#### **b) Secado de cascara de plátano con pretratamiento antioxidante**

De acuerdo con los resultados obtenidos de secado (Figura 3) se puede establecer que el tiempo de secado en el equipo de convección con aire caliente a una temperatura de 55°C es de 270 minutos, ya que después de este tiempo el peso de la muestra permanece constante, el peso final de la muestra, considerando un promedio de las tres muestras tomadas es de 7.3778 g y el porcentaje promedio de humedad es de 7.32%.

Para el método de radiación infrarroja, se observó que en los primeros 30 minutos se redujo un 64.88% de humedad de la cáscara, alcanzando su peso absoluto a los 120 minutos, ya que el cambio de peso después de ese tiempo es mínimo, comparado con el equipo de secado convencional, el equipo de secado con luz infrarroja es 120 minutos más rápido. El promedio final de la humedad en la cáscara considerando los dos estudios se estableció en 6.75%. Por otra parte, se observaron diferentes coloraciones en las harinas obtenidas de acuerdo con el método de secado, siendo mas luminosa la obtenida por infrarroja. (Figura 4).



**Figura 3.** Cinéticas de pérdida de peso de cáscara de plátano con pretratamientos antioxidantes y secado con aire caliente e infrarrojo



**Figura 2.** Apariencia de la harina de cascara de trigo con diferente método de secado. Donde a) es con aire caliente y b) con infrarrojo

## CONCLUSIÓN

Se diseñó un pretratamientos antioxidante utilizando la metodología de superficie de respuesta para el secado de cascara de plátano empleando tecnología emergente infrarroja y convencional de aire caliente y en estricto apego a la normatividad nacional vigente en el uso de aditivos antioxidantes. La presente investigación contribuye a poder aprovechar y valorar los subproductos del plátano para la obtención de una materia prima rica en fibra y antioxidantes. Así mismo, se constata que el uso de los tratamientos antioxidantes y el empleo de tecnologías emergentes como la radiación infrarroja permiten obtener productos más atractivos al consumidor.

## BIBLIOGRAFÍA

- Angulo, P., Díaz, D., Espinoza, J., Fernández, V., Figueroa, M., y Galarza, A. (2001). Implicaciones farmacológicas y toxicológicas del óxido nítrico en la inflamación intestinal II: enteritis inducida por AINES como modelo experimental para el científico de la flora medicinal peruana. *Revista de Ciencias Veterinarias*, 17(3), 21-26
- Carvajal, M., & Murgueitio, F. (2017). Caracterización de las proteínas de la cascara de plátano tipo Williams (Giant Cavendish) (Tesis pregrado). Universidad de Guayaquil, Ecuador.
- Oliveira, A., Barros, C., Silva, E., Henriques M., Paes de Barros, M., Marinho, M., & Fonseca, O. (2009). Total Phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruits residues. *Food Chemistry*, 115, 469-475.
- Rivera et al., (2018). “Componentes prebióticos del plátano: fibra dietética y almidón resistente” En *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 5 (3), pp. 40-50.
- Scheffé, H. (1958). Experiment with mixtures. *Journal Royal Statistical Society*. 20:344
- Vargas y Vargas, M., Figueroa Brito, H., Tamayo Cortez, J., Toledo López, V., & Moo Huchin, V. (2019). Aprovechamiento de cáscaras de frutas: análisis nutricional y compuestos bioactivos. *CIENCIA Ergo-Sum*, 26(2). doi:10.30878/ces.v26n2a6

## Optimización para la extracción de ficocianina de la cianobacteria *Spirulina maxima*

Sada-Borrego Carlos<sup>1\*</sup>, García-Gómez Celestino<sup>1</sup>, Guajardo-Barbosa Claudio<sup>2</sup>, Márquez-Reyes Julia<sup>1</sup>, Nápoles-Armenta Juan<sup>1</sup>, Beltrán-Rocha Julio<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Av. Francisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Calle Pedro de Alba, Niños Héroes, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. C.P. 66450.

\* [carlos.sadab@uanl.edu.mx](mailto:carlos.sadab@uanl.edu.mx)

### RESUMEN

El uso de *Spirulina maxima* para la formulación de alimentos funcionales ha aumentado en los últimos años por sus propiedades y beneficios a la salud. Además, es de interés la utilización de la ficocianina de *S. maxima* por sus efectos antiinflamatorios, antioxidantes y anticancerígenos, actuando directamente en la reducción del estrés oxidativo, la apoptosis y los procesos inflamatorios en modelos in vivo. Sin embargo, uno de los problemas del uso de la ficocianina en alimentos es optimizar la extracción a una máxima concentración y con una buena estabilidad (Jaeschke, 2021), ya que las metodologías existentes consumen mucho tiempo y no proporcionan una materia prima con una buena concentración, haciendo que el proceso de extracción sea costoso y laborioso. En este trabajo se propuso trabajar con un método de extracción en buffer de fosfatos con agitación (Li, 2020) por su sencillez, teniendo como objetivo la optimización de los parámetros del proceso (temperatura, pH, agitación, cantidad de solvente y tiempo) para maximizar la concentración de ficocianina extraída, utilizando el método de superficie de respuesta. Posteriormente se hizo una validación del punto óptimo para confirmar la consistencia en las concentraciones obtenidas con lo predicho por el modelo.

**Palabras clave:** Espirulina, ficocianina, extracción, temperatura, superficie de respuesta.

### ABSTRACT

The use of *Spirulina maxima* in the formulation of functional foods has risen in recent years due to its beneficial properties in human health. Moreover, the use of phycocyanin from *S. maxima* is of interest because of its anti-inflammatory, antioxidant and anticarcinogenic activities, acting directly in reducing oxidative stress, apoptosis and inflammatory processes in live models. Nonetheless, one of the problems of its application in food is the optimization of extraction by maximizing concentration and stability, since current methodologies are time-consuming and do not yield enough concentration, making the process costly and demanding. In this work, an extraction method based in phosphate buffer was proposed, due to its simplicity, with the goal of optimizing process parameters (temperature, pH, agitation, solvent ratio and time) in order to maximize extracted phycocyanin concentration, using response surface methodology. Subsequently, the optimal conditions were validated in order to confirm consistency between predicted data and real concentrations.

**Key words:** Spirulina, phycocyanin, extraction, temperatue, response surface.

## INTRODUCCIÓN

La *Spirulina maxima* es una cianobacteria, también conocida como *Arthrospira*, popularmente reconocida en el mundo de los alimentos saludables como un suplemento alto en proteína con uso en la alimentación humana. Se caracteriza por un alto contenido de proteína (50-70% peso seco), conteniendo todos los aminoácidos esenciales, aunque cantidades reducidas de metionina, cisteína y lisina, siendo por ello inferior a proteínas animales como el huevo y la leche, pero muy superior a la mayoría de las proteínas vegetales. Dentro de estas proteínas se encuentra la ficocianina, que es de mucho interés en la actualidad por sus propiedades funcionales en el organismo. La ficocianina forma parte de la familia de las ficobiliproteínas, que son pigmentos presentes en cianobacterias y que forman complejos que absorben la luz. Las ficobiliproteínas están conformadas por un heterodímero de unidades  $\alpha$  y  $\beta$ , cada uno de los cuales se forma por uno, dos o tres cromóforos llamados bilinas. Dentro de las ficobiliproteínas se encuentran los tipos ficoeritrinas, ficocianinas, alloficocianinas y ficoertrocianinas. En la *S. maxima*, el tipo de mayor importancia es la ficocianina, específicamente del tipo C-ficocianina, la cual se compone de dos subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  con una conformación hexamérica. (Morancais, 2018).

Actualmente, el uso de *S. maxima* como fuente alternativa de proteína goza de alta popularidad, debido en parte al aumento de personas en el mundo que siguen dietas libres o reducidas en consumo de proteína de origen animal. Por ejemplo, a nivel global se estima que el 22% de los consumidores intentan reducir su consumo de carne, mientras que en Latinoamérica este porcentaje es del 21% (IPSOS, 2018). En México, el porcentaje de personas que siguen dietas vegetarianas, flexitarianas y veganas es de 19%, 15% y 9%, respectivamente (Nielsen, 2016). Adicionalmente, el mercado de alimentos funcionales a nivel mundial tiene un valor de 161.49 millones USD, con un crecimiento anual proyectado del 7.9% (Grand View Research, 2019).

La ficocianina extraída de la *S. maxima* puede ser utilizada en la formulación de alimentos debido a sus propiedades funcionales entre las que se encuentran antiinflamatorios, antioxidantes y anticancerígenos, actuando directamente en la reducción del estrés oxidativo, la apoptosis y los procesos inflamatorios en modelos in vivo (Mysliwa, 2017).

Existen diversos métodos de extracción para la ficocianina a partir de *S. maxima* u otras cianobacterias, pero en su mayoría tienen desventajas de nivel bajo de pureza y baja estabilidad en el almacenamiento (Pez, 2021). Por lo anterior, es interesante evaluar un método sencillo y económico de extracción, evaluando la recuperación del pigmento y su estabilidad en almacenamiento para su uso como ingrediente alimentario.

El presente trabajo consiste en la optimización de los parámetros de un método de extracción de ficocianina a partir de espirulina, obteniendo con ello el punto en el cual se maximiza la concentración de la misma.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Etapas del experimento

El experimento se divide en las siguientes partes:

La primera consistió en optimizar los parámetros de extracción (temperatura, tiempo, pH, agitación, cantidad de solvente) para maximizar la concentración de ficocianina extraída.

Extracción en las condiciones óptimas para confirmar que las concentraciones reales se aproximan a las predichas por la metodología de superficie de respuesta.

### Optimización de la extracción de ficocianina

Para la etapa de extracción se partió de espirulina seca (*Spirulina maxima*) obtenida de un supermercado local. El procedimiento de extracción se basó en el descrito por Ying et al, utilizando un buffer de fosfatos, en este caso KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, ajustado a cierto pH, y donde se dispersó una cantidad determinada de muestra (espirulina seca) y se sometió a una agitación, tiempo y temperatura (Cuadro 1). Una vez obtenido el extracto, se midió absorbancia a 562, 615 y 652 nm para determinar la cantidad de ficoeritrocianina (PE), C-ficocianina (CPC) y allo-ficocianina (APC), así como las ficocianinas totales (TPC) presentes en el mismo (Choi, 2018). La cantidad de cada una de ellas (mg/ml) se determinó por medio de las siguientes fórmulas:

$$CPC = (A_{615nm} - 0.474A_{652nm})/5.34$$

$$APC = (A_{652nm} - 0.208A_{615nm})/5.08$$

$$PE = (A_{562nm} - 2.41CPC - 0.849APC)/9.62$$

$$TPC = CPC + APC$$

Todos los datos se analizaron por medio del método de superficie de respuesta, utilizando el software Design-Expert versión 13.

Cuadro 1: Condiciones experimentales para la extracción de ficocianina

	Mín.	Punto central	Máx.
T (C)	10	25	40
Agitación (RPM)	0	100	200
Relación muestra:solvente	1	3	5
Tiempo (min)	5	15	25
pH	6	8	10

### Confirmación de los datos predichos por el modelo

Se llevó a cabo la extracción en las condiciones óptimas arrojadas por el modelo de superficie de respuesta. En éstas se llevó a cabo la medición de absorbancia para determinar la concentración de ficocianinas y se compararon contra las concentraciones predichas por el mismo.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos mostraron que la producción de biomasa aumentó con el incremento de la concentración de bicarbonato de sodio. En la Fig. 2 s

**Extracción de ficocianina**

El punto óptimo al que se maximiza la extracción de ficocianinas totales es a 40°C, 146 rpm, 25 min, pH 7.8 y una relación muestra-solvente de 1:5 (imagen 1). La concentración predicha en el extracto a estas condiciones es de 0.378 mg/mL de ficocianina. Por otro lado, el punto óptimo de extracción de C-ficocianina es a 40°C, 151 rpm, 24.8 min, pH 7.7 y relación muestra-solvente de 1:5, con una concentración predicha de 0.249 mg/mL. El modelo obtenido (cuadro 2) logra explicar en buena medida la concentración de ficocianina basada en las variables mencionadas ( $R^2=0.8671$ ). Como puede observarse en las imágenes 2 y 3, los datos obtenidos en la experimentación se ajustan de buena manera al dato predicho y se mantienen cercanos a éste.

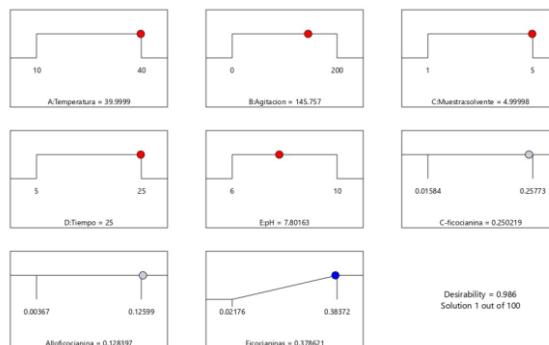


Imagen 1. Condiciones donde se maximiza la extracción de ficocianina.

Cuadro 2. Tabla de ANOVA, donde A=Temperatura, B=Agitación, C=Muestra:solvente, D=Tiempo y E=pH.

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrada	Valor F	Valor p
Modelo	0.0345	20	0.0017	7.83	<0.0001
A	0.0029	1	0.0029	12.99	0.0014
B	0.0001	1	0.0001	0.4547	0.5065
C	0.0157	1	0.0157	71.09	<0.0001
D	0.0006	1	0.0006	2.51	0.1263
E	0.0001	1	0.0001	0.4963	0.4879
AB	0.0003	1	0.0003	1.24	0.2756
AC	1.44x10-8	1	1.44x10-8	0.0001	0.9936
AD	3.33x10-6	1	3.33x10-6	0.0151	0.9032
AE	0.0001	1	0.0001	0.4163	0.5249
BC	3.5x10-6	1	3.5x10-6	0.0159	0.9008
BD	0.0000	1	0.0000	0.0839	0.7746
BE	8.28x10-7	1	8.28x10-7	0.0038	0.9516
CD	0.0019	1	0.0019	8.75	0.0068
CE	1.96x10-8	1	1.96x10-8	0.0001	0.9926
DE	2.12x10-7	1	2.12x10-7	0.0010	0.9755

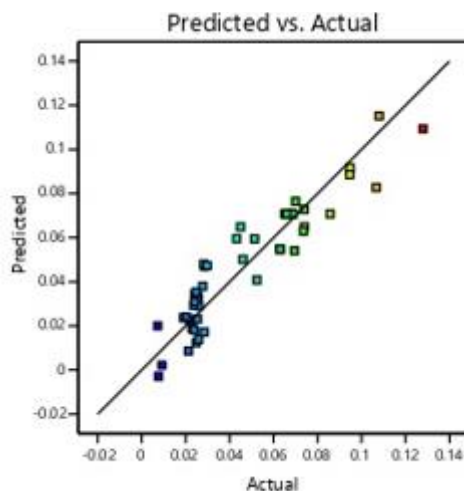


Imagen 2. Gráfica de datos predichos vs reales

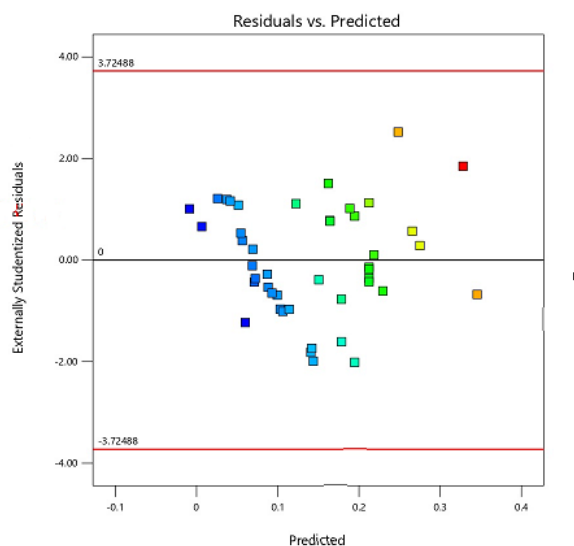


Imagen 3. Gráfica de residuales

Comparativamente, el resultado óptimo de la extracción planteada (0.378 mg/mL de ficocianina y 0.249 mg/mL de C-ficocianina) es menor a otro tipo de extracciones donde se involucra un paso previo que facilita la extracción. Por ejemplo, se ha encontrado que la disrupción celular por medio de pulsos electromagnéticos ayuda a aumentar el rendimiento de la extracción (Li, 2020). También se han propuesto otros métodos para mejorar la extracción como una molienda previa, ultrasonido y ciclos de congelación-descongelación (Jaeschke, 2021). Los rendimientos obtenidos con las extracciones mencionadas varían entre los 5 y 150 mg/mL de C-ficocianina, por lo que este tipo de pasos previos serían necesarios para obtener un ingrediente con una concentración suficiente para ser utilizado como materia prima para la elaboración de otros alimentos, especialmente alimentos funcionales, donde la funcionalidad (antioxidante) está dada directamente por la cantidad de ficocianina añadida.

Por otro lado, la composición de las ficocianinas es de aproximadamente 66% C-ficocianina y 34% alloficocianina, comparado con otros métodos donde se obtiene hasta un 89% de C-ficocianina en las extracciones (Li, 2020). Esta diferencia puede deberse tanto a la especie utilizada para la extracción



como las condiciones específicas en las que se hizo la misma. Además, la distinta composición de las ficocianinas extraídas puede impartirle características distintas a dicho extracto, ya que la alloficocianina tiene una mayor termoestabilidad, siendo estable hasta 60 minutos a 60 grados centígrados (Gysi, 1979), mientras que la C-ficocianina empieza a degradarse a partir de los 47 grados y a 60 grados centígrados por 15 minutos, tiene una degradación de alrededor del 30% (Chaiklahan, 2012).

El comportamiento de la extracción fue altamente dependiente de la temperatura y la agitación, donde la zona de mayor concentración de ficocianina se encuentra a las mayores temperaturas usadas y entre 100 y 200 rpm. Por otro lado, la relación entre la temperatura y cantidad de solvente es muy directa, ya que la concentración de ficocianina extraída aumenta a medida que aumenta la temperatura y la cantidad de solvente, quedando el punto máximo de la interacción en la máxima temperatura y la máxima cantidad de solvente.

Estas interacciones son consistentes con resultados obtenidos en otras investigaciones, donde se ha encontrado que el mayor rendimiento en la extracción de ficocianina se encuentra entre 30 y 50 grados centígrados, y donde la cantidad de solvente y el tiempo tienden a mejorar la extracción, aun sin ser una relación proporcional y que disminuye a medida que aumentan estos factores (Su, 2014).

### **Extracción en condiciones óptimas**

Una vez determinadas las condiciones óptimas para aumentar la concentración de ficocianina extraída, se procedió a hacer una nueva extracción con un resultado de 0.37 mg/mL de ficocianina. Este dato es consistente con la predicción del modelo, alejada solamente un 2% del valor previsto en el mismo.

### **CONCLUSIÓN**

A pesar de que el proceso de extracción optimizado ofrece una maximización de la concentración de ficocianina en el extracto en un tiempo relativamente corto (25 min), para llevar a cabo una aplicación industrial se necesitaría aplicar un método que aumente el rendimiento de la extracción y permitiendo de esta manera proponer un método efectivo y económicamente viable que promueva el uso de este ingrediente en la formulación de alimentos funcionales.

### **BIBLIOGRAFÍA**

- IPSOS. (2018). Nuevas tendencias alimentarias a nivel mundial. Obtenido de: [www.ipsos.com](http://www.ipsos.com)
- Nielsen. (2016). 8 de cada 10 mexicanos afirma seguir algún tipo de dieta restrictiva. Obtenido de: [www.nielsen.com](http://www.nielsen.com)
- Grand View Research. (2019). Functional foods market size, share and trend analysis report. Obtenido de: [www.grandviewresearch.com](http://www.grandviewresearch.com)
- Morançais, M., Mouget, J.-L., & Dumay, J. (2018). Proteins and Pigments. *Microalgae in Health and Disease Prevention*, 145–175. doi:10.1016/b978-0-12-811405-6.00007-4
- Pez Jaeschke, D., Rocha Teixeira, I., Damasceno Ferreira Marczak, L., & Domeneghini Mercali, G. (2021). Phycocyanin from Spirulina: A review of extraction methods and stability. *Food Research International*, 143, 110314.
- Jaeschke, D., Rocha, I., Damasceno, L. & Domeneghini, G. (2021). Phycocyanin from Spirulina: A review of extraction methods and stability. *Food Research International*, 143(2021), 110314.

Mysliwa, B., Solymosi, K. (2017). Phycobilins and phycobiliproteins used in food industry and medicine. *Mini-reviews in Medicinal Chemistry*, 17:13(2017), 1173-1193.

Li, Y., Zhang, Z., Paciulli, M. & Abbaspourrad, A. (2020). Extraction of phycocyanin – A natural blue colorant from dried spirulina biomass: Influence on processing parameters and extraction techniques. *Journal of Food Science*, 00(2020), 0.

Wu, H., Wang, G., Xiang, W., Li, T. & Hui, H. (2016). Stability and antioxidant activity of food-grade phycocyanin isolated from *Spirulina platensis*. *International Journal of Food Properties*, 19(2016), 2349-2362.

Zhou, Z., Liu, L., Chen, X. Factors that affect antioxidant activity of C-phycocyanins from *Spirulina platensis*. *Journal of Food Biochemistry*. 29(3), 313-322.

Colla, L., Bertol, C., Ferreria, D., Bavaresco, J., Costa, J., Bertolin, T. Thermal and photo-stability of the antioxidant potential of *Spirulina platensis* powder. *Brazilian Journal of Biology*. 77(2), 332-339.

Su, C., Liu, C., Yang, P., Syu, K., Chiu, C. (2014). Solid-liquid extraction of phycocyanin from *Spirulina platensis*: Kinetic modeling of influential factors. *Separation and Purification Technology*, 123, 64-68.

## **Análisis del perfil de aminoácidos de mieles de México por CLAR/F como estrategia para la determinación del origen geográfico.**

Armijo Martínez Samantha<sup>1,\*</sup>, Paniagua Vega David<sup>1,2</sup>, Lucio Gutiérrez Juan Ricardo<sup>1</sup>, Saucedo Yáñez Alma L. <sup>1,2</sup>, Waksman de Torres Noemí<sup>1</sup>, Cavazos Rocha Norma<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina. Departamento de Química Analítica. Av. Dr. José Eleuterio González 235, Mitras Centro, 64460 Monterrey, N.L. México. [sarmijo.me5021@uanl.edu.mx](mailto:sarmijo.me5021@uanl.edu.mx).

<sup>2</sup> Cátedras CONACYT-UANL

### **RESUMEN**

La miel es considerada un alimento nutracéutico debido a sus múltiples usos y beneficios, desde la antigüedad ha sido utilizado como un complemento alimenticio natural, y en la actualidad se ha ido introduciendo en la industria como un ingrediente en diversos productos cosméticos y farmacéuticos. Algunas de las moléculas responsables de estos beneficios son los aminoácidos, los cuales provienen mayoritariamente del polen presente en las flores de donde las abejas recolectan el néctar para la elaboración de la miel, por lo tanto, la composición puede variar dependiendo del origen botánico y geográfico. Debido a su gran valor nutracéutico, la miel es blanco de múltiples estrategias de adulteración, por lo tanto, resulta necesario mostrar la autenticidad de este alimento. En este trabajo se propone una estrategia analítica para la determinación del origen geográfico de la miel como prueba de autenticidad, por medio del análisis del perfil de aminoácidos por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) con detección por Fluorescencia, seguido de un análisis quimiométrico, para establecer una huella dactilar del perfil de las muestras de cada región.

**Palabras clave:** Miel, autenticidad, cromatografía. Honey, authenticity, chromatography.

### **ABSTRACT**

Honey is considered a nutraceutical food due to its multiple uses and benefits, since ancient times it has been used as a natural food supplement, and currently it has been introduced in the industry as an ingredient in various cosmetic and pharmaceutical products. Some of the molecules responsible for these benefits are amino acids, which come mainly from the pollen present in flowers from which bees collect nectar for honey production, therefore, the composition may vary depending on the botanical and geographical origin. Due to its great nutraceutical value, honey is the target of multiple adulteration strategies, therefore it is necessary to show the authenticity of this food. In this work, an analytical strategy is proposed to determine the geographical origin of honey as proof of authenticity, by analyzing the amino acid profile of different honeys in the country by High Resolution Liquid Chromatography (HPLC), followed by a chemometric analysis, to establish a fingerprint profile of the samples from each region.

## INTRODUCCIÓN

La miel es la sustancia dulce natural producida por abejas *Apis mellifera* a partir del néctar de las plantas o de secreciones de partes vivas de éstas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas y que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, y depositan, deshidratan, almacenan y dejan en el panal para que madure y añeje (FAO, 2019). Al ser un producto con alto valor nutricional y presentar beneficios para la salud, se considera como un alimento nutraceutico (Luchese, 2017).

Actualmente se han reportado más de 300 sustancias bioactivas en la miel, las cuales son responsables de sus propiedades funcionales y características tan específicas, además de intervenir en la calidad de esta, ejemplo de esto, son los aminoácidos (Se et al., 2019), los cuales son moléculas orgánicas que están conformadas por un grupo amino en uno de los extremos de la molécula, y un grupo carboxilo en el otro extremo, estos grupos están separados entre sí por un único átomo de carbono, que es llamado carbono alfa. Una manera de clasificar a los aminoácidos es por la forma en la que se encuentran en la naturaleza, ya que se pueden encontrar de forma libre o formando péptidos y proteínas (Dergal, 1999).

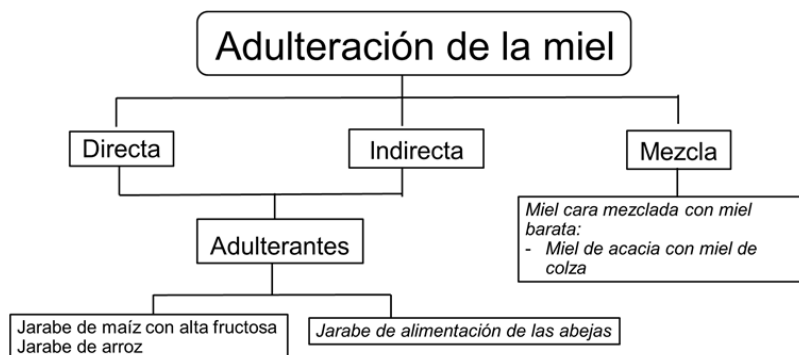
Los aminoácidos libres, no se encuentran unidos a ningún otro aminoácido mediante uniones peptídicas, y debido a su bajo peso molecular, las plantas son capaces de asimilarlos de forma rápida, por tanto, son de gran importancia en la nutrición de las plantas. Debido a esto, al estar presente de manera libre en las plantas, la aportación y presencia de estas moléculas en el proceso de la recolección del néctar por parte de las abejas y su posterior transformación en miel es importante, ya que adquiere características del origen de donde se recolectó el néctar. Estas biomoléculas representan aproximadamente el 1% p/p, donde la cantidad de aminoácidos libres totales corresponde entre 10 y 200 mg/100 g, siendo la prolina el que se encuentra en mayor proporción, ya que corresponde aproximadamente a un 50% de este contenido (Iglesias, 2004).

Además de la prolina, hay 26 aminoácidos en las mieles y sus proporciones relativas dependen de su origen (néctar o mielada). Dado que el polen es la principal fuente de aminoácidos de la miel, el perfil de aminoácidos de una miel podría ser característico de su origen botánico y geográfico. Los principales aminoácidos que han sido identificados en la miel son: ácido glutámico (Glu), ácido aspártico (Asp), asparagina (Asn), serina (Ser), glutamina (Gln), histidina (His), glicina (Gli), treonina (Thr), alanina (Ala), arginina (Arg), ácido gamma-aminobutírico (Gaba), prolina (Pro), tirosina (Tir), valina (Val), metionina (Met), cisteína (Cis), isoleucina (Ile), leucina (Leu), triptófano (Trp), fenilalanina (Phe), ornitina (Orn) y lisina (Lis) (Miguel et al., 2010).

En México, la producción de miel se desarrolla en todas las entidades federativas, y actualmente se encuentra en el octavo lugar a nivel mundial como productor de miel, y en el quinto lugar como exportador, con una producción de 61 mil toneladas y una exportación anual promedio de 33 mil toneladas en el año 2019 (SADER, 2020).

A nivel nacional, se cuenta con la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SAG/GAN-2018, producción de miel y especificaciones, de la secretaría de agricultura y ganadería, en donde se establecen las condiciones que debe cumplir la producción y comercialización de miel, la cual incluye características sensoriales, fisicoquímicas y el estudio melisopalínológico de la miel (NOM-004, 2020). Sin embargo, debido a su gran valor nutraceutico, y al tratarse del único edulcorante producido naturalmente que puede consumirse directamente sin ningún tipo de procesamiento extensivo, la miel ha ido cada vez al alza de demanda en el mercado, y debido a esto, se ha convertido en el tercer alimento más adulterado (Olmsted, 2016).

Dicha adulteración puede ser mediante tres métodos diferentes y utilizando diferentes adulterantes como se muestra en la Fig. 1 (Se et al., 2019):



**Figura 1.** Formas de adulteración en la miel (Se et al., 2019)

Actualmente, existe otro fraude relacionado con el origen geográfico en la industria apícola, ya que hay miel importada de otros países, principalmente por China, que es re-etiquetada y vendida como producto de origen nacional a un precio muy bajo (Trifković et al., 2017). En consecuencia, la discriminación del origen de la miel y la diferenciación entre una miel adulterada y pura se convierte en un tema muy importante ya que impacta de manera negativa a la industria apícola mexicana. Por este motivo, es necesario el desarrollo de métodos apropiados que garanticen una competencia leal entre los productores de miel y puedan estar protegidos contra el fraude.

Debido a las limitaciones de las técnicas de autenticación clásicas, se han ido buscando otros enfoques usando métodos analíticos modernos más fiables para determinar los orígenes botánicos y geográficos de la miel. Los estudios incluyen la medición del perfil de carbohidratos, el contenido mineral, el perfil de compuestos fenólicos, perfil de aroma y el perfil de aminoácidos, utilizando herramientas analíticas avanzadas como técnicas cromatográficas, técnicas basadas en espectrometría de masas (MS), espectroscopía vibracional como infrarroja (IR) y técnicas Raman, resonancia magnética nuclear (RMN) y análisis de isótopos estables. Cabe resaltar, que en este último enfoque, la caracterización de perfiles de analitos como los aminoácidos, han sido útiles para la determinación del origen geográfico y botánico, haciendo énfasis en el uso de técnicas cromatográficas como la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), como técnica para establecer una huella dactilar del perfil de estos compuestos, que puedan conducir al reconocimiento del patrón de una muestra, mediante el uso de quimiometría (Akbari et al., 2020) (Sun et al., 2017).

El objetivo de este trabajo fue evaluar, con ayuda de métodos quimiométricos, el análisis del perfil cromatográfico de aminoácidos de muestras de miel de diferentes regiones del país con el fin de agrupar mieles mexicanas de acuerdo a su origen geográfico, como estrategia para la autenticidad de la miel.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Reactivos:

Para llevar a cabo el presente trabajo se utilizaron los siguientes reactivos:

- Estándares de aminoácidos: ácido aspártico (Asp), ácido glutámico (Glu), asparagina (Asn), serina (Ser), histidina (His), glicina (Gli), arginina (Arg), treonina (Thr), alanina (Ala),

tirosina (Tir), metionina (Met), valina (Val), triptófano (Trp), fenilalanina (Phe), isoleucina (Ile), leucina (Leu) y lisina (Lis), Sigma-Aldrich.

- Ortoftaldehído
- 2-Mercaptoetanol
- Tetrahidrofurano
- Acetonitrilo
- Metanol grado HPLC
- Borato de sodio
- Fosfato ácido de potasio anhidro
- Ácido Clorhídrico
- Agua bidestilada
- Agua desionizada con sistema Mili-Q

## 2. Equipos:

Para llevar a cabo el presente trabajo se utilizaron los siguientes equipos:

- Potenciómetro
- Baño de ultrasonido
- Equipo para filtración de solventes Milipore
- Balanza analítica
- Centrífuga
- Purificador de agua
- Campana de extracción
- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución Hewlett Packard 1100, equipado con desgasificador de línea, bomba cuaternaria, inyector automático, controlador de temperatura de columna y detector de fluorescencia y UV-Vis de longitud de onda variable.
- Columna Atlantis T3, 150 mm x 2.1 mm, 3  $\mu\text{m}$  de t.p.

## 3. Materiales:

Para llevar a cabo el presente trabajo se utilizó el siguiente material:

- Pipeta automática de volumen variable de 10 a 100  $\mu\text{L}$  y de 100 a 1000  $\mu\text{L}$
- Viales ámbar de 2 mL de tapa de rosca
- Insertos de vidrio de 250  $\mu\text{L}$
- Filtros PVDF 13 mm de 0.45 y 0.20  $\mu\text{m}$ , Thermo Scientific.
- Tubos eppendorf de 2 mL

## 4. Metodología:

Para llevar a cabo el presente trabajo se siguió la siguiente metodología:

### 4.1 Obtención de muestras

Se trabajó con 37 muestras de miel multifloral de 8 estados de México, correspondientes a Jalisco, Nuevo León, Oaxaca, Sonora, Yucatán, Tamaulipas, Quintana Roo y Puebla. La mayoría de las muestras fue facilitada por apicultores quienes nos proporcionaron información de su procedencia. Las muestras fueron recolectadas durante agosto del 2020 a octubre del 2021, y fueron almacenadas a temperatura ambiente y protegidas de la luz hasta su análisis.

#### 4.2 Confirmación del método cromatográfico

Para la obtención de los perfiles de aminoácidos de las muestras de miel, se partió de métodos cromatográficos que previamente fueron validados por el grupo de trabajo, sin embargo, antes de realizar el estudio de los perfiles, se llevó a cabo una confirmación de este, con la finalidad de garantizar que el método se encuentra bajo control, de tal manera, que los cambios que se observen en los perfiles se deban únicamente a la naturaleza de la muestra. Para la confirmación se evaluaron los siguientes parámetros:

**Selectividad:** se evaluó por medio del análisis de blancos de derivatización de muestra, se obtuvo su cromatograma y se observó que no existiera presencia de señales que pudieran interferir con el análisis de los perfiles cromatográficos.

**Repetibilidad:** se eligió una muestra de miel aleatoriamente y se le realizó el tratamiento previo para el análisis de aminoácidos por la metodología establecida, por triplicado en un mismo día. Se realizó el análisis cromatográfico de los triplicados de la muestra bajo las condiciones del método, y se evaluó la desviación estándar relativa (DER) del tiempo de retención y del área de los analitos que componen el perfil, en donde se estableció un criterio  $\leq 6\%$  (AOAC International, 2012).

**Reproducibilidad:** se eligió una muestra de miel aleatoriamente y se le realizó el tratamiento previo para el análisis de aminoácidos por la metodología establecida, por triplicado en tres días diferentes no consecutivos. Se realizó el análisis cromatográfico de los triplicados de la muestra bajo las condiciones del método, y se evaluó la desviación estándar relativa (DER) del tiempo de retención y del área de los analitos que componen el perfil, en donde se estableció un criterio  $\leq 11\%$  (AOAC International, 2012).

#### 4.3 Análisis cromatográfico del perfil de aminoácidos

Una vez confirmado el método cromatográfico, se realizó el análisis del perfil de aminoácidos por CLAR de cada una de las muestras, realizando un tratamiento previo, el cual consistió en una extracción y derivatización para su posterior análisis.

##### 4.3.1 Tratamiento previo de las muestras

Todas las muestras fueron homogenizadas, posteriormente se pesaron 2 gramos de cada una y se añadieron 10 mL de agua/metanol en relación 1:1. La solución se llevó a baño de ultrasonido por 15 minutos y después se pasó a tubos eppendorf para centrifugarlos por 10 minutos a 8000 rpm., el sobrenadante obtenido se filtró con acrodiscos de 0.2  $\mu\text{m}$ , y se recuperó el filtrado para posteriormente realizar una reacción de derivatización. Se tomaron 10  $\mu\text{L}$  de la muestra filtrada, se añadieron 30  $\mu\text{L}$  de solución de Ortoftaldehído y 60  $\mu\text{L}$  de agua bidestilada, se agitó exactamente por un minuto y se recuperó la muestra en viales con insertos para ser inyectada en el cromatógrafo a los 3 minutos después de la reacción.

##### 4.3.2 Condiciones cromatográficas

Todas las muestras fueron analizadas en un cromatógrafo de líquidos HP-1100 con detección de fluorescencia bajo las condiciones mostradas en la Tabla 1:

<b>Tabla 1.</b> Condiciones cromatográficas del método para el análisis de aminoácidos.	
Fase móvil A	Metanol/Buffer fosfatos/THF (12:85:3)
Fase móvil B	Metanol/Buffer fosfatos/THF (55:42:3)

Columna	Atlantis T3 150 x 2.1 mm 3 $\mu$ m t.p.
Flujo	0.2 mL/min.
Vol. inyección	5 $\mu$ L
Temperatura	37°C
Detección	Fluorescencia $\lambda_{ex} = 356$ nm y $\lambda_{em} = 450$ nm

La identificación de cada uno de los aminoácidos presentes en las muestras se realizó por medio del orden de elución y el tiempo de retención como se muestra en la Tabla 2:

Aminoácido	Tiempo de retención (min.)
Ac. Aspártico (Asp)	4.17
Ac. Glutámico (Glu)	6.06
Asparagina (Asn)	12.48
Serina (Ser)	16.10
Histidina (His)	17.24
Glicina (Gly)	20.96
Arginina (Arg)	22.20
Treonina (Thr)	25.75
Alanina (Ala)	27.38
Tirosina (Tyr)	30.28
Metionina (Met)	39.31
Valina (Val)	39.74
Triptófano (Trp)	40.13
Fenilalanina (Phe)	41.66
Isoleucina (Ile)	45.54
Leucina (Leu)	47.48
Lisina (Lys)	51.00

#### 4.4 Análisis quimiométrico

A partir de cada uno de los 37 cromatogramas obtenidos del perfil de aminoácidos de las muestras, se obtuvo un vector de datos en formato csv., el cual se exportó a una hoja de Excel y después los datos se importaron al Software Matlab como herramienta de apoyo para el análisis quimiométrico. Una vez importados los datos, se realizaron pretratamientos de estos, enfocados en corrección de artefactos, y posteriormente se construyó un modelo de Análisis de Componentes Principales (PCA), para observar si existían tendencias o agrupaciones entre cada una de las muestras según su origen geográfico y el contenido de aminoácidos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

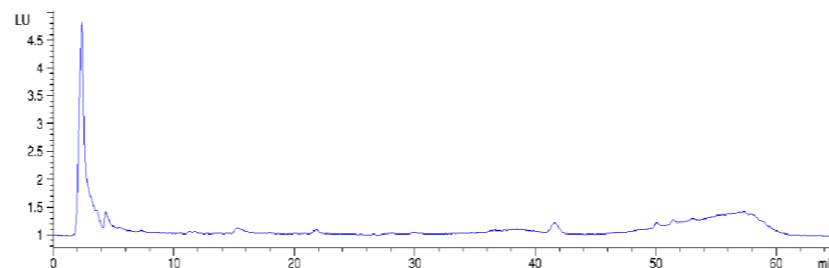
En este trabajo se trabajaron con 37 muestras de miel multifloral provenientes de diferentes estados del país, de las cuales se eligió una al azar para realizar la confirmación del método cromatográfico.

### 1. Confirmación del método cromatográfico

Para la evaluación de la selectividad, se descartó la presencia de señales que pudieran interferir con el análisis de los perfiles de las muestras de miel. A partir del cromatograma obtenido (Fig. 2) del blanco de derivatización (agua y solución derivatizante de ortoaldehído y 2 mercaptoetanol) se

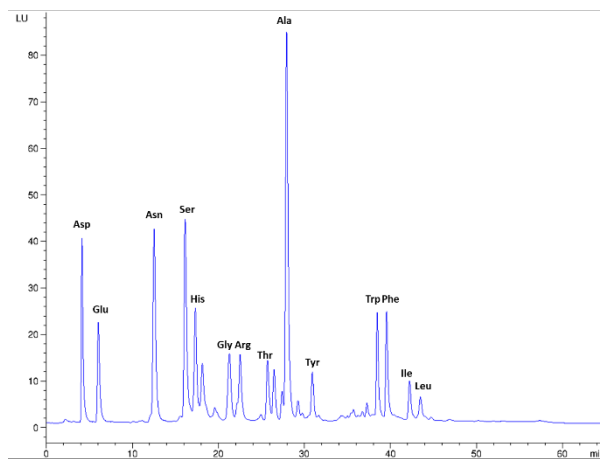


observó que no existían señales interferentes, por tanto se puede concluir que el método tiene la capacidad de determinar los aminoácidos sin interferencia de los reactivos utilizados para su tratamiento previo.



**Figura 2.** Cromatograma del blanco de derivatización

La precisión intradía e interdía, fueron evaluadas a través de la Desviación Estándar Relativa (DER) de los tiempos de retención (tR) y las áreas de los 14 aminoácidos presentes en la muestra elegida al azar, en la Fig. 3 se muestra un cromatograma del perfil de aminoácidos de la muestra elegida (miel de Jalisco). En el caso de la precisión intradía se obtuvieron rangos de DER del tR de 0.5% a 1.9%, mientras que para la DER de las áreas fue de 0.7 a 4.9%, quedando así dentro del criterio establecido por la AOAC del 6%. Para la precisión interdía, los rangos de DER de los tR para los 14 aminoácidos fueron de 0.7% a 2.2%, mientras que para el área fue de 3.7% a 10.9%, quedando por debajo del criterio establecido por la AOAC del 11%. Es así, que se demostró la precisión del método cromatográfico para la determinación del perfil de aminoácidos de muestras de miel, por tanto, al realizar el análisis de una misma muestra en diferentes días, se espera que los resultados sean repetitivos y reproducibles.



**Figura 3.** Cromatograma de muestra de miel de Jalisco

## 2. Análisis cromatográfico del perfil de aminoácidos

Una vez evaluado el método, se procedió al tratamiento previo de las 37 muestras por la metodología descrita para su posterior análisis cromatográfico. De cada una de las muestras se obtuvo el perfil cromatográfico y fue analizado detalladamente para evaluar el orden de elución y los tR de los aminoácidos presentes. En la Tabla 3 se muestran los aminoácidos presentes en las muestras evaluadas por estados del país, representando en color amarillo los aminoácidos presentes en mayor proporción. Se logró observar que en las muestras de miel de Sonora predominaban el ácido aspártico

y la asparagina, mientras que en muestras de miel de Yucatán era característica la presencia de la fenilalanina, esto también se observó con las muestras de Oaxaca y Quintana Roo.

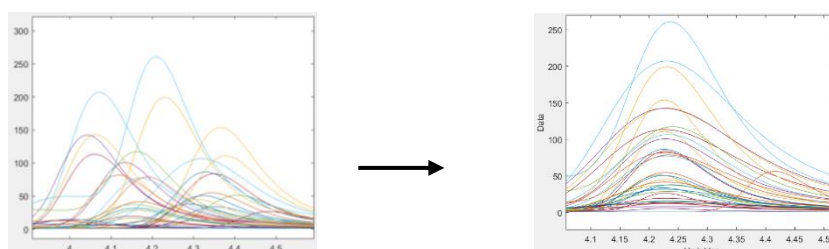
**Tabla 3.** Aminoácidos presentes en muestras de miel de diferentes estados de México.

tR	Aminoácido	Sonora	Nuevo León	Tamaulipas	Jalisco	Puebla	Oaxaca	Yucatán	Quintana Roo
4.17	Ac. Aspártico (Asp)	*	*	*	*	*	*	*	*
6.06	Ac. Glutámico (Glu)	*	*	*	*	*	*	*	*
12.48	Asparagina (Asn)	*	*	*	*	*	*	*	*
16.10	Serina (Ser)	*	*	*	*	*	*	*	*
17.24	Histidina (His)	*	*	*	*	*	*	*	*
20.96	Glicina (Gly)	*	*	*	*	*	*	*	*
22.20	Arginina (Arg)	*	*	*	*	*	*	*	*
25.75	Treonina (Thr)	*	*	*	*	*	*	*	*
27.38	Alanina (Ala)	*	*	*	*	*	*	*	*
30.28	Tirosina (Tyr)	*	*	*	*	*	*	*	*
39.31	Metionina (Met)	*	*	*	*	*	*	*	*
39.74	Valina (Val)								
40.13	Triptófano (Trp)				*	*			
41.66	Fenilalanina (Phe)	*	*	*	*		*	*	*
45.54	Isoleucina (Ile)	*	*	*	*		*	*	*
47.48	Leucina (Leu)	*	*	*	*	*	*	*	*
51	Lisina (Lys)								

Dentro de los resultados observados, en todas las muestras no hubo presencia de valina y de lisina, además que se observa en muy pocas muestras la presencia del triptófano. Por otro lado, cabe mencionar que si bien, la alanina estaba presente en todas las muestras, se observó que se encontraba en mayor proporción en la muestra de Jalisco, por tanto, podría sugerir alguna característica importante al momento de la clasificación de las muestras por origen geográfico.

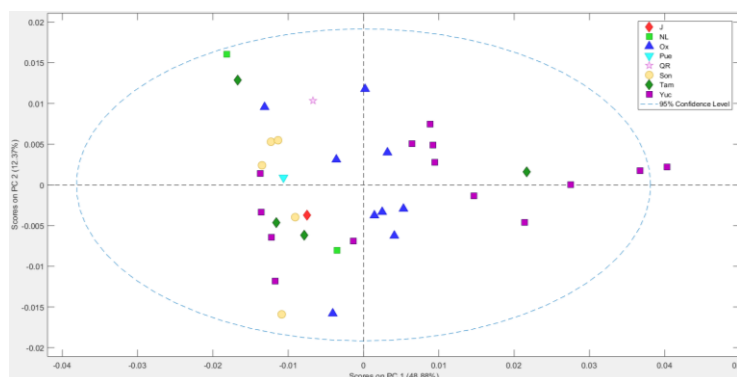
### 3. Análisis quimiométrico

Para el análisis quimiométrico, se exportó cada uno de los cromatogramas de las muestras en formato csv. a una hora de Excel, posteriormente los datos fueron importados al programa Matlab para su análisis quimiométrico. A partir de los datos importados se obtuvo una matriz de 37 muestras x 9028 variables, correspondientes a los tiempos de retención de los analitos, sin embargo, al analizar la matriz, se observó que había regiones que no aportaban información, por lo que se decidió eliminar las regiones del cromatograma, quedando una matriz de 37 x 5885 variables. A partir de esta matriz se realizó un alineamiento detallado de los perfiles utilizando el algoritmo de desplazamiento optimizado de correlación, en la Fig. 4 se muestra un ejemplo de la alineación para la señal del ácido aspártico.



**Figura 4.** Ejemplo de alineamiento del tR de la señal del ácido aspártico usando el algoritmo de desplazamiento optimizado de correlación.

Una vez corregidos los artefactos de los perfiles se construyó un modelo de Análisis de Componentes Principales (PCA) para lo cual se realizó una normalización de área unidad, seguido de un centrado a la media, lo cual nos mostró los mejores gráficos de scores (Fig. 5), donde se observó que ciertas muestras como las de Yucatán tendían en su mayoría a agruparse a valores positivos de la componente uno, así mismo, las de Oaxaca también quedaban en valores positivos, pero estas alineadas al centro, mientras que las del resto de los estados predominaban a valores negativos de la primera componente.



**Figura 5.** Gráfico de scores de las muestras de miel evaluadas por el Software Matlab.

Analizando el gráfico de loadings, se observó que las sustancias responsables para el comportamiento observado fueron la fenilalanina para los resultados que estaban en valores positivos de la componente uno, correspondientes a las muestras del sur del país, y para los valores negativos de la componente uno la señal responsable era el ácido aspártico como fue el caso de las muestras de Sonora. Por tanto, se pudiera mencionar que estas señales podrían representar una diferenciación entre el perfil de aminoácidos de muestras de miel del norte y sur de México, que nos ayude a identificar su origen geográfico al momento de querer saber su autenticidad.

## CONCLUSIÓN

En el análisis de aminoácidos de 37 muestras de miel multifloral de diferentes estados de México se observó que hay señales que pudieran ser características de algunas regiones y que pudieran orientarnos al origen geográfico de las mismas, entre ellas el ácido aspártico para muestras de miel del norte del país, y la fenilalanina para muestras de miel del sur, sin embargo, es necesario abarcar más estudios para cubrir regiones que no se incluyeron en el trabajo.

## BIBLIOGRAFÍA

- (FAO). (2009). Bees and their role in forest livelihoods. A guide to the services provided by bees and the sustainable harvesting, processing and marketing of their products. *Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome*. 51–53.
- Akbari, E., Baigbabaie, A., & Shahidi, M. (2020). Determination of the floral origin of honey based on its phenolic profile and physicochemical properties coupled with chemometrics. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 506–519.
- AOAC International. (2012). Guideline for Dietary Supplements and Botanical (Appendix K). *AOAC Official Method Analysis*, 8,9,11.
- Dergal, S. B. (1999). Química de los alimentos. *Editorial Alhambra Mexicana*, 1, 453–502.
- Iglesias, M. T. et al. (2004). *Usefulness of Amino Acid Composition To Discriminate between*

*Honeydew and Floral Honeys. Application to Honeys from a Small Geographic Area.* 84–89.

Luchese, R. (2017). *Honey as a Functional Food World ' s largest Science , Technology & Medicine Open Access book publisher. February 2018.*

Miguel, J., Tulipani, A. S., Romandini, S., Bertoli, E., & Battino, M. (2010). *Contribution of honey in nutrition and human health : A review Contribution of honey in nutrition and human health : a review. June 2014.*

SADER. (2010). Situación Actual y Perspectiva de la Apicultura en México. *Claridades Agropecuarias, 199*, 3–34.

Se, K. W., Wahab, R. A., Syed Yaacob, S. N., & Ghoshal, S. K. (2019). Detection techniques for adulterants in honey: Challenges and recent trends. *Journal of Food Composition and Analysis, 80*(April), 16–32.

Sun, Z., Zhao, L., Cheng, N., Xue, X., Wu, L., Zheng, J., & Cao, W. (2017). Identification of botanical origin of Chinese unifloral honeys by free amino acid profiles and chemometric methods. *Journal of Pharmaceutical Analysis, 7*(5), 317–323.

Trifković, J., Andrić, F., Ristivojević, P., Guzelmeric, E., & Yesilada, E. (2017). Analytical methods in tracing honey authenticity. *Journal of AOAC International, 100*(4), 827–839.

## Revisión sobre el orégano mexicano *Lippia graveolens* HBK. (Sinonimia *Lippia berlandieri* Schauer) y su aceite esencial

Zuleyma Galván Calamaco<sup>1</sup>, Gabriela Ramos Clamont Montfort<sup>2</sup>, Jolanta E. Marszalek<sup>1</sup>, Gabriela Vargas González<sup>1</sup>

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

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

[gvargasgonzalez@uadec.edu.mx](mailto:gvargasgonzalez@uadec.edu.mx)

### RESUMEN

En México existen 40 especies clasificadas como orégano, distribuidas en cuatro familias: Verbenaceae, Lamiaceae, Fabiaceae y Asteraceae. Las especies más comercializadas pertenecen a dos familias; de la familia Lamiaceae; *Poliomintha longiflora* (Gray) y *Monarda fistulosa* var. *Minutifolia* (Graham), y de la familia Verbenaceae; *Lippia palmeri* Watson y *Lippia graveolens* HBK (sinonimia *Lippia berlandieri* Schauer). Esta última especie, es la de mayor distribución geográfica e importancia económica en nuestro país. En este trabajo se revisaron sus características botánicas y distribución en el país, resaltando la bioactividad de su aceite esencial, concluyendo que tiene un amplio potencial como antimicrobiano.

**Palabras clave:** Orégano mexicano, timol, carvacrol, antimicrobiano

### ABSTRACT

There are 40 species classified as oregano in Mexico, distributed in four families: Verbenaceae, Lamiaceae, Fabiaceae and Asteraceae. The most commercialized species are from the Lamiaceae and Verbenaceae families. *Poliomintha longiflora* (Gray) and *Monarda fistulosa* var. *Minutifolia* (Graham) are the important species from Lamiaceae, and from the Verbenaceae family; *Lippia palmeri* Watson and *Lippia graveolens* HBK (synonym *Lippia berlandieri* Schauer). *Lippia graveolens* HBK is the one with the greatest geographical distribution and economic importance in Mexico. In this work, *Lippia graveolens* HBK botanical characteristics, distribution in the country and bioactivity of its essential oil were reviewed, concluding that it has a wide potential as an antimicrobial.

**Keywords:** Mexican oregano, thymol, carvacrol, antimicrobial

**Orégano, definición y especies de importancia comercial**

Se conoce con el nombre de orégano a más de 60 especies de plantas aromáticas que se utilizan como especia o condimento generalmente reconocido como seguro (GRAS, por sus siglas en inglés). De acuerdo con Franz & Novak (2015), estas especies se agrupan en las seis familias y 18 géneros presentados en la Tabla I. Las especies de mayor importancia comercial en el mundo son el orégano ibérico *Origanum vulgare*, de la familia Lamiaceae (Baser & Arslan, 2016; Jan *et al.*, 2020) y el orégano mexicano *Lippia graveolens* HBK. (Sinonimia *Lippia berlandieri* Schauer), de la familia Verbenaceae (León *et al.*, 2020). Las plantas de las especies mexicanas se caracterizan por producir un aceite esencial de aroma penetrante y sabor picante que desde épocas prehispánicas se ha utilizado como condimento en la preparación de alimentos debido al excelente sabor que confiere a las comidas y como planta medicinal por sus múltiples propiedades curativas (Gutiérrez-Grijalva *et al.*, 2018; Cortés-Chitala *et al.*, 2021).

**Tabla I.** Clasificación taxonómica de las plantas de orégano.

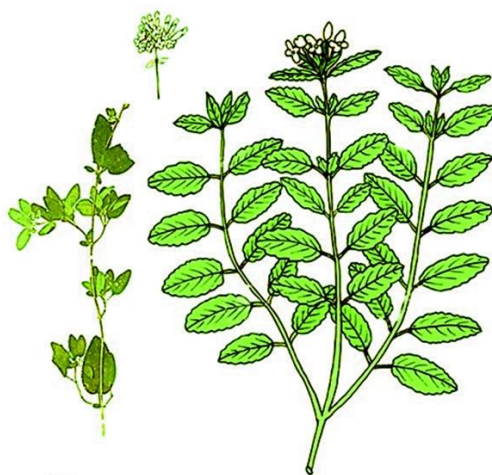
Familia	Genero	Especies
Lamiaceae	<i>Calamintha</i>	<i>Calamintha potosina</i> Schaf.
	<i>Coleus</i>	<i>Coleus amboinicus</i> Lour. (sinonimia <i>C. aromaticus</i> Benth); <i>C. aromaticus</i> Benth
	<i>Hedeoma</i>	<i>Hedeoma floribunda</i> Standl; <i>H. incona</i> Torr; <i>H. patens</i> Jones;
	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis albida</i> HBK; <i>Hyptis americana</i> (Aubl.) Urb. ( <i>H. gonocephala</i> Gris.); <i>Hyptis capitata</i> Jacq.; <i>Hyptis pectinata</i> Poit.; <i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poit.
	<i>Monarda</i>	<i>Monarda austromontana</i> Epling
	<i>Ocimum</i>	<i>Ocimum basilicum</i>
	<i>Origanum</i>	<i>Origanum compactum</i> Benth. (sinonimia <i>O. glandulosum</i> Salzm, ex Benth.); <i>O. dictamnus</i> L. ( <i>Majorana dictamis</i> L.); <i>O. elongatum</i> (Bonet) Emberger et Maire; <i>O. floribundum</i> Munby ( <i>O. cinereum</i> Noe). ; <i>O. grosii</i> Pau et Font Quer ex letswaart; <i>O. mejorana</i> L.; <i>O. microphyllum</i> (Benth) Vogel ; <i>O. onites</i> L. (sinonimia <i>O. smyrneum</i> L.); <i>O. scabrum</i> Boiss et Heldr. (sinonimia <i>O. pulchrum</i> Boiss et Heldr.); <i>O. syriacum</i> L. var. <i>syriacum</i> (sinonimia <i>O. maru</i> L.); <i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>gracile</i> (Koch) letswaart (sinonimia <i>O. gracile</i> Koch, <i>O. tyttanthum</i> Gontscharov); <i>O. vulgare</i> ssp. <i>Hirtum</i> (Link) letswart (sinonimia <i>O. hirtum</i> Link); <i>O. vulgare</i> ssp. <i>virens</i> (Hoffmanns et Link) letswaart (sinonimia <i>O. virens</i> Hoffmanns et Link); <i>O. vulgare</i> ssp. <i>viride</i> (Boiss.) Hayek (sinonimia <i>O. viride</i> ) Halacsy (sinonimia <i>O. heracleoticum</i> L.) <i>O. vulgare</i> L. ssp. <i>vulgare</i> (sinonimia <i>Thymus origanum</i> (L.) Kuntze); <i>O. vulgare</i> L.
	<i>Poliomintha</i>	<i>Poliomintha longiflora</i> Gray
	<i>Salvia</i>	<i>Salvia</i> sp.
	<i>Satureja</i>	<i>Satureja thymbra</i> L.
<i>Thymus</i>	<i>Thymus capitatus</i> (L.) (Sinonimia <i>Coridothymus capitatus</i> (L.)	
Verbenaceae	<i>Lantana</i>	<i>Lantana citrosa</i> (Small) Modenke; <i>L. citrosa</i> (Small) Modenke; <i>L. glandulosissima</i> Hayek; <i>L. hirsuta</i> Mart et Gall.; <i>L. involucrata</i> L.; <i>L. purpurea</i> (Jacq.) Benth. & Hook.

		(Sinonimia <i>Lippia purpurea</i> Jacq.); <i>L. trifolia</i> L.; <i>L. velutina</i> Mart. & Gal.
	<i>Lippia</i>	<i>Lippia myriocephala</i> Schlecht, & Cham.; <i>L. affinis</i> Schau.; <i>L. alba</i> (Mill) N. E. Br. (Sinonimia <i>L. involucrata</i> L.); <i>L. berlandieri</i> Schau; <i>L. cordiostegia</i> Benth.; <i>L. formosa</i> T.S. Brandeg.; <i>L. geisseana</i> (R.A. PHIL.) Soler.; <i>L. graveolens</i> HBK; <i>Lippia helleri</i> Britton; <i>L. micromera</i> Schau; <i>L. micromera</i> var. <i>helleri</i> (Britton) Moldenke; <i>L. organoides</i> HBK; <i>L. palmeri</i> var. <i>spicata</i> Rose; <i>L. palmeri</i> Wats; <i>L. umbellata</i> Cav.; <i>L. velutina</i> Mart. Et Galcotti.
Rubiaceae	<i>Borreria</i>	<i>Borreria</i> sp.
Scrophulariaceae	<i>Limnophila</i>	<i>Limnophila stolonifera</i> (Blanco) Merr.
Apiaceae	<i>Eryngium</i>	<i>Eryngium foetidum</i> L.
Asteraceae	<i>Coleosanthus</i>	<i>Coleosanthus veronicaefolius</i> HBK
	<i>Eupatorium</i>	<i>Eupatorium macrophyllum</i> L. (sinonimia <i>Hebeclinium macrophyllum</i> DC.)

Fuente: Franz & Novak (2015).

### ***Lippia graveolens* HBK**

*Lippia graveolens* HBK es la planta de orégano mexicano de mayor distribución geográfica e importancia económica en México. Sus plantas son arbustos caducifolios perennes, de 2.5 m de alto con un diámetro foliar de 1.2 m. Tiene tallos ramificados (a menudo de color rojizo) y ramas cortamente pilosas. Producen una gran cantidad de hojas de 1 a 3 cm de largo y 0.5 a 1.5 cm de ancho, son opuestas, alternas y de forma ovalada, con bordes enteros o ligeramente dentados con el haz denso y suavemente piloso, margen finamente crenado, ápice generalmente obtuso o redondeado, base redondeada a subcordada de textura rugosa y con pequeñas vellosidades (Figura 1). Peciolos de 0.2 a 1.3 cm de largo. Flores pequeñas de color blanco en inflorescencias terminales muy ramificadas. Inflorescencias axilares, corto espigadas, espigas de 0.4 cm de largo y 0.7 cm de ancho, con dos a seis pedúnculos de 0.5 a 1.5 cm de largo, cortos, erectos, ascendentes, divergentes. Brácteas regularmente en 4 hileras, ovaladas, glandulares y densamente pilosas. Cáliz de 1 a 2 mm de largo, glandular y veloso. Los frutos son cápsulas en donde se encuentran las semillas. Las semillas son de color café, ovoides y con un tamaño menor de 0.5 mm (León *et al.*, 2020).



**Figura 1.** Orégano mexicano *Lippia graveolens* HBK. Fuente: Calpouzos. (1954)

### Distribución en México y en el Desierto Chihuahuense

El orégano, *L. graveolens* HBK es originario del continente americano; habita desde el sur de Estados Unidos de América hasta Centroamérica. En México, crece de forma silvestre y abundante en las regiones cálidas, secas y templadas de 24 estados del país. El orégano se ha explotado mayormente en los estados que se encuentran en el Desierto Chihuahuense cuya extensión territorial es de 630 000 km<sup>2</sup>, abarcando los estados de Texas y Nuevo México en Estados Unidos de América y los estados de Chihuahua, Coahuila, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas en México (Granados-Sánchez *et al.*, 2011). Sus ecosistemas son áridos, semiáridos, pastizales y dunas, por lo que la principal característica de su vegetación es la resistencia a la poca disposición del agua. Las plantas más abundantes son las arbustivas y sub-arbustivas entre las que se encuentra *L. graveolens* HBK.

En los estados de Coahuila, Durango y Chihuahua, el orégano representa una alternativa de subsistencia para los habitantes de las zonas marginadas. Por ejemplo, en la comunidad de Saucillo, Chihuahua se estableció una cooperativa conformada por cinco ejidos para cosechar a la especie *L. graveolens* HBK (sinonimia *Lippia berlandieri* Schauer), comercializándola en algunas regiones de los tres estados (Bojorquez-Chavez, 2017). En la figura 2 representa la distribución de esta planta. Otros estados que también comercializan el orégano en greña son, Jalisco, Zacatecas, Querétaro, Sinaloa, San Luis Potosí, Hidalgo y Baja California. La producción anual es de aproximadamente 6 500 toneladas (Castillo *et al.*, 2017; León *et al.*, 2020).



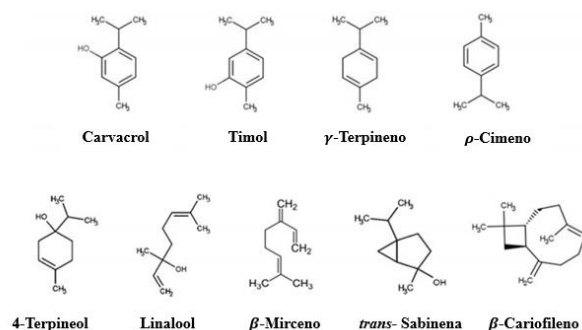
**Figura 2.** Distribución del orégano en los estados de Coahuila, Durango y Chihuahua. Fuente: Bojorquez-Chavez (2017).

### Composición química de los aceites del orégano mexicano

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos volátiles que se almacenan en células epidérmicas, células secretoras, conductos de resina, o tricomas glandulares de las plantas aromáticas (Franz & Novak, 2015). Los compuestos volátiles que componen a los aceites esenciales son metabolitos secundarios o fitoquímicos que se sintetizan a partir de tres rutas biosintéticas; la ruta del malonato para los sesquiterpenos, la ruta del metil-eritritol para los mono- y diterpenos, y la ruta del ácido chiquímico para los fenilpropanos. Se producen en las plantas como protección frente a la radiación solar y adaptación al estrés hídrico, mecanismo de defensa contra insectos invasores y animales herbívoros, y mensajeros químicos para atraer a insectos polinizadores. (Silva *et al.*, 2021). Un aceite esencial puede contener de 20 a 80 fitoquímicos en diferentes concentraciones. Los principales constituyentes son monoterpenos y sesquiterpenos, mientras que, en menor cantidad, se encuentran hidrocarburos alifáticos, ácidos, alcoholes, aldehídos y ésteres (dos Santos *et al.*, 2019). Los monoterpenos timol (10.4 %) y carvacrol (43.7 %) son los componentes mayoritarios y los



indicadores de la calidad comercial de los aceites esenciales de las especies de orégano. Su estructura y la de otros componentes del aceite esencial que se extrae del orégano mexicano, se esquematizan en la Figura 3.



**Figura 4.** Estructura química de los componentes mayoritarios del aceite esencial del orégano. Fuente: Leyva-López *et al.* (2017).

Desde el punto de vista comercial, la calidad de las especies de orégano está relacionada con la composición química de su aceite esencial. El tipo y la cantidad de los metabolitos secundarios presentes en los aceites esenciales dependen de la variabilidad genética dentro y entre plantas, así como por distintos factores como la especie, tiempo de cosecha, año, acidez del suelo y clima (humedad, calor, frío) (León *et al.*, 2020; Cortés-Chitala *et al.*, 2021), por lo cual, los quimiotipos son muy comunes y se nombran de acuerdo con el componente que se encuentra en mayor cantidad. En el orégano *L. graveolens* HBK, se han identificado tres quimiotipos; carvacrol (C), timol (T) y sesquiterpenos (S). En los climas cálidos y semi áridos es más abundante el quimiotipo C, en climas más fríos y menos áridos predomina el quimiotipo T, mientras que en climas húmedos y fríos es más abundante el quimiotipo S (Calvo-Irabién *et al.*, 2014). En la tabla II se muestran los compuestos químicos más abundantes en los quimiotipos del aceite esencial del orégano *L. graveolens* H.B.K.

**Tabla II.** Compuestos químicos más abundantes en los quimiotipos del aceite esencial del orégano mexicano *Lippia graveolens* HBK.

Compuesto químico	Quimiotipos		
	C (%)	S (%)	T (%)
Carvacrol	66	1.24	0.44
$\rho$ -Cimeno	11.8	9.57	4.94
Oxido de cariofileno	2.29	7.37	0.91
$\beta$ -Cariofileno	1.45	15.02	1.21
$\alpha$ -Humuleno	0.75	7	0.83
Eucaliptol	0.59	1.83	0.43
$\gamma$ -Terpineno	0.04	0.11	0.19
Timol	6.18	4.16	79.53
Borneol	0.13	1.30	0.07
$\alpha$ -Terpineol	0.13	2.91	0.014
Timol metil éter	0.83	0.52	2.07
3-tert-butil-4-hidroxianisol	3.32	ND*	0.76
Epóxido de humuleno II	1.20	4.34	0.51

$\gamma$ -Eudesmol	0.22	11.68	0.08
Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5 $\alpha$ -ol	0.15	19.89	0.08
$\beta$ -Eudesmol	0.09	9.56	ND
$\alpha$ -Eudesmol + $\alpha$ -Cadinol	0.15	12.84	0.16

\*No Detectado (ND). Fuente: Modificado de Calvo-Irabién *et al.* (2014) y Barbieri *et al.* (2018).

### Métodos de obtención de aceites esenciales

Tradicionalmente los aceites esenciales de las plantas aromáticas se extraen mediante hidrodestilación, destilación por arrastre de vapor y prensado mecánico en frío. La hidrodestilación es el método más utilizado, pero consume mucho tiempo, energía y puede causar la degradación de algunos compuestos volátiles. Para evitar lo anterior, se han implementado métodos modernos como la extracción con fluidos supercríticos, extracción asistida por microondas y calentamiento óhmico. Estos métodos reducen el tiempo de extracción, consumo de energía y preservan los compuestos volátiles, por lo que se obtienen aceites de mayor calidad, pero son más costosos (Silva *et al.*, 2021). En la Tabla III se muestran los métodos convencionales y modernos para la extracción de aceites esenciales.

**Tabla III.** Métodos tradicionales y modernos empleados para la extracción de aceites esenciales.

Métodos	Fundamento	Ventajas	Desventajas	Referencias
Hidrodestilación	Material y agua se calientan a ebullición. La mezcla de vapores se condensada y separa.	Buen rendimiento. Fácil manejo.	Aumento en el consumo de energía y tiempo de extracción. Uso de grandes cantidades de agua.	(Lucchesi <i>et al.</i> , 2004) (Hashemi <i>et al.</i> , 2017)
Prensado mecánico	El aceite esencial se libera por presión mecánica.	No utiliza disolventes o calor para la extracción	Necesita filtración o centrifugación después de la extracción	(Zhang <i>et al.</i> , 2018) (Mitjans <i>et al.</i> , 2016)
Destilación con Arrastre de vapor	El material se pone en contacto con el vapor generado por el agua, la mezcla posteriormente se condensa y se recolecta.	Fácil operación. Bajo costo. Se obtiene aceite esencial e hidrosol (agua con gotas de aceite).	No es específica, se pueden extraer componentes no deseados.	(Albado-Plaus <i>et al.</i> , 2001)
Extracción con fluidos supercríticos	Utiliza solventes en su estado supercrítico que actúan como disolventes.	Conserva los compuestos termolábiles. Se obtienen aceites esenciales más puros.	Costos de operación elevados. Baja disponibilidad de equipos.	(Silva <i>et al.</i> , 2021)

Extracción asistida por microondas libre de disolventes	La vibración de microondas produce el estallamiento de las glándulas oleíferas liberando el aceite esencial.	Menor tiempo de extracción; menor gasto de energía. Mayor calidad de aceite	Precios elevados del equipo. Se necesita filtrar los extractos.	(Lucchesi <i>et al.</i> , 2004) (Sik <i>et al.</i> , 2020)
Calentamiento Óhmico	Se aplica una corriente alterna al material en presencia de cloruro de sodio para calentarlo y liberar el aceite.	Tiempos de extracción cortos. Bajo Reduce consumo de energía. Alto rendimiento de extracción. Preserva las moléculas termolábiles.	Su efectividad depende de la conductividad del material	(Hashemi <i>et al.</i> , 2017)

Elaboración propia

### Bioactividad del aceite esencial del orégano

La bioactividad se refiere a la capacidad que tienen algunos compuestos de las plantas para interactuar con los tejidos del organismo y promover la buena salud. En este sentido, el aceite esencial del orégano (AEO) ha mostrado una excelente actividad antioxidante, ya que es capaz de neutralizar y prevenir la formación de radicales libres, reduciendo el riesgo de desarrollar enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo como cáncer, diabetes, desordenes neurodegenerativos y el envejecimiento (Buchbauer & Erkić. 2015).

El AEO también presenta actividad anti-hiperglucémica. Radünz *et al.* (2021) usaron ratas para evaluar la capacidad inhibitoria del AEO sobre la  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa, las cuales son enzimas necesarias para que la glucosa entre al flujo sanguíneo. Reportaron porcentajes de inhibición del 81.4% para  $\alpha$ -amilasa y 50.5% para  $\alpha$ -glucosidasa, lo que representa un potencial de inhibición mayor comparado con el de la acarbosa (73.4% para  $\alpha$ -amilasa y 34.5% para  $\alpha$ -glucosidasa), un medicamento utilizado para controlar la diabetes mellitus tipo II. Asimismo, se ha observado la actividad antiinflamatoria del AEO en distintos modelos celulares, en los cuales inhibió la acción del interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) e Histamina, que son algunos agentes causantes de inflamación celular (Avola *et al.*, 2020; Han & Parker 2017).

Adicionalmente el AEO es tóxico contra células cancerígenas en las cuales induce la apoptosis, por lo que también presenta actividad anticancerígena (Bostancıoğlu *et al.*, 2012).

Una de las actividades más destacables del AEO es la antimicrobiana, ya que permite la posibilidad de sustituir algunos aditivos que se incorporan a los alimentos con el fin de conservarlos, pero que, si se usan inadecuadamente, pueden provocar efectos adversos a la salud.

### Actividad antimicrobiana del aceite esencial del orégano

La actividad antimicrobiana es la capacidad que tiene algunas sustancias para matar un microorganismo o inhibir su crecimiento. En el AEO esta actividad está principalmente asociada a

sus componentes mayoritarios carvacrol y timol. En la Tabla IV se muestra los resultados obtenidos de distintos estudios sobre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *L. graveolens*. Destacan los estudios contra enterobacterias indicando su potencial para biocontrolar a diferentes patógenos, aunque también resulta efectivo contra hongos. Las aplicaciones potenciales en la industria alimentaria van desde el control de bacterias y hongos en superficies hasta su incorporación en alimentos, principalmente como compuestos con efecto sinergista en presencia de otros antibacterianos (López, 2004).

**Tabla IV.** Actividad antimicrobiana del orégano mexicano *Lippia graveolens*.

Microorganismo	Método	Concentración	Referencias
Actividad antibacteriana			
<i>Vibrio mimicus</i> 602	Turbidez y siembra en placa.	CMI <sup>a</sup> 100-200 mg L <sup>-1</sup>	(Aguilar <i>et al.</i> , 2007)
<i>V. alginolyticus</i> 516		<sup>1</sup> .	
<i>V. cholerae</i> no-01.		CMB <sup>b</sup> 100-200 mg L <sup>-1</sup>	
<i>V. parahaemolyticus</i> 320.		<sup>1</sup> .	
<i>V. vulnificus</i> 610	Dilución en agar	CMI 1.5 mg mL <sup>-1</sup>	(Esteban-Méndez <i>et al.</i> , 2011)
<i>Escherichia coli</i>		CMI 1.0 mg mL <sup>-1</sup>	
<i>Staphylococcus aureus</i>		CMI 0.5 mg mL <sup>-1</sup>	
<i>Salmonella typhimurium</i>			
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp	Difusión en disco	Halo de inhibición de 10 mm.	(Gonzales-Espíndola <i>et al.</i> , 2011)
<i>michiganensis</i>			
<i>Enterococcus E. Coli</i>	Sensidiscos	Halos de inhibición de 5, 6 y 9 mm para cada bacteria.	(Castellanos-Hernández <i>et al.</i> , 2020)
<i>Salmonella</i>			
<i>Aspergillus Rhizopus</i>	Siembra en placa.	CMI 150 mg/kg	(Portillo-Ruiz <i>et al.</i> , 2012)
<i>Penicillium</i>		CMI 150 mg/kg	
<i>Aspergillus flavus</i>	Siembra en placa	CMI 200 mg/kg	(Gómez-Sánchez <i>et al.</i> , 2011)
		Fungicida 1.47 mL/L	
		Fungistático 0.294 mL/L > 0.882 mL/L	

<sup>a</sup>CMI: Concentración mínima inhibitoria. <sup>b</sup>CMB: Concentración mínima bactericida. Elaboración propia

## CONCLUSIÓN

El orégano mexicano *Lippia graveolens* HBK es una planta ampliamente distribuida en el país cuya explotación sirve como sustento para algunos habitantes del desierto Chihuahuense. Su aceite esencial está compuesto principalmente de timol y carvacrol, componentes bioactivos responsables de su actividad antimicrobiana, la cual tiene un amplio espectro contra Gram negativas enterobacterianas, además de efecto fungistático. Estas características lo hacen candidato para su uso en superficies de las fábricas de alimentos, o como ingrediente antimicrobiano en mezclas con efecto sinérgico.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, M. D. L. C. P., Franco, M. G. G., Vázquez, R. S., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2007). Efecto antimicrobiano del orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer) y de su aceite esencial sobre cinco especies del género *Vibrio*. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(3), 261-267.
- Albado-Plaus, E., Saez-Flores, G., & Grabiell-Ataucusi, S. (2001). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Revista Médica Herediana*, 12(1), 16-19.
- Avola, R., Granata, G., Geraci, C., Napoli, E., Graziano, A. C. E., & Cardile, V. (2020). Oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil provides anti-inflammatory activity and facilitates wound healing in a human keratinocytes cell model. *Food and Chemical Toxicology*, 144, 111586.
- Barbieri, N., Sanchez-Contreras, A., Canto, A., Cauch-Rodriguez, J. V., Vargas-Coronado, R., & Calvo-Irabién, L. M. (2018). Effect of cyclodextrins and Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth) chemotypes on the microencapsulation of essential oil. *Industrial crops and products*, 121, 114-123.
- Baser, K. H. C., & Arslan, N. (2016). Orégano. En Ambrose, D. C. P., Manickavasagan A. & Naik, R. (Ed.). *Leafy Medicinal Herbs. Botany, Chemistry, Postharvest Technology and Uses*. (pp. 170-188). Boston: CABI.
- Bojorquez-Chavez, A. (2017). Aprovechamiento, industrialización y comercialización de orégano: una alternativa de desarrollo para las comunidades del desierto. <http://www.monitoreoforestal.gob.mx> ›
- Bostancıoğlu, R. B., Kürkçüoğlu, M., Başer, K. H. C., & Kopal, A. T. (2012). Assessment of anti-angiogenic and anti-tumoral potentials of *Origanum onites* L. essential oil. *Food and Chemical Toxicology*, 50(6), 2002-2008.
- Buchbauer, G., & Erkić, M. (2015). Antioxidative properties of essential oils and single fragrance compounds. En Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (Ed.). *Handbook of essential oils science, technology, and applications*, (pp. 323-340). United States of America: CRC press.
- Calvo-Irabién, L. M., Parra-Tabla, V., Acosta-Arriola, V., Escalante-Erosa, F., Díaz-Vera, L., Dzib, G. R., & Peña-Rodríguez, L. M. (2014). Phytochemical Diversity of the Essential Oils of Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth) Populations along an Edapho-Climatic Gradient. *Chemistry & biodiversity*, 11(7), 1010-1021.
- Calpouz, L. (1954). Botanical aspects of oregano. *Economic Botany*, 8(3), 222-233.
- Castillo, I. O., Almazán, A. J. S., Arellano, J. D. J. E., & Vázquez, C. V. (2017). Recolección y comercialización del orégano (*Lippia* spp) en el semi-desierto mexicano, un caso de estudio: Reserva Ecológica Municipal Sierra Y Cañón de Jimulco, México. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 41(1345-2018-028), 684-695.
- Castellanos-Hernández, O. A., Rodríguez-Sahagún, M. D., Acevedo-Hernández, G. J., Rayn, C. A., & Rodríguez-Sahagún, A. (2020). Evaluación antimicrobiana del aceite esencial de *Lippia graveolens* como inhibidor de crecimiento de *Salmonella* sp, *E. coli* Y *Enterococcus* sp. *e-CUCBA*, (14), 1-6.
- Cortés-Chitala, M. D. C., Flores-Martínez, H., Orozco-Ávila, I., León-Campos, C., Suárez-Jacobo, Á., Estarrón-Espinosa, M., & López-Muraira, I. (2021). Identification and quantification of phenolic compounds from mexican oregano (*Lippia graveolens* HBK) hydroethanolic extracts and evaluation of its antioxidant capacity. *Molecules*, 26(3), 702.
- dos Santos, M.C., Teodoro, A.V., Menezes, M.S., Pinto-Zevallos, D.M., Arrigoni-Blank, M.F., Oliveira, E.M., Sampaio, T.S., Farias, A. P., Coelho, C.R., Blank, A. F. (2019). Bioactivity of essential oil from *Lippia gracilis* Schauer against two major coconut pest mites and toxicity to a non-target predator. *Crop Protection*. 125. 104913.
- Esteban-Méndez, M., Quintos-Escalante, M., Camacho-Luis, A., Avitia-Domínguez, C. I. (2011). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de orégano y wareke. En Pérez-

- Santiago, G., González-Castillo, M. P., Alexandre-Iturbide, G., González –Güereca, M. C. (Comp.). El orégano mexicano: estado actual del conocimiento. (pp. 103-107). Durango, Dgo., México: Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Durango.
- Franz, C., & Novak, J. (2015). Sources of essential oils. En Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (Ed.). *Handbook of essential oils science, technology, and applications*, (pp. 46-51). United States of America: CRC press.
- Gómez-Sánchez, A., Palou, E., & López-Malo, A. (2011). Antifungal activity evaluation of Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) essential oil on the growth of *Aspergillus flavus* by gaseous contact. *Journal of food protection*, 74(12), 2192-2198.
- Granados-Sánchez, D., Sánchez-González, A., Granados Victorino, R. L., & Borja de la Rosa, A. (2011). Ecología de la vegetación del Desierto Chihuahuense. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 17(SPE), 111-130.
- Gutiérrez-Grijalva, E. P., Picos-Salas, M. A., Leyva-López, N., Criollo-Mendoza, M. S., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J. B. (2018). Flavonoids and phenolic acids from oregano: Occurrence, biological activity, and health benefits. *Plants*, 7(1), 2.
- Han, X., & Parker, T. L. (2017). Anti-inflammatory, tissue remodeling, immunomodulatory, and anticancer activities of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil in a human skin disease model. *Biochimie Open*, 4, 73-77.
- Hashemi, S. M. B., Nikmaram, N., Esteghlal, S., Khaneghah, A. M., Niakousari, M., Barba, F. J., ... & Koubaa, M. (2017). Efficiency of Ohmic assisted hydro distillation for the extraction of essential oil from oregano (*Origanum vulgare* subsp. *viride*) spices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 41, 172-178.
- Jan, S., Rashid, M., Abdallah, E. F., & Ahmad, P. (2020). Biological efficacy of essential oils and plant extracts of cultivated and wild ecotypes of *Origanum vulgare* L. *BioMed research international*. 1-16.
- León, D. D., González-Álvarez, M., Guzmán-Lucio, M. A., Núñez-Guzmán, G. R., & Moreno-Limón, S. (2020). The oregano of the genus *Lippia* (Verbenaceae) and *Poliomintha* (Lamiaceae) in the State of Nuevo León, Mexico. *Polibotánica*, (50), 1-18.
- Leyva-López, N., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J. B. (2017). Essential oils of oregano: Biological activity beyond their antimicrobial properties. *Molecules*, 22(6), 989.
- López, M. (2004). Los aceites esenciales. Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. *Ámbito Farmacéutico*, 23(7), 88-91.
- Lucchesi, M. E., Chemat, F., & Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography*, 1043(2), 323-327.
- Portillo-Ruiz, M. C., Sánchez, R. A. S., Ramos, S. V., Muñoz, J. V. T., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2012). Antifungal effect of Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) essential oil on a wheat flour-based Medium. *Journal of food science*, 77(8), M441-M445.
- Radünz, M., Camargo, T. M., dos Santos Hackbart, H. C., Alves, P. I. C., Radünz, A. L., Gandra, E. A., & da Rosa Zavareze, E. (2021). Chemical composition and in vitro antioxidant and antihyperglycemic activities of clove, thyme, oregano, and sweet orange essential oils. *LWT*, 138, 110632.
- Sik, B., Hanczné, E. L., Kapcsándi, V., & Ajtony, Z. (2020). Conventional and nonconventional extraction techniques for optimal extraction processes of rosmarinic acid from six Lamiaceae plants as determined by HPLC-DAD measurement. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 184, 113173.
- Silva, S. G., de Oliveira, M. S., Cruz, J. N., da Costa, W. A., da Silva, S. H. M., Maia, A. A. B., ... & de Aguiar Andrade, E. H. (2021). Supercritical CO2 extraction to obtain *Lippia thymoides*

- Mart. & Schauer (Verbenaceae) essential oil rich in thymol and evaluation of its antimicrobial activity. *The Journal of Supercritical Fluids*, 168, 105064.
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13(1), 1-26.

## Desarrollo de un método de extracción por la técnica de MEPS para polifenoles en miel.

Cobos Cervantes Paola<sup>1</sup>, Armijo Martínez Samantha<sup>1</sup>, Cavazos Rocha Norma<sup>1</sup>, Paniagua Vega David<sup>1</sup> y Portillo Castillo Omar J.<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina, Departamento de Química Analítica, Av. Francisco I. Madero y Dr. Eduardo Aguirre Pequeño s/n, Col. Mitras Centro, C.P. 64460, Monterrey, Nuevo León; México.

\*[oportillo.me0207@uanl.edu.mx](mailto:oportillo.me0207@uanl.edu.mx).

### RESUMEN

Se desarrolló y validó un método mediante la técnica de microextracción con sorbente empacado (MEPS) para la extracción de polifenoles en miel y su análisis mediante cromatografía de líquidos de alta resolución. El cartucho C18 resultó ser el más adecuado para la extracción simultánea de un mayor número de polifenoles, tales como ácido protocatechuico, ácido cafeico, ácido *p*-cumárico, ácido *trans*-ferúlico, ácido rosmarínico, quercetina, luteolina, apigenina y kaempferol. Para la optimización del volumen y tipo de disolvente en el paso de elución, se trabajó con un diseño de experimentos mediante el modelo D-Optimal, siendo 50  $\mu$ L de metanol al 100 % la condición adecuada para la recuperación de los analitos. Bajo las condiciones seleccionadas como óptimas, el método resultó ser lineal, preciso y exacto con límites de detección y cuantificación de 0.039 hasta 0.071  $\mu$ g/mL y de 0.131 hasta 0.238  $\mu$ g/mL respectivamente. La aplicación del método se llevó a cabo mediante el análisis de una muestra de miel, el cual resultó ser preciso, encontrando factores de enriquecimiento de 2.64 y 2.86 para kaempferol y apigenina, respectivamente.

**Palabras clave:** Miel, polifenoles, miel, MEPS, sorbente, optimización.

### ABSTRACT

A method was developed and validated using the microextraction with packed sorbent (MEPS) technique for the extraction of polyphenols in honey and their analysis by high performance liquid chromatography. The C18 cartridge turned out to be the most suitable for the simultaneous extraction of a greater number of polyphenols, such as protocatechuic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, *trans*-ferulic acid, rosmarinic acid, quercetin, luteolin, apigenin and kaempferol. To optimize the volume and type of solvent in the elution step, a design of experiments was used using the D-Optimal model, with 50  $\mu$ L of 100% methanol being the appropriate condition for recovering the analytes. Under the conditions selected as optimal, the method turned out to be linear, precise and accurate with detection and quantification limits of 0.039 to 0.071  $\mu$ g/mL and 0.131 to 0.238  $\mu$ g/mL, respectively. The application of the method was carried out through the analysis of a honey sample, which turned out to be accurate, finding enrichment factors of 2.64 and 2.86 for kaempferol and apigenin, respectively.

**Key words:** Honey, polyphenols, MEPS, sorbent, optimization



## INTRODUCCIÓN

La miel es un alimento elaborado por las abejas para que estas puedan sobrevivir durante el invierno, ya que provee la energía y los nutrientes necesarios para ellas. (Lynne Chepulis, 2008). Es una mezcla altamente concentrada de azúcares, aunque también contiene enzimas, vitaminas, aminoácidos, antioxidantes naturales y compuestos aromáticos (Alqarni et al., 2014). Se cree que el polen de las plantas y las condiciones climáticas tienen el mayor efecto sobre las propiedades y la composición fitoquímica de la miel (Khalil et al., 2011). Este alimento es rico en polifenoles (antioxidantes naturales) (Alqarni et al., 2014), los cuales son un grupo químicamente heterogéneo de compuestos provenientes del metabolismo secundario de las plantas.

Los polifenoles se agrupan en diferentes clases según su estructura química básica, pudiéndose dividir en ácidos fenólicos y flavonoides, y se les han atribuido diversas actividades biológicas (Wilfred Vermerris & Ralph Nicholson, 2009). Actualmente, la miel es considerada un alimento nutracéutico, ya que se ha evidenciado que el consumo a largo plazo de alimentos ricos en polifenoles puede prevenir y ofrecer protección frente al desarrollo de enfermedades como cáncer, diabetes, osteoporosis, etc. (Cardona et al., 2013; Gašić et al., 2017; Khurana et al., 2013; Rasouli et al., 2017). Por otra parte, la identificación de compuestos polifenólicos individuales, así como el perfil polifenólico completo, puede ayudar a diferenciar mieles de diferentes orígenes botánicos y geográficos; además los datos obtenidos de estos análisis pueden servir como un parámetro para el control de calidad de la miel (Gašić et al., 2017). Sin embargo, el aislamiento de estos compuestos, debido a la complejidad de esta matriz de muestra es un paso crítico. Debido a lo anterior, se utilizan técnicas de preparación de muestra para su análisis, las más comúnmente empleadas son la extracción líquido-líquido y extracción en fase sólida (Pascual-Maté et al., 2018).

En la actualidad, existe una tendencia global al uso de técnicas de microextracción, las cuales se definen como técnicas de extracción donde la cantidad de fase extractante es muy pequeña en relación a la cantidad de muestra utilizada, además la extracción de los analitos no es exhaustiva (Lord & Pawliszyn, 2000). Dentro de estas técnicas podemos mencionar a la microextracción con sorbente empacado (MEPS), siendo una forma miniaturizada de la técnica de extracción en fase sólida (SPE), la cual se ha aplicado al análisis de una gran diversidad de analitos en una amplia diversidad de muestras (Abdel-Rehim, 2004). El diseño típico de la MEPS es en formato de jeringa de vidrio, en donde el sorbente se acomoda en un pequeño recipiente situado en el cilindro de la jeringa (Abdel-Rehim, 2010). La ventaja más importante es el pequeño volumen de disolvente y cantidad de sorbente utilizado, por lo tanto, es considerada como una técnica respetuosa con el medio ambiente. Los sorbentes pueden utilizarse muchas veces, por lo que el costo es mucho menor que con otras técnicas. El procedimiento de MEPS consta de cuatro pasos (acondicionamiento, carga de la muestra, lavado y elución), es un proceso rápido y sencillo. Hoy en día puede llevarse a cabo de forma manual, semiautomatizada y completamente automatizada. En este trabajo se utilizará un sistema semiautomático de MEPS, el cual proporciona mejoras en el flujo de trabajo, ahorro de recursos y una programación personalizada donde se controla la velocidad y el volumen de cada paso de la extracción (Mendes et al., 2013).

Hasta nuestro conocimiento, no existen reportes en la literatura del uso de MEPS en extracción de polifenoles en miel, sin embargo, se ha utilizado para la determinación de polifenoles en otras matrices, por ejemplo, en un estudio analizaron dieciséis polifenoles en vinos (Gonçalves et al., 2012) y en otro analizaron diez ácidos fenólicos en la misma matriz (Gonçalves et al., 2013); en ambos trabajos el sorbente C8 fue el óptimo para la extracción de dichos compuestos. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue desarrollar un método para la extracción de polifenoles en miel mediante la técnica de MEPS y evaluar la aplicabilidad del procedimiento previamente desarrollado en muestra reales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales

Como sorbentes de extracción se evaluaron cinco cartuchos con distintas características y modos de separación, los cuales fueron el C18, M1, DVB, APS y SIL, todos con diámetro de partícula de 45  $\mu\text{m}$ , superficie de 500  $\text{m}^2/\text{g}$  y aproximadamente 4 mg de empaque, todos fueron adquiridos de SGE Analytical Science. Las extracciones se realizaron mediante un sistema semiautomático de jeringa analítica MEPS eVol<sup>®</sup> de SGE Analytical Science. Para el análisis cromatográfico se utilizó un cromatógrafo de líquidos Waters 2695 con detector de arreglo de diodos y un HP-1100 con detector UV de longitud de onda variable. Ambos equipos cuentan con bomba cuaternaria, desgasificador en línea, automuestreador y horno de columna. El análisis se llevó a cabo en una columna Hypersil GOLD PFP (2.1 x 150 mm, 3  $\mu\text{m}$ ) de Thermo Fisher Scientific.

### Reactivos

Los estándares de los polifenoles seleccionados como analito diana para la extracción por MEPS fueron ácido gálico (97.5-102.5%), Hidrato de (+)-catequina ( $\geq 98\%$ ), ácido cafeico ( $\geq 98\%$ ), galato de epigallocatequina ( $\geq 80\%$ ), ácido *p*-cumárico ( $\geq 98\%$ ), miricetina ( $\geq 96\%$ ), ácido trans-ferúlico ( $\geq 99\%$ ), ácido rosmarínico ( $\geq 98\%$ ), ácido elágico ( $\geq 95\%$ ), quercetina ( $\geq 95\%$ ), luteolina ( $\geq 98\%$ ), kaempferol ( $\geq 97\%$ ) y apigenina ( $\geq 95\%$ ), todos de Sigma Aldrich, mientras que el ácido protocatechuico (99.8%) fue de HWI pharma services GmbH. Para las fases móviles se utilizó ácido fórmico (98-199 %) de Merck, metanol grado HPLC de J.T Baker y agua desionizada, la cual se obtuvo a través de un sistema de filtración Elga Veolia II. Las fases móviles fueron filtradas al vacío y sonicadas en un baño de ultrasonido para su desgasificación.

### Optimización del procedimiento de MEPS

Para la selección del sorbente fueron preparadas soluciones madre de todos los polifenoles individuales a 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  en metanol, se guardaron en oscuridad a 4 °C hasta su uso. Las soluciones de trabajo se prepararon a partir de las soluciones madre, fueron estándares acuosos a 0.2 y 0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de los polifenoles en mezcla. Las condiciones de partida para la extracción fueron las siguientes: acondicionamiento del cartucho con 100  $\mu\text{L}$  de metanol seguido de 100  $\mu\text{L}$  de ácido fórmico al 0.1% (un ciclo cada uno), el volumen de la muestra fue de 250  $\mu\text{L}$  a un pH de 2 (10 ciclos), la elución fue con 100  $\mu\text{L}$  de ácido fórmico al 0.1 % y metanol a una proporción 95:5 durante un ciclo, la velocidad se estableció a 20  $\mu\text{L}/\text{s}$  para todos los pasos de la extracción y el secado se realizó entre cada paso, estas condiciones fueron seleccionadas en base a reportes de la literatura (Casado et al., 2019). Para el análisis cromatográfico se utilizó un método previamente establecido dentro del grupo de trabajo, las condiciones se muestran en la Tabla I. Todos los experimentos se realizaron por triplicado y para evaluarla la precisión de las extracciones se calculó la desviación estándar relativa de las respuestas de las señales obtenidas.

Para la optimización de la elución se construyó un diseño de experimentos mediante el programa MODDE 12 en el modo D-Optimal. Las variables que se optimizaron fueron el porcentaje (50% y 100%) y el volumen de metanol (50 y 100  $\mu\text{L}$ ), el set de experimentos resultantes se muestra en la Tabla II. Las condiciones de extracción fueron las mismas que se utilizaron en la selección del sorbente, solo que se agregó un paso de lavado con ácido fórmico al 0.1% antes de la elución. Todos los extractos resultantes fueron analizados a través del método cromatográfico antes mencionado y se trabajó con la suma de áreas de todos los picos cromatográficos.

**Tabla I.** Condiciones cromatográficas para la determinación de polifenoles.

<b>Fase móvil</b>	A: ácido fórmico 0.15% y B: metanol		
<b>Gradiente</b>	Tiempo	Fase A	Fase A
	0	90	10
	5	90	10
	40	10	90
	45	10	90
	50	90	10
	65	90	10
<b>Flujo</b>	0.2 mL/min		
<b>Temperatura de columna</b>	35° C		
<b>Volumen de inyección</b>	5 µL		
<b>Longitud de onda de monitoreo</b>	260 nm		

**Tabla II.** Diseño de experimentos para la optimización de la elución.

<b>Número de experimento</b>	<b>Nombre del experimento</b>	<b>Orden de corrida</b>	<b>Porcentaje de Metanol</b>	<b>Volumen de elución (µL)</b>
1	N1	2	50	50
2	N2	14	100	50
3	N3	6	50	100
4	N4	1	100	100
5	N5	3	50	60
6	N6	4	50	80
7	N7	10	100	60
8	N8	8	60	50
9	N9	13	80	50
10	N10	11	60	100
11	N11	7	70	70
12	N12	9	70	70
13	N13	5	70	70
14	N14	12	70	70

**Validación del sistema cromatográfico.**

Se construyó una curva de calibración por estándar externo a 6 niveles de concentración (0.25, 0.5, 1, 2, 4 y 10 µg/mL) por triplicado para todos los analitos extraídos. Se realizó una regresión lineal por el método de mínimos cuadrados para obtener la ecuación de la recta y observar la relación de linealidad mediante el coeficiente de determinación ( $r^2 \geq 0.99$ ). La precisión se evaluó con el porcentaje de desviación estándar relativa (%DER) de las respuestas de los estándares de calibración en todos los niveles de concentración. Por otro lado, la exactitud se evaluó mediante la correlación entre la concentración calculada para los estándares de calibración y su concentración real. Se realizó un análisis de regresión por mínimos cuadrados y se analizaron los valores de la pendiente y el coeficiente de determinación de las curvas de regresión, considerando como criterios de aceptación valores de  $m \approx 1$  y  $r^2 \geq 0.99$  (Swartz y Krul, 2005; Burke, 2001). Los límites de detección y

cuantificación se determinaron utilizando los cromatogramas de los estándares del nivel más bajo de la curva de calibración y se calculó 3 y 10 veces la relación de la señal-ruido para el límite de detección y de cuantificación, respectivamente.

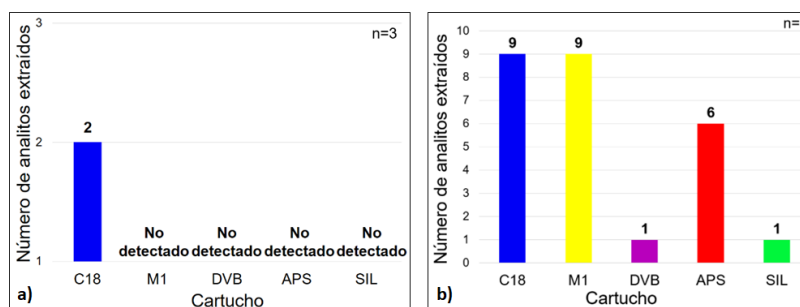
### Evaluación del del método desarrollado.

Se analizaron muestras sin adición y con adición de los polifenoles, la muestra fue miel de flor de aguacate del estado de Michoacán en México. Las muestras adicionadas, fueron enriquecidas con una mezcla de los polifenoles a una concentración de 3  $\mu\text{g/mL}$ . Después se realizó la extracción por triplicado con MEPS bajo las condiciones seleccionadas como óptimas y los extractos fueron analizados en el cromatógrafo de líquidos Agilent 1100. Se evaluó la precisión de las extracciones calculando el %DER de las concentraciones y de los tiempos de retención ( $t_R$ ) de cada analito. También se evaluó el factor de enriquecimiento (FE) para la evaluación del desempeño de la extracción por MEPS (Jafari et al., 2012).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Optimización del procedimiento de MEPS

Los polifenoles que se analizaron fueron seleccionados en base a los polifenoles comúnmente encontrados en miel. Por otra parte, seleccionar el sorbente apropiado para la extracción por MEPS es un paso importante para poder obtener una buena limpieza de la muestra y un adecuado rendimiento de extracción (Gonçalves et al., 2012). Se evaluaron diferentes tipos de sorbentes con distinto modo o principio de separación o extracción, debido a la gran diversidad estructural y la gran variedad de propiedades físicas y químicas de los polifenoles seleccionados como analitos diana en el presente trabajo. Cuando se trabajó con el estándar de 0.02  $\mu\text{g/mL}$  solo el cartucho de C18 presentó capacidad de extraer polifenoles, los otros cartuchos no extrajeron ningún compuesto. Por lo que se decidió aumentar la concentración del estándar utilizado (0.2  $\mu\text{g/mL}$ ) para evaluar si este efecto se debía a la baja concentración del estándar empleado. Cuando se trabajó con el estándar de mayor concentración, se observó que con todos los cartuchos se podía extraer al menos un compuesto. Sin embargo, los cartuchos C18 y el M1 extrajeron un mayor número de polifenoles compuestos, como puede verse en la Figura 1. Los polifenoles extraídos con ambos sorbentes fueron los mismos: ácido protocatechuico, ácido cafeico, ácido *p*-cumárico, ácido *trans*-ferúlico, ácido rosmarínico, quercetina, luteolina, apigenina y kaempferol. Con el cartucho APS se extrajeron seis polifenoles, los cuales fueron el ácido protocatechuico, ácido cafeico, ácido *p*-cumárico, ácido *trans*-ferúlico, ácido rosmarínico y apigenina. Mientras que con el cartucho SIL, solo se extrajo la apigenina.



**Figura 1.** Comparación del número de analitos extraídos utilizando diferentes cartuchos de MEPS a partir de a) un estándar de 0.02  $\mu\text{g/mL}$  y b) un estándar de 0.2  $\mu\text{g/mL}$  de los polifenoles estudiados.

Considerando que las moléculas de los analitos se encuentran no ionizados gracias al pH del medio y a los valores de pKa de estos; tendrán una polaridad baja y por lo tanto una afinidad por algo parecido a ellos (Gonçalves et al., 2013). Debido a esto fue que los sorbentes que presentan modo de separación de fase inversa (C18 y M1), fueron los que mostraron mayor capacidad de extracción para los

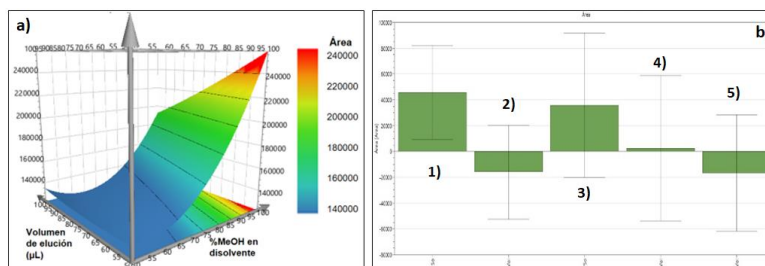
polifenoles. (Pereira et al., 2013). De los resultados obtenidos se evaluó la precisión mediante el cálculo del %DER de las áreas de los picos cromatográficos obtenidos. La evaluación fue de acuerdo con la AOAC, ya que indica como aceptable un valor de %DER menor al 15 %. Los resultados obtenidos con el estándar de menor concentración no cumplieron con este criterio. En el caso del estándar de 0.2 µg/mL, con el cartucho C18 la mayoría de los %DER obtenidos fueron aceptables, como puede verse en la Tabla III. Con el cartucho M1 cinco de los analitos extraídos (ácido protocatechuico, ácido *p*-cumárico, ácido *trans*-ferúlico, apigenina y kaempferol) presentaron %DER superiores al 15 %. Por lo tanto, el cartucho C18 se consideró el más adecuado para la extracción de polifenoles, puesto que, fue el único que pudo extraer los compuestos del estándar de menor concentración, en el de mayor concentración fue uno de los sorbentes con mayor número señales y la mayoría de los %DER de las áreas obtenidas fueron aceptables. A pesar de lo anterior no se extrajo ácido gálico y elágico, hidrato de catequina, galato de epigalocatequin y miricetina con ningún sorbente, lo cual puede deberse a que las condiciones de extracción seleccionadas no eran las óptimas o que los compuestos o sorbentes no muestran afinidad entre ellos.

**Tabla III.** Precisión de las extracciones con los distintos sorbentes utilizando un estándar de 0.2 µg/mL.

Compuesto	Sorbente				
	C18	M1	DVB	APS	SIL
Ácido gálico	-	-	-	-	-
Ácido protocatecuico	20.47	25.12	9.60	26.41	-
Hidrato de catequina	-	-	-	-	-
Ácido cafeico	8.88	14.84	-	21.53	-
Epigalocatequin galato	-	-	-	-	-
Ácido <i>p</i> -cumárico	6.83	15.43	-	8.02	-
Miricetina	-	-	-	-	-
Ácido <i>trans</i> -ferúlico	4.01	20.56	-	8.41	-
Ácido rosmarínico	9.97	14.86	-	28.77	-
Ácido elágico	-	-	-	-	-
Quercetina	3.91	14.43	-	-	-
Luteolina	8.88	3.00	-	-	-
Kaempferol	8.86	18.11	-	-	-
Apigenina	1.71	16.08	-	17.00	25.74

Para optimizar el paso de elución, primero se realizó un modelo de predicción a partir de las condiciones iniciales de extracción. Esto se realizó para evaluar si los analitos de los cuales no se observó señal (no extraídos) se debía a que no se recuperaban por efecto del disolvente de elución. El análisis de los factores mediante el diagrama de superficie indicó que el único factor significativo, bajo las condiciones experimentales evaluadas, era el porcentaje de metanol en el disolvente de elución y que, a mayor porcentaje de metanol, mayor es el área de los picos cromatográficos obtenidos como puede verse en la Fig. 4a. A partir de los resultados obtenidos se construyeron los gráficos de coeficiente, los cuales estadísticamente mostraron la relevancia de cada factor evaluado. Como puede verse en la Fig. 4b, a un mayor porcentaje de metanol se obtendría mayor área de los picos cromatográficos de los polifenoles, mientras que los demás factores, así como sus interacciones no fueron significativos. Se decidió seleccionar un volumen de elución óptimo de 50 µL, para poder tener capacidad de concentración y no diluir la muestra por efecto del volumen. Aún bajo estas

condiciones, no pudieron extraerse el ácido gálico, hidrato de catequina, galato de epigalocatequín, miricetina y ácido elálgico, probablemente estos compuestos no muestren afinidad hacia el sorbente seleccionado. En la Tabla IV se resumen las condiciones de extracción seleccionadas como óptimas para la extracción de polifenoles.



**Figura 4.** a) Diagrama de superficie de interacciones de las variables en el diseño de experimentos y b) Gráficos de coeficiente para el efecto estandarizado de los factores evaluados. 1) Porcentaje de metanol, 2) Volumen de elución, 3) Interacción entre el porcentaje de metanol y el mismo, 4) Interacción entre el volumen de elución y el mismo y 5) Interacción entre el volumen de elución y el porcentaje de metanol.

**Tabla IV.** Condiciones óptimas para la extracción de polifenoles con MEPS

Factor		Valor
Sorbente		C18
Acondicionamiento		100 µL de metanol (un ciclo) 100 µL H <sub>2</sub> O con ácido fórmico al 0.1% (un ciclo)
Volumen de la muestra		250 µL
pH		2
Ciclos de la muestra		10
Lavado		100 µL ácido fórmico al 0.1% (un ciclo)
Elución	Volumen	50 µL
	Porcentaje de metanol	100% de metanol
Velocidad		20 µL/s para cada paso de la extracción
Secado		Entre cada paso

#### Validación del sistema cromatográfico

La validación del sistema cromatográfico se llevó a cabo el cromatógrafo HP-1100, el cual tiene un detector UV de longitud de onda variables, el monitoreo de todos los analitos se hizo a 260 nm. En cuanto a la quercetina, no fue posible detectar los primeros dos niveles de la curva de calibración, debido a la baja absorptividad molar que presenta esta molécula a la longitud de detección, por lo que fue descartada de los análisis posteriores. La validación fue de acuerdo con la guía de la AOAC. Para todos los analitos el método fue lineal ya que se obtuvieron coeficientes de determinación mayores a 0.995. En todos los casos los porcentajes de desviación estándar relativa de las respuestas y de los tiempos de retención fueron menores al 15 %, por lo que el método es preciso. El método también fue exacto ya que, en el análisis de regresión de las concentraciones calculadas de los estándares vs. las concentraciones reales, se obtuvieron valores de pendiente igual a 1 y  $r^2$  superiores a 0.995. Mientras que los límites de detección y de cuantificación de este método van desde 0.039 hasta 0.071

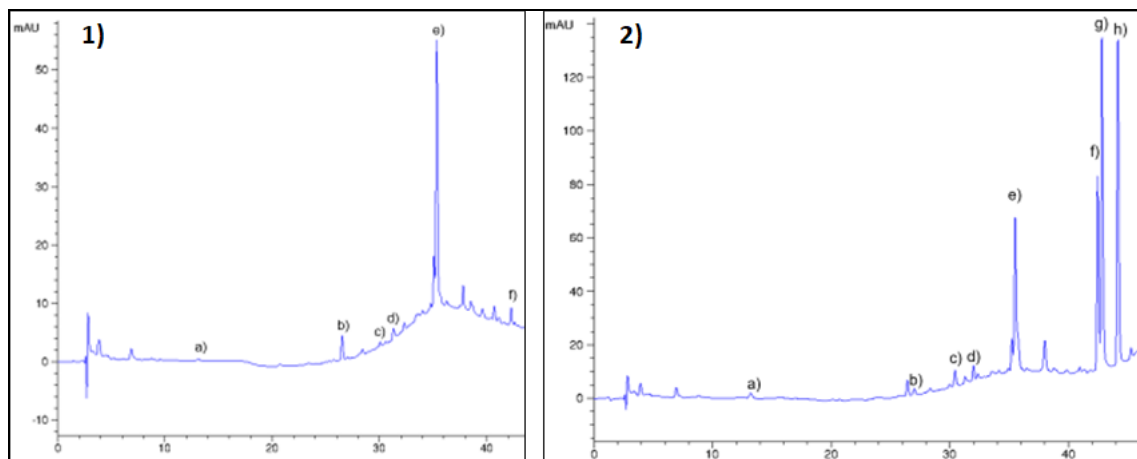
µg/mL y de 0.131 hasta 0.238 µg/mL respectivamente. Un resumen de los resultados se muestra en la Tabla V.

**Tabla V.** Validación del sistema cromatográfico para el análisis de polifenoles.

Analito	Linealidad		Precisión		Exactitud	LD (µg/mL)	LC (µg/mL)
	Ecuación de regresión	r <sup>2</sup>	% DER de respuestas	% DER de t <sub>R</sub>			
Ácido protocatechuico	y = 85.1867x + 7.9503	0.997	0.36 - 14.22	0.21 - 1.65	m=1 r <sup>2</sup> = 0.997	0.068	0.227
Ácido cafeico	y = 33.8231x + 0.1703	0.999	0.90 - 4.15	0.08 - 0.32	m=1 r <sup>2</sup> = 0.999	0.067	0.224
Ácido p-cumárico	y = 46.5776x - 6.2295	0.998	0.20 - 3.96	0.08 - 0.23	m=1 r <sup>2</sup> = 0.998	0.062	0.208
Ácido trans-ferúlico	y = 36.8683x - 5.5130	0.995	0.30 - 6.71	0.06 - 0.19	m=1 r <sup>2</sup> = 0.995	0.063	0.208
Ácido rosmarínico	y = 25.1819x - 0.6729	0.997	1.16 - 10.14	0.06 - 0.13	m=1 r <sup>2</sup> = 0.997	0.071	0.238
Luteolina	y = 81.5624x - 5.5736	0.997	1.61 - 9.52	0.05 - 0.34	m=1 r <sup>2</sup> = 0.997	0.041	0.138
Kaempferol	y = 142.6849x + 9.8472	0.997	0.06 - 14.16	0.05 - 0.08	m=1 r <sup>2</sup> = 0.997	0.047	0.158
Apigenina	y = 153.4256x - 7.5848	0.999	0.44 - 2.57	0.05 - 1.32	m=1 r <sup>2</sup> = 0.999	0.039	0.131

**Evaluación del método desarrollado**

Se analizaron muestras de miel sin adicionar y con adición de polifenoles a 3 µg/mL, todos los análisis fueron por triplicado. La muestra de miel se seleccionó debido a la disponibilidad de la muestra en el laboratorio. Dicha muestra proviene de flor de aguacate (es unifloral) y es del estado de Michoacan, México. En el análisis de las extracciones de las muestras de miel sin adicionar (Fig. 5 inciso 1) se observaron señales correspondientes a los ácidos protocatechuico, cafeico, p-cumárico, rosmarínico, trans-ferúlico y la luteolina. En base a lo anterior se procedió a evaluar solo la eficiencia de extracción de los analitos no encontrados en las muestras (kaempferol y apigenina), ya que los otros mediante el método de cuantificación por estándar externo, no es posible realizar una correcta cuantificación. Para los compuestos no encontrados en las muestras de miel, se evaluó la precisión de la concentración encontrada después de la adición, la cual fue de 7.23 µg/mL para kaempferol y de 8.49 µg/mL para apigenina, mostrando %DER de 5.01 y de 4.47 para el kaempferol y apigenina, respectivamente. También se evaluó la precisión de los tiempos de retención y se obtuvieron %DER de 0.38 para el kaempferol y de 1.26, para la apigenina. Ambos criterios cumplen con lo establecido en la AOAC. Por otra parte, es importante mencionar que el procedimiento presentó la capacidad de concentrar a ambos analitos, obteniendo factores de enriquecimiento de 2.64 para kaempferol y de 2.86 para apigenina. Esto es un buen resultado, ya que la preconcentración es uno de los objetivos de las técnicas de preparación de muestra. En la Fig. 5 se muestran unos cromatogramas representativos obtenidos a partir de la extracción de una muestra de miel sin adicionar y con adición de polifenoles.



**Figura 5.** 1) Cromatograma obtenido de la extracción de una muestra de miel sin adición de polifenoles y 2) Cromatograma obtenido de la extracción de una muestra de miel adicionada a 3  $\mu\text{g/mL}$  de polifenoles. Polifenoles: a) ácido protocatecuico, b) ácido cafeico, c) ácido *p*-cumárico, d) ácido *trans*-ferúlico e) ácido rosmarínico, f) luteolina, g) kaempferol y h) apigenina.

## CONCLUSIONES

Se desarrolló un método rápido, sencillo y semiautomatizado para el análisis simultáneo de polifenoles en miel mediante la técnica de MEPS. El cartucho C18 mostró ser el más adecuado para la extracción de un mayor número de compuestos, tales como los ácidos protocatecuico, cafeico, *p*-cumárico, *trans*-ferúlico y rosmarínico, así como también para quercetina, luteolina, apigenina y kaempferol. El método cromatográfico previamente establecido resultó ser lineal, preciso y exacto, con límites de detección y cuantificación de 0.039 hasta 0.071  $\mu\text{g/mL}$  y de 0.131 hasta 0.238  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente. Se aplicó el método desarrollado para la extracción de polifenoles a una muestra de miel resultando ser preciso y con capacidad de concentrar a apigenina y kaempferol.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Rehim, M. (2004). New trend in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe for liquid and gas chromatography applications. *Journal of Chromatography B*, 801(2). <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2003.11.042>
- Abdel-Rehim, M. (2010). Recent advances in microextraction by packed sorbent for bioanalysis. *Journal of Chromatography A*, 1217(16). <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.09.053>
- Alqarni, A. S., Owayss, A. A., Mahmoud, A. A., & Hannan, M. A. (2014). Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18(5). <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2012.11.009>
- Cardona, F., Andrés-Lacueva, C., Tulipani, S., Tinahones, F. J., & Queipo-Ortuño, M. I. (2013). Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(8). <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.05.001>
- Casado, N., Perestrelo, R., Silva, C. L., Sierra, I., & Câmara, J. S. (2019). Comparison of high-throughput microextraction techniques, MEPS and  $\mu$ -SPEed, for the determination of polyphenols in baby food by ultrahigh pressure liquid chromatography. *Food Chemistry*, 292. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.038>
- Gašić, U. M., Milojković-Opsenica, D. M., & Tešić, Ž. L. (2017). Polyphenols as Possible Markers of Botanical Origin of Honey. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 100(4). <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0144>
- Gonçalves, J., Mendes, B., Silva, C. L., & Câmara, J. S. (2012). Development of a novel microextraction by packed sorbent-based approach followed by ultrahigh pressure liquid



- chromatography as a powerful technique for quantification phenolic constituents of biological interest in wines. *Journal of Chromatography A*, 1229. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.01.023>
- Gonçalves, J., Silva, C. L., Castilho, P. C., & Câmara, J. S. (2013). An attractive, sensitive and high-throughput strategy based on microextraction by packed sorbent followed by UHPLC-PDA analysis for quantification of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids in wines. *Microchemical Journal*, 106. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.05.037>
- Jafari, M. T., Saraji, M., & Yousefi, S. (2012). Negative electrospray ionization ion mobility spectrometry combined with microextraction in packed syringe for direct analysis of phenoxyacid herbicides in environmental waters. *Journal of Chromatography A*, 1249, 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.06.024>
- Khalil, M. I., Alam, N., Moniruzzaman, M., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2011). Phenolic Acid Composition and Antioxidant Properties of Malaysian Honeys. *Journal of Food Science*, 76(6). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02282.x>
- Khurana, S., Venkataraman, K., Hollingsworth, A., Piche, M., & Tai, T. (2013). Polyphenols: Benefits to the Cardiovascular System in Health and in Aging. *Nutrients*, 5(10). <https://doi.org/10.3390/nu5103779>
- Lord, H., & Pawliszyn, J. (2000). Microextraction of drugs. *Journal of Chromatography A*, 902(1). [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00836-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00836-0)
- Lynne Chepulis. (2008). *Healing Honey: A Natural Remedy for Better Health and Wellness* (BrownWalter Press (ed.)).
- Mendes, B., Silva, P., Mendonça, I., Pereira, J., & Câmara, J. S. (2013). A new and fast methodology to assess oxidative damage in cardiovascular diseases risk development through eVol-MEPS–UHPLC analysis of four urinary biomarkers. *Talanta*, 116. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.04.064>
- Moein, M. M., Abdel-Rehim, A., & Abdel-Rehim, M. (2015). Microextraction by packed sorbent (MEPS). *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 67. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.12.003>
- Pascual-Maté, A., Osés, S. M., Fernández-Muiño, M. A., & Sancho, M. T. (2018). Analysis of Polyphenols in Honey: Extraction, Separation and Quantification Procedures. *Separation & Purification Reviews*, 47(2). <https://doi.org/10.1080/15422119.2017.1354025>
- Pereira, J., Gonçalves, J., Alves, V., & Câmara, J. S. (2013). Microextraction using packed sorbent as an effective and high-throughput sample extraction technique: Recent applications and future trends. *Sample Preparation*, 1. <https://doi.org/10.2478/sampre-2013-0005>
- Rasouli, H., Farzaei, M. H., & Khodarahmi, R. (2017). Polyphenols and their benefits: A review. *International Journal of Food Properties*. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1354017>
- SGE Analytical Science. (n.d.). *MEPS™ – Fast Miniaturized SPE*. SGE Analytical Science. Retrieved October 7, 2021, from [https://chromatec.ru/downloads/BR-0439-M\\_eVol MEPS.pdf](https://chromatec.ru/downloads/BR-0439-M_eVol MEPS.pdf)
- Wilfred Vermerris, & Ralph Nicholson. (2009). *Phenolic Compound Biochemistry* (Springer Science (ed.)).

## Aplicación de Ultrasonido en el Desarrollo de Nanoemulsiones de Alginato de Sodio. Efecto en el tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial-Z

Pérez-Alba A. A.<sup>1\*</sup>, Carrillo-Ortiz D.<sup>1</sup>, Sáenz -Esqueda M. A.<sup>1</sup>, Becerra-Becerra K. A.<sup>1</sup>, Minjares-Fuentes R.<sup>1</sup>

[a.asenethpa@gmail.com](mailto:a.asenethpa@gmail.com)

<sup>1</sup> Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Ciencias Químicas Artículo 123 s/n. Col. Filadelfia. C.P. 35010. Gómez Palacio, Dgo. México.

### RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del ultrasonido sobre las nanoemulsiones de alginato de sodio (AS). Para esto, la emulsión gruesa constituida por 0.01% de alginato de sodio (fase acuosa), 1.0% de aceite de maíz y 1.0% Tween 80, fue pre-mezclada a 9,000 rpm por 5 min en un Ultraturrax T18 (IKA® Works, Inc., Wilmington, USA). Las mezclas fueron sometidas a tratamiento acústico usando un ultrasonido Branson Sonifier SFX-550 (Danbury, USA) operando a 550 W, 20 kHz y una amplitud del 75% a dos tiempos de sonicación (3.5 y 7 min). El tamaño de partícula, el índice de polidispersión y el potencial- z fueron evaluados. De manera interesante, el tamaño de partícula de las nanoemulsiones formadas incrementó de ~117 a ~123 nm al incrementar el tiempo de procesamiento, indicando posiblemente el sobreprocesamiento de las nanoemulsiones. Por el contrario, el índice de polidispersión y el potencial-z decreció de 0.22 a 0.20 y de -15 y -13 mV, respectivamente, al incrementar el tiempo de procesamiento de 3.5 a 7 min. Estos resultados muestran que la tecnología de ultrasonido puede ser una alternativa tecnología para el desarrollo de nanoemulsiones a base de alginato de sodio.

**Palabras clave:** Ultrasonido, nanoemulsiones, alginato de sodio, tamaño de partícula, polidispersión, potencial-z

### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of ultrasound on sodium alginate (AS) nanoemulsions. For this purpose, the coarse emulsion consisting of 0.01% sodium alginate (aqueous phase), 1.0% corn oil and 1.0% Tween 80 was prepared at 9,000 rpm for 5 min using an Ultraturrax T18 (IKA® Works, Inc., Wilmington, USA). The emulsions were subjected to acoustic treatment using a Branson Sonifier SFX-550 ultrasound (Danbury, USA) operating at 550 W, 20 kHz and 75% amplitude at two times (3.5 and 7 min). The particle size, polydispersity index and zeta potential were evaluated. Interestingly, the particle size of the developed nanoemulsion increased from ~117 to ~123 nm as processing time increased, possibly indicating over-processing of the nanoemulsions. In contrast, the polydispersity index and zeta potential decreased from 0.22 to 0.20 and from -15 and -13 mV, respectively, as the processing time increased from 3.5 to 7 min. These results show that ultrasound technology can be an alternative technology for the development of sodium alginate-based nanoemulsions.

**Key words:** Ultrasound, nanoemulsions, sodium alginate, particle size, polydispersity, z-potential

## INTRODUCCIÓN

Las nanoemulsiones, se describen como dispersiones coloidales producidas a partir de agua, aceite y tensioactivos (Mc Clements, 2011). Se han utilizado ampliamente en aplicaciones biológicas, alimentarias y médicas ya que pueden actuar como vehículos o sistemas de suministro de ingredientes bioactivos (Gupta et al, 2016). De manera general, las nanoemulsiones se pueden fabricar mediante tratamientos mecánicos (alta energía) o químicos (baja energía). El método de alta energía es ampliamente utilizado en la producción de nanoemulsiones empleando homogeneizadores ultrasónicos para mejorar el proceso de emulsificación (Modarres-Gheisari, et al, 2019), ya que estos producen ondas acústicas de baja frecuencia, lo que provoca el colapso de las partículas causado por los efectos de la cavitación, reduciendo el tamaño de estas (Sivakumar, et al 2014).

Para obtener nanoemulsiones es necesario utilizar un surfactante capaz de adsorberse en la interfase aceite-agua de las gotas, reduciendo la tensión superficial (Artigas, et al 2017). Los polisorbatos, como el Tween 80, se encuentran entre los tensioactivos más utilizados para la emulsificación (Tong et al 2015). Por otra parte, la adición de polisacáridos aniónico como el alginato de sodio (AS), a la fase acuosa puede mejorar la estabilidad de las nanoemulsiones frente a la agregación, como consecuencia de la repulsión estérica y/o electrostática entre las interfaces de las partículas (Feng et al, 2012), evitando la desestabilización causada por la coalescencia o la separación gravitacional (Mc Clements, 2007).

Algunos parámetros importantes a evaluar en la preparación de nanoemulsiones incluyen el tamaño de partícula, el índice de polidispersión (PDI) y el potencial-z. ya que de ellos depende, en gran medida, la estabilidad de la emulsión. Considerando lo anteriormente mencionado, el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del tratamiento con ultrasonido sobre la estabilidad de la nanoemulsiones desarrolladas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Desarrollo de emulsiones de alginato de sodio

Para el desarrollo de emulsiones de alginato de sodio (AS) se siguió el método descrito por (Branco et al. 2020) con algunas modificaciones (ver figura 1). La fase acuosa fue preparada solubilizando el AS (0.01 %) en 10 mL de agua destilada. La solución permaneció en agitación durante toda la noche a 25°C. La fase oleosa compuesta por aceite de maíz (1.0%) y Tween 80 (1.0%) fueron incorporadas a la fase acuosa de AS. La mezcla fue homogenizada por 5 min a 9,000 rpm con Ultraturrax T18 (IKA® Works, Inc., Wilmington, USA). Por último, se trataron las diferentes emulsiones desarrolladas en un ultrasonido Branson Sonifier SFX-550 (Danbury, USA) operando a 550 W, 20 kHz y una amplitud del 75% a dos diferentes tiempos de sonicación (3.5 y 7 min).

## Estabilidad

El tamaño hidrodinámico, el índice de polidispersión (PDI) y el potencial-z se determinaron mediante espectroscopia de correlación de fotones utilizando un sistema de dispersión de luz dinámica (DLS) Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, Reino Unido) con un difractor láser estableciendo la longitud de onda de 633 nm a 25 °C.



Figura 1: Diagrama de flujo para la elaboración de emulsiones de AS

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Uno de los principales objetivos dentro del desarrollo de nanoemulsiones es crear sistemas con partículas pequeñas y con estabilidad cinética duradera para posteriores aplicaciones comerciales (Mc Clements, 2011). Es por esto, que el tamaño de partícula, su distribución y el potencial-z, fueron evaluados

### Tamaño de partícula

La aplicación del tratamiento acústico en el desarrollo de la emulsión afectó significativamente el tamaño de partícula y la distribución de éste ( $p < 0.05$ ). Como se observa en la tabla 1, al incrementar el tiempo de aplicación de US de 3.5 a 7 min, el tamaño de partícula incrementa aproximadamente 4.0%. Los tratamientos prolongados (7.0 min) promueven el incremento del tamaño de partícula, lo cual podría atribuirse al efecto descrito como sobre procesamiento (Jafari et al., 2006; Jafari, Assadpoor, He, & Bhandari 2007). El aumento del tamaño de partícula es causado por el aumento en la coalescencia de las gotas de la emulsión observado cuando los tiempos de procesamiento exceden los 5 minutos (Kentish, 2008). Cabe señalar que, de acuerdo con autores como Bouchemal, 2004; Anton, 2008; y Huang 2010 todos los tamaños de partícula obtenidos en las emulsiones desarrolladas se encuentran dentro del rango de nanoemulsiones pues sus dimensiones se encuentran dentro del

intervalo comprendido entre 1000, 500 y 200 nm como se establecieron respectivamente por dichos autores.

De forma interesante, los tamaños de partícula obtenidos en este trabajo se presentan un 35.0% menores que los obtenidos por Branco et al, 2020. Esta diferencia en los tamaños de partícula puede atribuirse principalmente a la concentración de AS, al tipo de aceite utilizado y sus características (peso molecular, polaridad y conformación), así como a las propiedades de adsorción del tensioactivo empleado en cada estudio.

*Tabla 1: Tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial -z de nanoemulsiones*

<b>Concentración de alginato de sodio (%)</b>	<b>Tiempo (min)</b>	<b>Tamaño (nm)</b>	<b>PDI (-)</b>	<b>Potencial -z (mV)</b>
<b>0.01</b>	3.5	117.4±0.10 <sup>a</sup>	0.22±0.009 <sup>a</sup>	-15.16±0.05 <sup>a</sup>
	7	123.1±1.04 <sup>b</sup>	0.20±0.004 <sup>b</sup>	-13.46±0.25 <sup>b</sup>

### Índice de polidispersión

El índice de polidispersión (PDI por sus siglas en ingles “polydispersity index”) es un parámetro que permite identificar la distribución del tamaño de las partículas obtenidas en un proceso de emulsificación. Los resultados muestran que el tratamiento con ultrasonido ejerció un efecto positivo sobre la PDI como puede verse en la figura 2. ya que promovió la formación de partículas más pequeñas y uniformes, pues los valores obtenidos en las nanoemulsiones son menores a 0.24 (ver tabla 1). los cuales se consideran característicos de emulsiones monodispersas y homogéneas según Sahafi, 2017, quien establece 0.40 como valor de referencia para esta propiedad.

En el presente estudio, el PDI disminuye de 0.22 a 0.20 al aumentar el tiempo de US de 3.5 min a 7.0 min (ver tabla 1), sin embargo, estudios previos han informado resultados aparentemente contradictorios sobre la influencia del tratamiento ultrasónico en el PDI de las nanoemulsiones. Salvia et al, 2013. Encontraron que las nanoemulsiones de alginato de sodio- aceite esencial de limón registraron distribuciones de tamaño multimodales, así como heterogeneidad en las partículas dispersas independientemente del tiempo de ultrasonificación aplicado. Mientras que Kwasigroch et al 2016, observaron que las nanoemulsiones aceite/agua cargadas con indometacina registraron valores de PDI entre 0.05 y 0.18 que corresponden a una distribución monomodal dada por el efecto del tratamiento con ultrasonido. Dicha contradicción puede atribuirse principalmente a las diferencias en el método de síntesis de las nanoemulsiones como fue descrito por Artigas et al 2017.

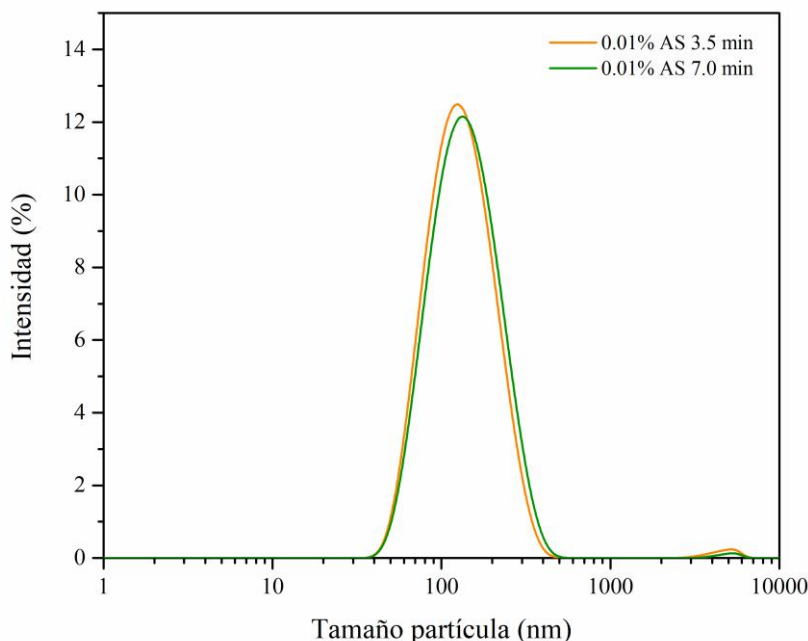


Figura 2: PDI de nanoemulsiones de AS

### Potencial-Z

Las partículas de las nanoemulsiones tienen carga eléctrica, por lo tanto, las interacciones electrostáticas juegan un papel importante en la determinación de su estabilidad y sus propiedades fisicoquímicas. La magnitud y el signo de esta carga dependen principalmente del tipo de emulsionante utilizado, su concentración y las condiciones ambientales (Mc Clements, 2016). La medida de la carga eléctrica superficial de las partículas se evalúa mediante el valor del potencial-z, dicha propiedad debe tener un valor inferior a  $-30$  mV o superior a  $+30$  mV en una nanoemulsión estabilizada electrostáticamente (Rai, 2017).

Como se observa en la tabla 1, el tratamiento ultrasónico tuvo un efecto significativo ( $P < 0.05$ ) sobre el potencial-z, ya que al incrementar el tiempo de aplicación de US de 3.5 a 7 min, disminuye la negatividad de la carga de la nanoemulsión desde  $-15$  hasta  $-13$  mV respectivamente. Estos resultados coinciden con lo que ha sido reportado por otros autores, en 2013 Hosseini y colaboradores observaron que los valores de potencial-z de nanoemulsiones de AS con  $\beta$ -lactoglobulina aumentaron de  $-59.89$  a  $-49.08$  mV después de la aplicación del tratamiento con US. Atribuyendo este fenómeno a la reducción de la reactividad del alginato y los cambios estructurales por las reacciones sonoquímicas que pueden conducir a la eliminación de algunos de sus grupos cargados negativamente.

Es importante destacar que, a pesar de que los resultados de potencial-z obtenidos ( $\sim -13.0$  a  $-15.0$  mV) podrían relacionarse con la inestabilidad del sistema, autores como Salvia et al, 2016 evaluaron la relación entre esta propiedad y la estabilidad de la nanoemulsión durante 14 días cuando la magnitud de la carga se registró entre  $-3.0$  y  $-8.0$  mV aproximadamente, encontrando que la adición de AS actúa como un antioxidante natural mejorando la estabilidad del sistema.

## CONCLUSIÓN

Se desarrollaron nanoemulsiones asistidas por ultrasonido que contenían aceite de maíz utilizando 0.01 % de AS en la fase acuosa. Las nanoemulsiones obtenidas mostraron tamaños de partícula dentro de la escalada nanométrica, así como uniformidad en la distribución de este, además, de valores de potencial-z negativos. Este estudio mostró que la aplicación de tratamientos con ultrasonido a una emulsión de aceite en agua y biopolímeros como AS puede ser un método factible para producción de nanoemulsiones con propiedades fisicoquímicas satisfactorias, con posibles aplicaciones como sistema de suministro de compuestos bioactivos, medicamentos entre otros.

## BIBLIOGRAFÍA

- Artiga-Artigas, M., Acevedo-Fani, A., & Martín-Belloso, O. 2017b. Effect of sodium alginate incorporation procedure on the physicochemical properties of nanoemulsions. *Food Hydrocolloids*, 70, 191–200.
- Bouchemal, K., Brainçon, S., Perrier, E., Fessi, H., 2004. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation. *Int J Pharm* 280, 241-251.
- Anton, N., Benoit, J.P., Saulnier, P., 2008. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates. *J Controlled Release* 128, 185-199.
- Branco, I. G., Sen, K., & Rinaldi, C. 2020. Effect of sodium alginate and different types of oil on the physical properties of ultrasound-assisted nanoemulsions. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 153, 107942.
- Feng, L., Cao, Y., Xu, D., Wang, S., & Zhang, J. 2017. Molecular weight distribution, rheological property and structural changes of sodium alginate induced by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 609–615.
- Gupta, A., Eral, H. B., Hatton, T. A., & Doyle, P. S. 2016. Nanoemulsions: formation, properties and applications. *Soft Matter*, 12(11), 2826–2841.
- Hosseini, S. M. H., Emam-Djomeh, Z., Razavi, S. H., Moosavi-Movahedi, A. A., Saboury, A. A., Atri, M. S., & van der Meeren, P. 2013.  $\beta$ -Lactoglobulin–sodium alginate interaction as affected by polysaccharide depolymerization using high intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, 32(2), 235–244.
- Huang, Q.R., Yu, H.L., Ru, Q.M., 2010. Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology. *J Food Sci* 75, R50-R57.
- Jafari, S. M., He, Y. H., & Bhandari, B. 2006. Nano-emulsion production by sonication and microfluidization e a comparison. *International Journal of Food Properties*, 9(3), 475e485.
- Jafari, S. M., He, Y. H., & Bhandari, B. 2007. Production of sub-micron emulsions by ultrasound and microfluidization techniques. *Journal of Food Engineering*, 82(4), 478e488.
- Kentish, S., Wooster, T., Ashokkumar, M., Balachandran, S., Mawson, R., & Simons, L. 2008. The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 170–175.
- Kwasigroch, B., Escribano, E., Morán, M. D. C., Queralt, J., Busquets, M. A., & Estelrich, J. (2016). Oil-in-water nanoemulsions are suitable for carrying hydrophobic compounds: Indomethacin as a model of anti-inflammatory drug. *International Journal of Pharmaceutics*, 515(1–2), 749–756.
- McClements, D. J. (2015b). *Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques*, Third Edition (3rd ed.). CRC Press, 10-20.
- McClements, D. J. 2007. Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(7), 611–649.
- McClements, D. J. 2011. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1000–1008.

- McClements, D. J., & Rao, J. 2011. Food-Grade Nanoemulsions: Formulation, Fabrication, Properties, Performance, Biological Fate, and Potential Toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 285–330. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.559558>
- Rai, V. K., Mishra, N., Yadav, K. S., & Yadav, N. P. 2018. Nanoemulsion as pharmaceutical carrier for dermal and transdermal drug delivery: Formulation development, stability issues, basic considerations and applications. *Journal of Controlled Release*, 270, 203–225.
- S.M.M. Modarres-Gheisari, R. Gavagsaz-Ghoachani, M. Malaki, P. Safarpour, M. Zandi. 2019. Ultrasonic nano-emulsification – a review, *Ultrason. Sonochem.* 52. 88–105.
- Sahafi, S. M., Goli, S. A. H., Kadivar, M., & Varshosaz, J. 2017. Preparation and characterization of bioactive oils nanoemulsions: Effect of oil unsaturation degree, emulsifier type and concentration. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 39(5), 676–686.
- Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, A., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. 2012. Physicochemical Characterization of Lemongrass Essential Oil–Alginate Nanoemulsions: Effect of Ultrasound Processing Parameters. *Food and Bioprocess Technology*, 6(9), 2439–2446.
- Sivakumar, M., Tang, S. Y., & Tan, K. W. 2014. Cavitation technology – A greener processing technique for the generation of pharmaceutical nanoemulsions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(6), 2069–2083.
- Tong, K., Zhao, C., Sun, Z., & Sun, D. 2015. Formation of Concentrated Nanoemulsion by W/O Microemulsion Dilution Method: Biodiesel, Tween 80, and Water System. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 3(12), 3299–3306.



## Estudio de los atributos fisicoquímicos de calidad que influyen en la vida útil de muffins de vainilla

Gálvez-Toledo D. K., Contreras-López E., Jaimez-Ordaz J., González-Olivares L. G. y Pérez-Flores J. G.\*

Área Académica de Química, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo; México, C.P. 42184.

\*[jesus\\_perez@uaeh.edu.mx](mailto:jesus_perez@uaeh.edu.mx)

### RESUMEN

Un Muffin es un pastel pequeño redondo sin azúcar. En general, los productos panificados han sido objeto de diversas investigaciones debido a la interacción entre sus componentes y su deterioro. Puesto que en la presente investigación fueron estudiados unos muffins de vainilla con una buena estabilidad microbiológica gracias a los agentes conservantes utilizados en su formulación, el objetivo del presente trabajo fue determinar cuáles son los parámetros fisicoquímicos de calidad con la mayor influencia sobre su vida útil, utilizando el enfoque de pruebas aceleradas, con la finalidad de proponer estrategias para prolongarla. Para ello, los muffins fueron almacenados a diferentes temperaturas. Los cambios en el contenido de humedad, en la actividad acuosa y en el peso, fueron determinados por triplicado. Los resultados fueron ajustados con diferentes modelos matemáticos. La pérdida de peso fue la variable con mayor influencia sobre la vida útil del producto y la ecuación para una cinética de orden cero fue la que mejor describió los cambios ( $R^2=0.817\pm 0.308$ ). En conclusión, el análisis cinético proporciona un criterio fiable para predecir la estabilidad y la vida útil de los muffins, con la información obtenida es posible establecer estrategias que permitan incrementarla.

**Palabras claves:** envejecimiento del pan, vida útil, muffin, modelado cinético

### ABSTRACT

A muffin is a small round cake elaborated without sugar. In general, baked products have been the subject of various investigations due to the interaction between their components and their deterioration. Since vainilla muffins used in this investigation had good microbiological stability due to preservative agents incorporated in their formulation, the objective of this work was to determine which quality physicochemical parameters have the greatest influence on their shelf life, using the accelerated testing approach, in order to propose strategies to prolong it. For this, the muffins were stored at different temperatures. Changes in moisture content, water activity and weight were determined in triplicate. The results were adjusted with different mathematical models. Muffin weight loss was the variable with the greatest influence on product shelf life and was adjusted to the equation of order zero ( $R^2=0.817\pm 0.308$ ). In conclusion, the kinetic analysis provides a reliable criterion to predict the stability and shelf life of muffins, with the information obtained here it is possible to establish strategies to increase shelf life.

**Keywords:** Bread stealing, shelf life, muffin, kinetic modeling

### INTRODUCCIÓN

La palabra Muffin proviene de la antigua palabra francesa *Muffe* o *Moufflet* que significa pastel rápido, mientras que la palabra contemporánea hace referencia a un pastel pequeño redondo sin azúcar (Crick, 2020; Nana, 2007). Las primeras recetas de muffins horneados endulzados comienzan a aparecer en los libros de cocina estadounidenses a principios del siglo XX, elaborado de maíz horneado, generalmente asociado con el sureste de Estados Unidos (Crick, 2020). Actualmente, el muffin es considerado como uno de los postres más populares debido a la versatilidad en sus ingredientes y sus características de fácil consumo (Bhaduri, 2013).

En general, los productos panificados han sido objeto de diversas investigaciones debido a la interacción entre sus componentes (Arp, Correa & Ferrero, 2020). Se ha reconocido el papel del agua en la interacción con los compuestos que se pueden encontrar en la masa del pan; las proteínas, los azúcares, los emulsionantes y los hidrocoloides, por mencionar algunos (Eliasson, 1983). Otro constituyente importante es el almidón, un polisacárido conformado por dos polímeros de glucosa (amilosa y amilopectina) que se encuentra en la mayoría de los cereales (Tako, Tamaki, Teruya & Takeda, 2014). Por lo tanto, la sinergia de estos compuestos hace del proceso de deterioro un fenómeno multifactorial lo que conduce a cambios fisicoquímicos dentro de la matriz alimentaria como la disminución de actividad de agua y humedad (Ji, Zhu, Qian, & Zhou, 2007; Giannone et al., 2016). El fenómeno de envejecimiento toma lugar desde la cocción y durante el periodo de almacenamiento y es el resultado de la restructuración del almidón lo que afecta la vida de anaquel del muffin (Calvel, 2001).

En la presente investigación se trabajó con una muestra de muffins de vainilla que ya es estable microbiológicamente gracias a los agentes conservantes incluidos como parte de su formulación. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar cuáles son los parámetros fisicoquímicos de calidad de los muffins de vainilla con la mayor influencia sobre su vida útil, utilizando el enfoque de pruebas aceleradas, con la finalidad de proponer estrategias para prolongarla.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Muestras

En esta investigación fueron utilizados unos muffins de vainilla proporcionados por una empresa dedicada a la fabricación de pan, originaria del estado de Hidalgo, México. Las muestras fueron almacenadas a 20, 30 y 50°C durante 21 días en una estufa al vacío, período de tiempo durante el cual fueron monitoreados los atributos de calidad fisicoquímicos que afectan la vida útil del producto.

#### Análisis fisicoquímico

##### Actividad de agua

Previo a la medición del aw en las muestras, se realizó una calibración en el AquaLab (DECAGON) con agua. Una vez que se obtenía un valor dentro del rango de 0.997 a 1.003, se colocó la muestra en una de las celdas hasta obtener el resultado indicado por el equipo. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

##### Contenido de humedad

Se mantuvieron a peso constante charolas de aluminio (limpias y sin tocar), para lo cual se colocaron en la estufa (Lab-Line) a 65°C durante al menos 4 horas. Una vez a peso constante, fueron adicionados 5g de muestra y distribuidos uniformemente. Las charolas se introdujeron en la estufa a 65°C y permanecieron ahí hasta que el peso final fuera constante. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

## Peso

Para determinar el grado de pérdida de peso de las muestras de muffin de vainilla, éstas fueron pesadas en una balanza analítica (Ohaus) cada 2 días durante 21 días. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

## Análisis cinético

Para obtener información sobre los cambios producidos en los atributos fisicoquímicos de calidad de los muffins durante el almacenamiento, fueron aplicados diferentes modelos matemáticos para ajustar los datos experimentales, *ecs.* (1)-(3) (Dermesonlouoglou, Giannakourou, & Taoukis, 2016; Jaimez-Ordaz *et al.*, 2019; Park, Koh y Kim, 2018).

$$Q = Q_0 \pm kt \quad \text{Ec. 1}$$

$$\ln Q = \ln Q_0 \pm kt \quad \text{Ec. 2}$$

$$\frac{1}{Q} = \frac{1}{Q_0} \pm kt \quad \text{Ec. 3}$$

Donde  $Q$  es el atributo de calidad fisicoquímico monitoreado,  $k$  es la constante de velocidad de reacción ( $\text{días}^{-1}$ ) y  $t$  es el tiempo de almacenamiento (días).

## Análisis estadístico

Fue realizado un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías y una prueba HSD de Tukey post-hoc ( $p < 0.05$ ) para evaluar el efecto del tiempo y de la temperatura de almacenamiento sobre los cambios en los atributos de calidad fisicoquímicos de las muestras de muffins analizadas. Posteriormente, fue realizado un ANOVA de una vía y una prueba HSD de Tukey post-hoc ( $p < 0.05$ ) para identificar diferencias significativas en el tiempo de almacenamiento del producto durante la prueba. Todas las pruebas estadísticas fueron realizadas con el lenguaje de programación R (v3.4.4) (R Core Team, 2018) y con su entorno de desarrollo integrado RStudio (v1.4.1106) (RStudio Team, 2021).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Influencia del tiempo y de la temperatura de almacenamiento

Los resultados obtenidos de ANOVA acerca de la evolución de los atributos fisicoquímicos de calidad ( $Q$ : peso, humedad y aw) de los muffins en función del tiempo y de la temperatura de almacenamiento se presentan en la Tab. 1.

De acuerdo con la información obtenida, hubo diferencias significativas entre los conjuntos de datos del peso de los muffins en relación con la temperatura de almacenamiento ( $p < 0.001$ ), esto indica que la temperatura de almacenamiento influyó directamente sobre los cambios en el peso durante el almacenamiento. Por otro lado, el tiempo de almacenamiento y la interacción del tiempo con la temperatura de almacenamiento ( $T \sim T$ ) no influyeron en los cambios de peso de los muffins durante la prueba.

Con respecto a los cambios en el contenido de humedad, hubo diferencias significativas entre los conjuntos de datos de la humedad de los muffins en relación con el tiempo y la temperatura ( $p < 0.001$ ), es decir, ambos factores influyeron directamente sobre los cambios en el contenido de humedad en el producto durante la prueba, la interacción entre ambos factores (T~T) no influyó sobre los cambios en el contenido de humedad.

Finalmente, los conjuntos de datos de la actividad de agua (aw) mostraron diferencias significativas en función del tiempo y de la temperatura de almacenamiento, e incluso ante la interacción de ambos factores (T~T) ( $p < 0.001$ ), esto indica que estos factores y su interacción influyeron significativamente en la evolución de la aw durante el almacenamiento.

**Tabla 1.** Prueba ANOVA de dos vías para los atributos de calidad fisicoquímicos ( $Q$ ) de los muffins en función del tiempo y de la temperatura de almacenamiento.

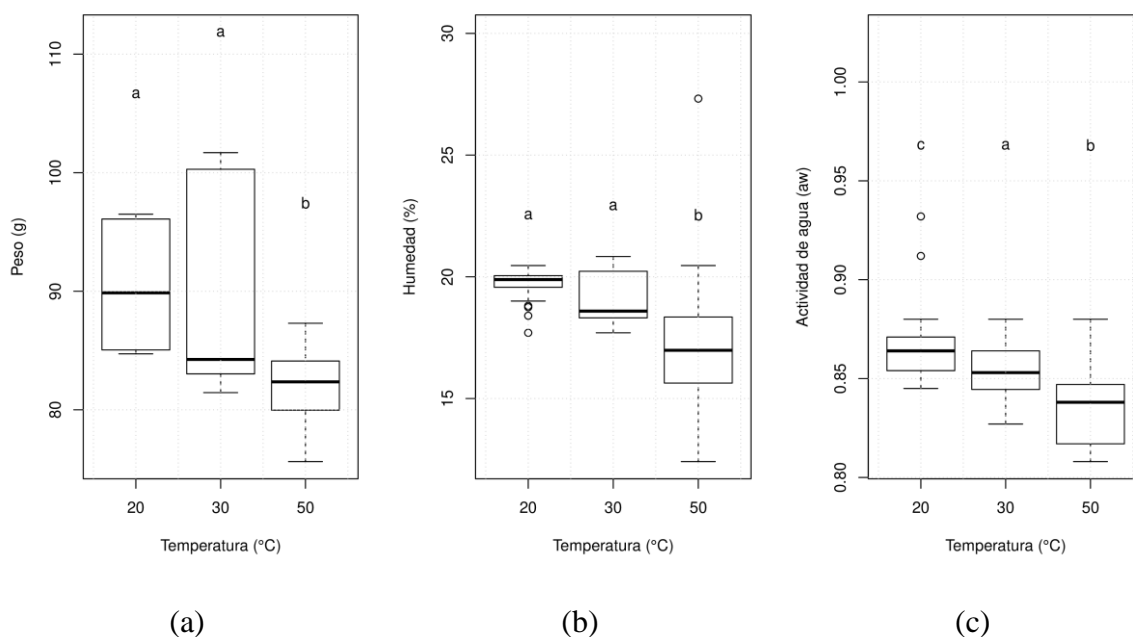
Variable	Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr (> F) <sup>I</sup>
Peso	Temperatura	2	1038.4	519.2	10.712	0.000121
	Tiempo	8	54	6.8	0.139	0.996989
	<sup>II</sup> T~T	16	36	2.3	0.047	1.000000
	Residuales	54	2617.4	48.5		
Humedad	Temperatura	2	91.41	45.70	20.923	$1.87 \times 10^{-7}$
	Tiempo	8	68.83	8.60	3.939	0.000999
	T~T	16	62.42	3.90	1.786	0.057964
	Residuales	54	117.96	2.18		
Actividad de agua	Temperatura	2	0.010638	0.005319	62.099	$1.00 \times 10^{-14}$
	Tiempo	8	0.015921	0.001990	23.234	$6.38 \times 10^{-15}$
	T~T	16	0.006655	0.000416	4.856	$5.65 \times 10^{-6}$
	Residuales	54	0.004625	0.000086		

<sup>I</sup>Valor de p asociado con el estadístico F de una fuente determinada. <sup>II</sup>T~T: interacción del tiempo con la temperatura de almacenamiento.

Los resultados son presentados gráficamente en la Fig. 1.

La interacción del tiempo y la temperatura provocan un reordenamiento en el granulo de almidón, lo que modifica algunas propiedades funcionales como la solubilidad en agua, la viscosidad y la retrogradación. Si bien es cierto que lo anterior favorece la dureza del pan; en alimentos como jaleas,

yogures y emulsiones, le aporta consistencia y estabilidad (Majzoobi, Kaveh & Farahnaky, 2016). Al-Mahsaneh, Aljarrah, Rababah, & Alu'datt (2018) estudiaron el comportamiento del pan pita a temperatura ambiente y a temperatura de congelación donde observaron que a una temperatura de congelación el pan pita conservaba su frescura gracias a la movilidad limitada y las interacciones entre el agua, el almidón y la proteína.



**Figura 1.** Valores de los atributos de calidad fisicoquímicos de los muffins analizados: (a) peso, (b) humedad y (c) actividad de agua, obtenidos durante el tiempo de almacenamiento a 20, 30 y 50 °C. Los diagramas de caja-bigote con diferentes letras minúsculas indican diferencias entre los conjuntos de datos a las diferentes temperaturas de almacenamiento ( $p < 0.05$ ).

### **Incidencia de los atributos fisicoquímicos de calidad**

#### ***Peso***

En la Fig. 2 se muestra la evolución de los cambios en los atributos fisicoquímicos de calidad de ellos muffins durante la prueba. Mientras que en la Fig. 2a se muestran los cambios de peso de los muffins durante su almacenamiento a 20, 30 y 50°C, en general el peso disminuyó durante el tiempo de almacenamiento. Estos cambios fueron atribuidos a las propiedades de barrera del envase y la temperatura de almacenamiento. Sang, Shao, & Jin (2015) observaron a partir de unas muestras de pastel de arroz almacenadas durante 4 días a 10, 20 y 30°C, que cuanto más bajas sean las propiedades de barrera de los materiales de empaque y mayor la temperatura de almacenamiento más será la pérdida de agua.

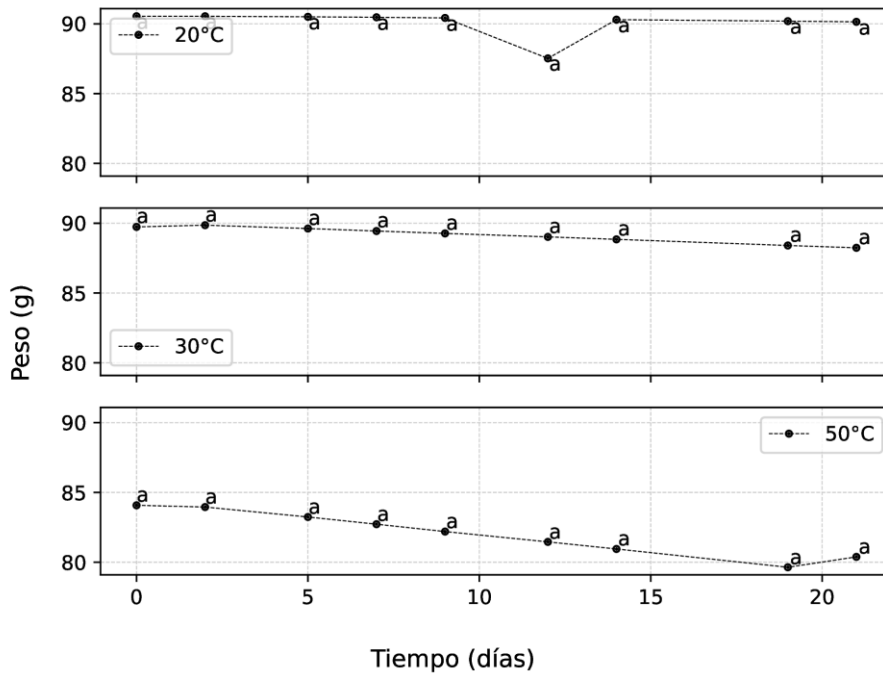
#### ***Contenido de humedad***

En la Fig. 2b se muestran los cambios en el contenido de humedad de los muffins durante su almacenamiento a 20, 30 y 50°C. Fue observada una disminución en el contenido de humedad de las muestras en función del tiempo de almacenamiento. Estos cambios fueron atribuidos a la relación

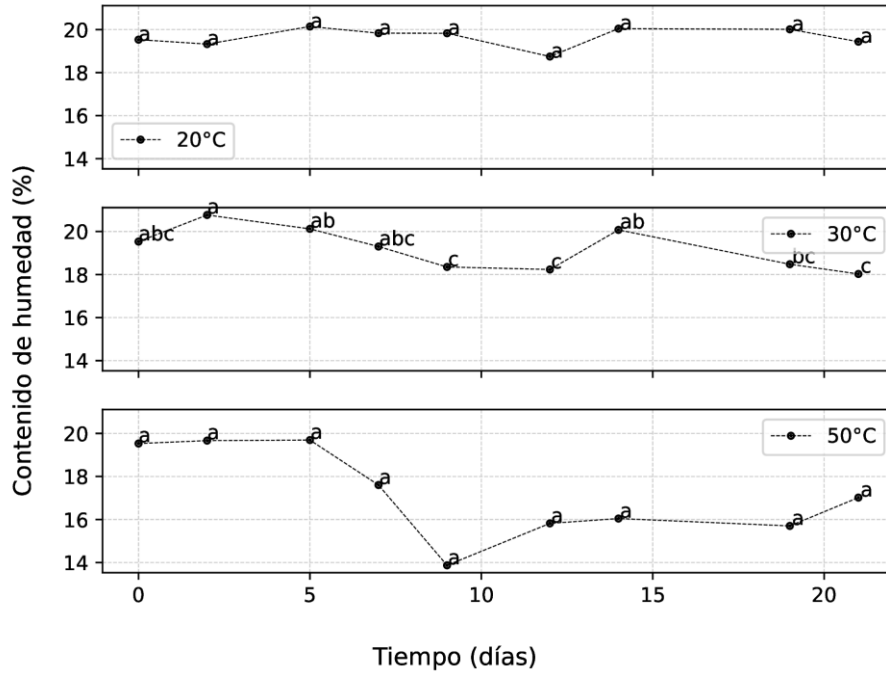
almidón-gluten- agua y la temperatura de almacenamiento. Algunos atributos de la harina pueden disminuir la tasa de envejecimiento: a) un nivel de proteína medio o superior, b) un nivel de almidón dañado superior a la media que permita una mejor absorción de agua y que ayude a las amilasas a lograr una mayor producción de maltosa (Calvel, 2001). Osella, Sánchez, Carrara, de la Torre y Pilar Buera (2005) afirman que el contenido de humedad y las características de unión dentro de la miga son importantes para estudiar el envejecimiento del pan.

**Actividad de agua**

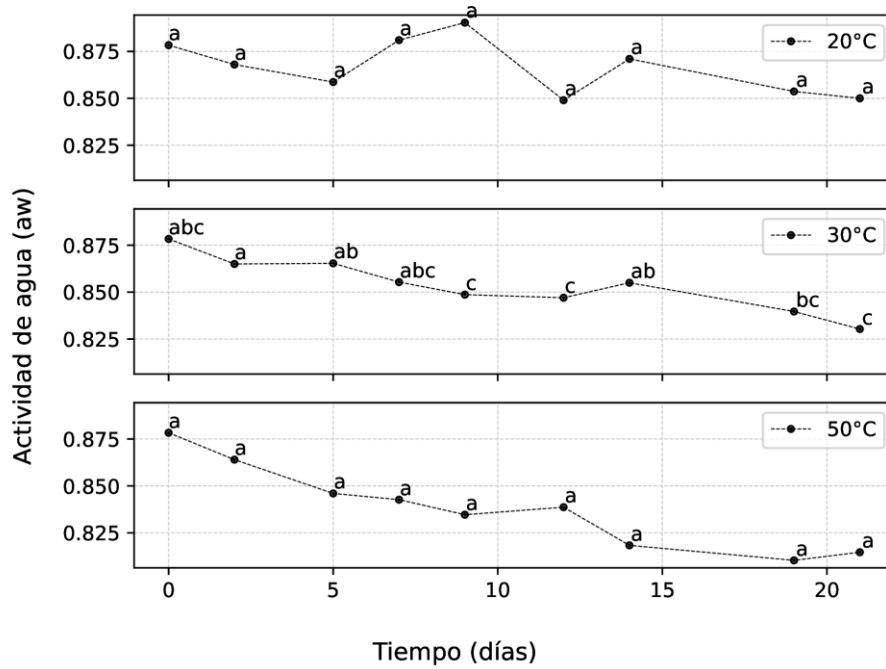
En la Fig. 2c se muestran los cambios en los valores de aw de los muffins durante su almacenamiento a 20, 30 y 50°C. Fue observada una disminución en los valores de aw de las muestras en función del tiempo de almacenamiento. Es interesante mencionar que la aw es una propiedad termodinámica que matemáticamente puede ser definida como la relación que hay de la presión de vapor del agua presente en el alimento (la presión de vapor es producida por la cantidad de agua que logra escapar del alimento) entre la presión de vapor del agua pura a la misma temperatura (Labuza, 1980). Por lo tanto, debido a que el alimento pierde peso por la pérdida de humedad, la disminución del contenido de agua en el producto afecta directamente a los valores de aw durante el almacenamiento.



(a)



(b)



(c)

**Figura 2.** Evolución (a) del peso, (b) del contenido de humedad y (c) de la actividad acuosa de los muffins almacenados a 20, 30 y 50°C durante 21 días. Las letras minúsculas diferentes indican diferencias en los tiempos de almacenamiento ( $p < 0.05$ ).

**Análisis cinético**

El análisis cinético fue determinado con la finalidad de elegir el atributo crítico de calidad, es decir, el que tendrá el mayor impacto sobre la vida de anaquel de los muffins de vainilla analizados.

Debido a que en esta investigación fue utilizado el enfoque de pruebas aceleradas de vida útil, la información obtenida se presenta en la Tab. 2. Justo a 50°C se pueden acelerar las reacciones y los cambios, de tal manera que, a través de la constante de velocidad, pueden ser determinados los cambios que sucederán más rápido en el producto durante su almacenamiento. En este caso, la pérdida de peso de los muffins tiene la constante de velocidad más alta ( $k = -0.212 \pm 0.072$  días), por lo tanto, esta variable podría ser elegida como una variable crítica de calidad para hacer la estimación de vida útil siempre y cuando el producto mantenga su estabilidad ante el deterioro microbiano gracias a los agentes conservantes utilizados en la formulación del producto. Además, la pérdida de humedad en el producto mostró el menor ajuste lineal por lo que no podrían realizarse cálculos precisos con este parámetro ( $R^2 = 0.222 \pm 0.105$ ).

**Tabla 2.** Valores de  $Q_0$ ,  $k$  y  $R^2$  para los cambios en los atributos fisicoquímicos de calidad modelados con la ecuación de orden cero a 50°C.

$Q$	$Q_0$	$k$ (días)	$R^2$
Peso	84.165±3.258	-0.212±0.072	0.817±0.308
Humedad	19.008±2.038	-0.181±0.109	0.222±0.105
Actividad acuosa	0.868±0.001	-0.003±0.00004	0.892±0.016

Por otro lado, una vez que se ha determinado que la pérdida de peso de los muffins son la variable que tiene mayor influencia sobre la vida útil del producto, se determinó mediante el método gráfico qué modelo cinético describe mejor estos cambios en la pérdida de peso, específicamente, fue a través del valor del coeficiente de determinación ( $R^2$ ). Los resultados fueron reportados en la Tab. 3. A las 3 temperaturas de ensayo, la ecuación de una cinética de orden 0 es la que mejor describe los cambios en la pérdida de peso, de acuerdo con los valores de  $R^2$ .

**Tabla 3.** Valores de los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) de la evolución del peso del producto almacenado a 20, 30 y 50°C, ajustados a diferentes modelos matemáticos.

	Orden 0	Orden 1	Orden 2
20°C	0.664±0.551	0.663±0.552	0.663±0.552
30°C	0.955±0.064	0.955±0.064	0.955±0.064
50°C	0.817±0.308	0.816±0.308	0.815±0.309



Una vez que ha sido determinado que la pérdida de peso en el producto tiene la mayor influencia sobre la vida útil del producto y que la ecuación de una cinética de orden cero es la que mejor describe esos cambios durante el almacenamiento, es necesario determinar el valor crítico de peso correlacionándolo con parámetros sensoriales o microbiológicos. Por ejemplo, Baik & Chinachoti (2000) reportaron que el contenido de humedad y el envejecimiento del almidón estuvieron estrechamente relacionados. En un sistema cerrado, el agua se equilibraría entre la miga y la corteza durante el almacenamiento impulsado por el gradiente de humedad. Mientras que Calvel (2001) expone que a medida que pasa el tiempo, el almidón gradualmente cambia a un estado cristalino. Este cambio se manifiesta la pérdida de blandura, elasticidad, así como una disminución de su sabor.

Por lo tanto, el análisis cinético respaldado en un análisis estadístico, proporcionan un criterio fiable para predecir la estabilidad de almacenamiento y la vida útil de los productos horneados como los muffins de vainilla estudiados en esta investigación.

### **Estrategias para extender la vida útil del producto**

Dentro de las estrategias que pueden implementarse para extender la vida útil de los muffins, se encuentran las siguientes (Melini & Melini, 2018):

1. Envasado activo
2. Envases Activos con Absorbentes de Oxígeno
3. Envasado activo con sistemas de liberación de agentes antimicrobianos
4. Aplicación de nanotecnología en envases activos para pan

Las principales ventajas de los envases activos para los distribuidores de pan son el aumento de los tiempos del ciclo de rotación de stock y la extensión de la red de distribución geográfica. El consumidor también puede aprovechar el envasado activo, ya que el producto de panadería se puede almacenar sin refrigerar durante más tiempo y estar listo en cualquier momento como comida o refrigerio de sabor fresco.

## **CONCLUSIÓN**

Los resultados del presente proyecto revelaron que los parámetros de calidad en los muffins de vainilla están relacionados a la pérdida de humedad en el producto, lo cual conlleva al deterioro de otras propiedades como la textura, siendo la pérdida de peso la propiedad con mayor influencia sobre la vida útil del producto. Es por ello que sería recomendable realizar pruebas de vida útil también en una cámara de estabilidad con temperatura y con humedad relativa controladas.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Al-Mahsaneh, M., Aljarrah, M., Rababah, T., & Alu'datt, M. (2018). Using MR-FTIR and texture profile to track the effect of storage time and temperature on pita bread staling. *Journal of food quality*, 2018.
- Arp, C. G., Correa, M. J., & Ferrero, C. (2020). Kinetic study of staling in breads with high-amylose resistant starch. *Food Hydrocolloids*, 106, 105879
- Baik, M. Y., & Chinachoti, P. (2000). Moisture redistribution and phase transitions during bread staling. *Cereal Chemistry*, 77(4), 484–488
- Bhaduri, S. (2013). A comprehensive study on physical properties of two gluten-free flour fortified muffins. *Journal of Food Processing and Technology*, 4(8).

- Calvel, R. (2001). Bread Staling. *The Taste of Bread* (pp. 80-85). Springer, Boston, MA. Recuperado de [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4757-6809-1\\_9](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4757-6809-1_9)
- Crick, F. (2020). *A History of British Baking*. Yorkshire, England: Great Britain
- Dermesonlouoglou, E. K., Giannakourou, M., & Taoukis, P. S. (2016). Kinetic study of the effect of the osmotic dehydration pre-treatment with alternative osmotic solutes to the shelf life of frozen strawberry. *Food and Bioprocess Technology*, 99, 212–221.
- Eliasson, A. C. (1983). Differential scanning calorimetry studies on wheat starch—gluten mixtures: I. Effect of gluten on the gelatinization of wheat starch. *Journal of Cereal Science*, 1(3), 199–205.
- Giannone, V., Lauro, M. R., Spina, A., Pasqualone, A., Auditore, L., Puglisi, I., et al. (2016). A novel  $\alpha$ -amylase-lipase formulation as anti-staling agent in durum wheat bread. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 381–389.
- Jaimez-Ordaz, J., Pérez-Flores, J. G., Castañeda-Ovando, A., González-Olivares, L. G., Añorve-Morga, J., & Contreras-López, E. (2019). Kinetic parameters of lipid oxidation in third generation (3G) snacks and its influence on shelf-life. *Food Science and Technology*, 39, 136–140.
- Ji, Y., Zhu, K., Qian, H., & Zhou, H. (2007). Staling of cake prepared from rice flour and sticky rice flour. *Food Chemistry*, 104(1), 53–58.
- Labuza, T. P. (1980). The effect of water activity on reaction kinetics of food deterioration. *Food Technology* (USA).
- M. Tako, Y. Tamaki, T. Teruya e Y. Takeda, Los principios de la gelatinización y retrogradación del almidón, *Ciencias de la alimentación y la nutrición*, vol. 5 N° 3, 2014, págs. 280-291.
- Majzoobi, M., Kaveh, Z., & Farahnaky, A. (2016). Effect of acetic acid on physical properties of pregelatinized wheat and corn starch gels. *Food Chemistry*, 196, 720-725.
- Melini, V., & Melini, F. (2018). Strategies to extend bread and GF bread shelf-life: From Sourdough to antimicrobial active packaging and nanotechnology. *Fermentation*, 4(1), 9.
- Nana, C. (2007). Muffins and Bagels. En H. Y. Hui. (Ed.), *Handbook of food products manufacturing*. (pp. 280-281). California, Estados Unidos: Wiley-interscience. Recuperado de [https://mastermilk.com/uploads/biblio/handbook\\_of\\_food\\_products\\_manufacturing.pdf](https://mastermilk.com/uploads/biblio/handbook_of_food_products_manufacturing.pdf)
- Osella, C. A., Sánchez, H. D., Carrara, C. R., de la Torre, M. A., & Pilar Buera, M. (2005). Water redistribution and structural changes of starch during storage of a gluten-free bread. *Starch-Stärke*, 57(5), 208–216.
- Park, J.-M., Koh, J.-H., & Kim, J.-M. (2018). Predicting Shelf-life of Ice Cream by Accelerated Conditions. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38(6), 1216–1225.
- R Core Team. (2018). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. <https://www.r-project.org/>
- RStudio Team. (2021). *RStudio: Integrated Development Environment for R*. <http://www.rstudio.com/>
- Sang, W., Shao, X., & Jin, Z. T. (2015). Texture attributes, retrogradation properties and microbiological shelf life of instant rice cake. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 1832–1838.

## **Implementación de un diseño de Layout para planta de tortillas de harina de trigo**

Pérez-Quemada José Emilio<sup>1\*</sup>, Díaz-Cruz, Magdalena<sup>2</sup>, Contreras-Hernandez, Isela<sup>2</sup>, Ruiz-Lopez, Brenda<sup>2</sup>, Casas-Aguilar, Mariela<sup>2</sup>, Sosa-Morales María Elena<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida (DICIVA), Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, C.P. 36500. Ex-Hacienda el Copal, Irapuato, Gto., México.

<sup>2</sup> Departamento de Alimentos, Centro Interdisciplinario del Noreste de la Universidad de Guanajuato (CINUG), C.P. 37975. Tierra Blanca, Gto., México. \*[je.perezquemada@ugto.mx](mailto:je.perezquemada@ugto.mx)

### **RESUMEN**

El presente trabajo se basa en la implementación de un sistema de Layout para el diseño de distribución de una planta de tortillas de harina de trigo. Para la elaboración de la planta, se tomó como referencia la Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, con una distribución de las instalaciones y áreas de la planta de tortillas de harina adecuado y para simplificar la producción y garantizando que la planta cumpla con requisitos de un proceso de fabricación ágil. Se determinó que el diseño de la edificación en cuanto a dimensiones y formas la altura sería de 4 m, anchura de 10 m y un largo de 30 m aproximadamente, se optó por la forma lineal, la cubierta tipo bóveda con láminas tragaluz, el material de pisos será de resinas epoxi fenólicas por su grado de inocuidad y paredes interiores de ladrillo con acabado de resina epoxi. Para el layout se usó la versión gratuita de estudio del software AUTOCAD.

**Palabras clave:** Diseño, Layout, Planta de tortillas.

### **ABSTRACT**

This work is based on the implementation of a layout system for the design of the distribution of a wheat flour tortilla plant, for the development of the plant, the Mexican Official Standard NOM-251-SSA1-2009 was taken as a reference, to implement a distribution of the facilities and areas of the flour tortilla plant adequate to simplify production and ensuring that the plant meets these requirements of an agile manufacturing process. It was determined that the dimensions and shapes of the building would be 4 m high, 10 m wide and approximately 30 m long; a linear shape was chosen, the roof would be a vault with skylight sheets, the flooring material would be phenolic epoxy resins due to their degree of innocuousness, and the interior walls would be brick with epoxy resin finish. For the layout, the free student version of AUTOCAD software was employed.

**Key words:** Flour tortillas, Layout, Tortilla plant.

### INTRODUCCIÓN

Las tortillas de harina de trigo responden a la necesidad de la industria alimentaria de satisfacer la creciente demanda de tortillas y alimentos a base de tortilla de alta calidad. Las tortillas de harina de trigo deben tener un color uniforme, sin estar crudas ni excesivamente doradas, además estar libres de cualquier material extraño o suciedad. Las tortillas de trigo deben tener una simetría uniformemente redonda sin rasgaduras ni pedazos rotos en las orillas ni en el interior (Herrera, 2016).

La harina de trigo es el principal ingrediente para la elaboración de tortillas de harina de trigo, sus componentes son: almidón (70 – 75 %), agua (14 %) y proteínas (10 - 12 %), además de polisacáridos no del almidón (2 - 3%) particularmente arabinosilanos y lípidos (2%), el trigo se encuentra entre los cereales más importantes a nivel mundial (Osborne, 2009).

Una planta de tortillería busca ofrecer tortillas de calidad mediante medidas de control, el desarrollo de la tecnología de producción a nivel industrial se ha basado en los procedimientos domésticos con ciertas modificaciones y adecuaciones para poder ser producidas en grandes cantidades (Herrera, 2016).

El diseño de distribución de una planta de tortillas de harina busca utilizar la metodología Systematic Layout Planning por lo que se requieren conocimientos con respecto al tamaño y número de áreas requeridas, procesos, procedimientos, funciones, y operaciones sobre las fases a cubrir para lograr el bosquejo completo de la planta. Para la elaboración de la planta de diseño se tomó como referencia la Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-187-SSA1-2001, (NOM-187-SSA1-2001).

Las tortillas de harina se obtienen de una elaboración semi-automática, por el método de compresión en caliente, la producción debe estar en sincronía con aspectos tecnológicos, ingenieriles y económicos que garanticen el éxito de la planta.

La elaboración del diseño de planta sirve para simplificar la producción y garantizar que el trabajo, los materiales y la información fluya sin inconvenientes, el diseño garantiza que la planta cumpla con requisitos para diseñar un diseño efectivo que simplifique la producción y promueva un proceso de fabricación ágil (NOM-251-SSA1-2009).

El diseño de planta de tortillas de harina de trigo, la línea de producción opera por medio de maquinaria como: Áreas, equipos y maquinarias para elaboración de tortillas de harina de trigo, la planta operará con 12 personas en el área de producción, las áreas fuera de la planta se establecen espacios de estacionamientos y áreas verdes (NOM-251-SSA1-2009).

Se implementaron tecnologías emergentes no térmicas como la esterilización por medio de altas presión hidrostática y desinfección por luz ultravioleta UVC, estas tecnologías son consideradas como una alternativa excelente, dado que no afectan la calidad del alimento (Tapia *et al.*, 1998).

Los sistemas auxiliares son sistemas que aprovechan o recuperan el calor residual de los gases de motores o generadores de energía eléctrica para la producción de vapor o agua caliente (Tapia *et al.*, 1998). También incluyen torres de enfriamiento, sistemas de aire, plantas de tratamiento de aguas. Todos ellos coadyuvan a llevar a cabo el proceso principal de procesado de alimentos.

Los establecimientos de las plantas, deben cumplir con las siguientes disposiciones, en las instalaciones los pisos, paredes y techos del área de producción deben ser de fácil limpieza, sin grietas o roturas, los equipos deben ser instalados en forma tal que el espacio entre ellos mismos, la pared, el

techo y piso, permita su limpieza y desinfección, se debe disponer de agua potable, así como de instalaciones apropiadas para su almacenamiento, distribución y las condiciones de almacenamiento deben ser adecuadas (NOM-251-SSA1-2009).

### MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo la realización del diseño de la planta de tortillas de harina de trigo, lo primero que se hizo fue analizar y conocer cómo es que opera la línea de producción de esta, así como su localización y el diseño de las instalaciones industriales de la planta, su infraestructura, y material con el que es adecuado elaborarla, para poder determinar aspectos como, distribución de espacios en el terreno, así como edificación, dimensiones y forma de la misma, por otro lado también se tuvo que analizar el tipo de estructura, cubiertas, distribución de maquinaria y designación de áreas como sistemas auxiliares de la misma basándonos en lo que establece la NOM-251-SSA1-2009.

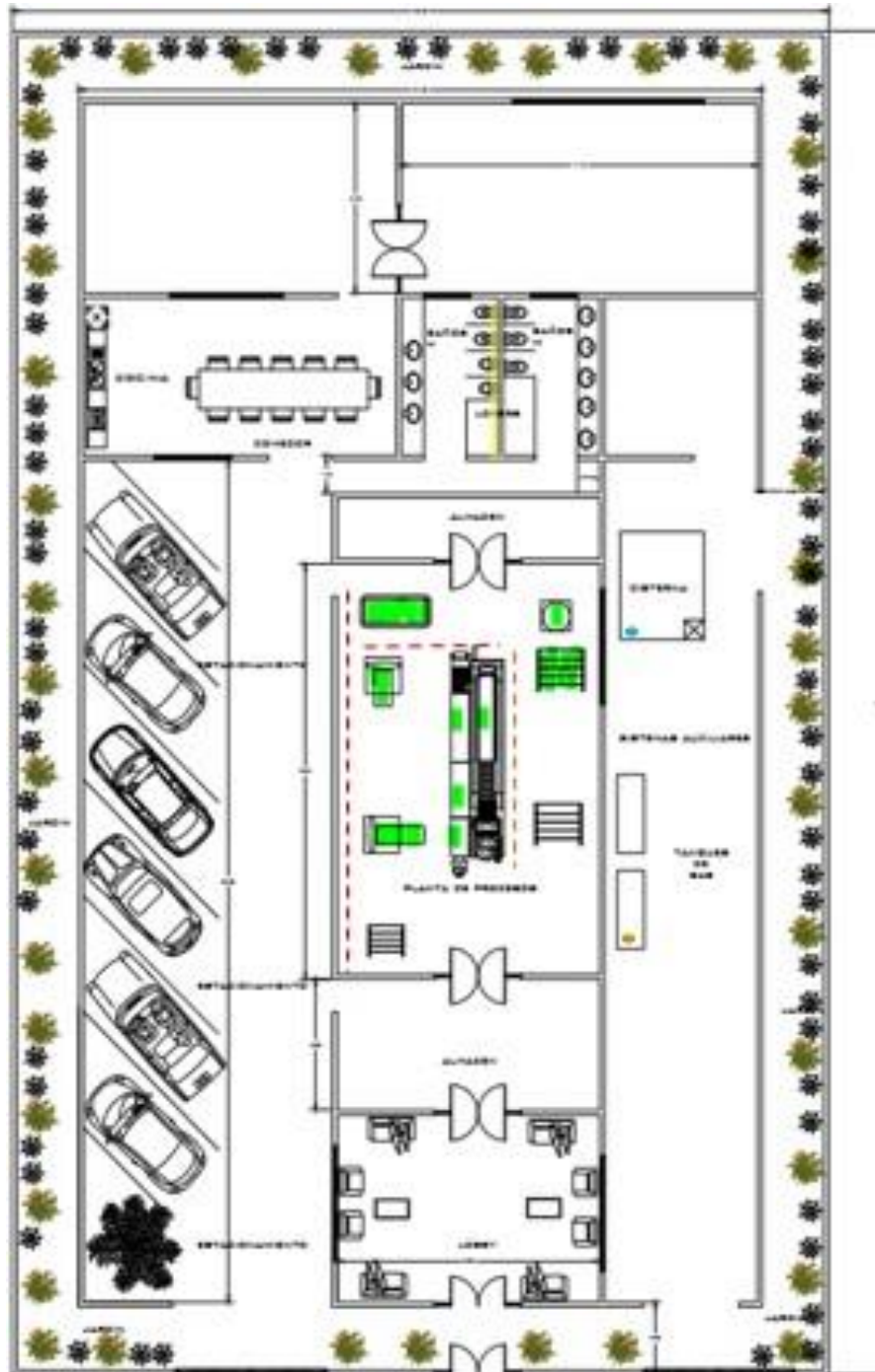
Una vez analizados todos estos aspectos se procedió a realizar un bosquejo de un plano, para el cual se llevó a cabo un cálculo de área, en donde se terminó el espacio de cada etapa del proceso, el espacio que ocupa cada máquina y ubicación de las distintas áreas como área de producción, almacenes, recepción de materia prima, entradas y salidas del personal y el del producto, basándonos en lo que establece NOM-187-SSA1-2001, ya que el proceso de diseño de una planta va ligado con el proceso de producción del producto, posteriormente se realizó el Systematic Layout Planning, para este se utilizó el software AutoCAD que fue la principal herramienta, para el modelado y diseño 2d de la planta de tortillas en el cual se plasmó todos los aspectos ligados a la infraestructura de la planta sin embargo también se tomó en cuenta características como cambios a futuro ya que es relevante identificar los posibles cambios y su magnitud, para poder diseñar una distribución en planta capaz de adaptarse dentro de unos límites razonables y realistas, así como su estética (áreas verdes) y ética (Saez Mas, 2020).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego del análisis y diseño de la infraestructura de la planta de tortilla que se elaboró para determinar los siguientes aspectos, características y condiciones con los que esta cumplirá.

Las plantas de procesamiento de alimentos deberán cumplir con las especificaciones que indica la norma NOM-251-SSA1-2009. El material de pisos será de resinas epoxi fenólicas por su grado de inocuidad. Los equipos entre sí cumplen con espacios que permiten acciones como limpieza y manipulación Figura 1. (---). Los equipos empleados para el proceso se basarán en el material de acero inoxidable. Los equipos se instalarán en los espacios y serán todos de acero inoxidable Figura 1. (III). Los servicios tienen sus propias instalaciones como se muestra \* la cisterna con su tapa y con \* el tanque almacén para gas (NOM-251-SSA1-2009).

Las dimensiones de la planta de producción se tomaron en base a la maquinaria y equipos requeridos en el proceso de elaboración de tortillas de harina de trigo, los espacios como almacenes, baños, comedor estacionamiento y jardineras, además de los accesos para entrada de materia prima y salida de producto terminado, dejando espacio peatonal entre estas (Cuatrecasas, 2012). Las distancias mínimas entre equipo y maquinaria se basan en el espacio de libre *acceso* y *espacio* necesario para su operación como lo indica la NOM-006-STPS-2014.



**Figura 1.** Lay-Out de la planta de producción de tortillas de harina de trigo. Se empleó AutoCAD para generar el Lay-Out.

### CONCLUSIÓN

Se logró generar una distribución eficiente dentro de las áreas de producción y el resto de las áreas de la empresa productora de tortillas, basándose en lo que enuncian las normas como condiciones de instalaciones y equipos ideales o básicos para propiciar un buen funcionamiento.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bejosano, F., & Alviola, J. N. (2015). Tortillas Wheat Flour and Corn Products. AACC International, 147–158. Cuatrecasas, L. (2012). *Diseño integral de plantas productivas*. Diaz de Santos.
- Herrera, T. C. (2016). *Plan de negocios para la producción de tortillas de harina en la ciudad de Chetumal*, Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de la Zona Maya, 1: 2-3.
- Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-187-SSA1/SE-2021, Productos de maíz y trigo-Denominaciones-Masa y productos derivados de masa-Especificaciones sanitarias-Información comercial y sanitaria-Métodos de prueba. Diario oficial de la Federación. 18 de agosto del 2003.
- Norma Oficial Mexicana, NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. *Diario oficial de la Federación*. 10 de octubre del 2008.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-006-STPS-2014, Manejo y almacenamiento de materiales- Condiciones de seguridad y salud en el trabajo. *Diario Oficial de la Federación*. 17 de diciembre de 2013.
- Osborne, E. (2009). Proteínas de la harina de trigo: clasificación y propiedades funcionales. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 13(38), 27-32.
- Saez Mas, A. (2020) Modelos Y Métodos Para El Diseño De Sistemas De Aprovisionamiento A Líneas De Montaje Con Mezcla De Modelos. Universidad Politécnica de Valencia.
- Tapia, M., & Roa, V. (1998). Tecnologías emergentes para el procesamiento de alimentos. *An. venez. nutr.*, 21-7.

## Estudio computacional de la capacidad antioxidante de tuna (*Opuntia Streptacantha*)

Diana Hernández-Méndez<sup>1</sup>, Lucero Fuentes-Ocampo<sup>2</sup>, Erik Diaz-Cervantes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de alimentos, Centro interdisciplinario del Noreste, Universidad de Guanajuato, 37975 Tierra Blanca, Guanajuato.

<sup>2</sup>Departamento de enfermería y Obstetricia, Centro interdisciplinario del Noreste, Universidad de Guanajuato, 37975 Tierra Blanca, Guanajuato.

### RESUMEN

El presente proyecto está enfocado en evaluar de manera indirecta (empleando una peroxidasa) la capacidad antioxidante que existe en *Opuntia Streptacantha* mediante estudios *in silico*. Dicha especie posee compuestos fenólicos, de los cuales se evaluó su interacción con la proteína glutathione peroxidase, la cual está involucrada en los procesos de oxidación, para observar el acoplamiento de los fitoquímicos y conocer su posible efectividad para retrasar los procesos de oxidación.

**Palabras clave:** *Opuntia Streptacantha*, antioxidantes, *in silico*.

### ABSTRACT

This project is focused on evaluate the antioxidant capacity of *Opuntia Streptacantha* through *in silico* assays. This species has phenolic compounds which were coupled to glutathione peroxidase, which is involved in oxidation processes, to observe the coupling of phytochemicals and know their possible effectivity against the oxidation processes.

### INTRODUCCIÓN

En la actualidad el envejecimiento entre la población mundial es creciente, de manera que se lleva a cabo una vida diferente a la de nuestros ancestros, ya sea en alimentación, estilo de vida, entre otros; para las instituciones e investigadores es un reto buscar formas de retrasar el envejecimiento, el cual es un proceso comienza en el mismo momento en que nacemos y se desarrolla a lo largo de la vida. Este proceso dinámico no ocurre de manera similar en todas las personas, así como tampoco envejecen de igual manera todos los componentes del organismo de un individuo, lo cual infiere que existe una serie de factores que “modulan” este proceso.<sup>1</sup> Los procesos que condicionan el envejecimiento están mayormente relacionados con la influencia ejercida por el medio y su respuesta de adaptación por parte del organismo en cuestión. Un ejemplo muy demostrativo es el que ofrece la regresión de estructuras, celulares y extracelulares, por reacciones de radicales libres. El consumo de oxígeno, del que depende la vida del organismo, condiciona fenómenos de oxidación, cuya magnitud regula el sistema enzimático antioxidante.<sup>2</sup> La inadecuada producción de estas enzimas abre las puertas al daño oxidativo que establece un círculo vicioso de regresión progresiva. Por el contrario, este proceso no avanza si el sistema antioxidante permanece igualmente eficaz durante la vida del adulto.<sup>2</sup> Existen diferentes teorías sobre el envejecimiento pero haciendo énfasis en la teoría de los radicales libres, a la que actualmente se presenta mayor atención, esta explica un proceso progresivo de oxidación y peroxidación que paulatinamente afecta a estructuras celulares y extracelulares, conduciendo a una correspondiente disminución de capacidades funcionales.<sup>2</sup>

Por otra parte, se consideran radicales libres a aquellas moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en su orbital externo, dándole una configuración espacial



que genera una alta inestabilidad (o reactividad). Esto lo hace muy estable, extraordinariamente reactivo y de vida efímera.<sup>3</sup> Por lo anterior se origina el estrés oxidativo, el cual es un desequilibrio entre la producción de ERO Y ERN (especies reactivas de Oxígeno y Nitrógeno) y la capacidad antioxidante de la célula. Los ERO incluyen, entre otras, el anión superóxido, los radicales hidroxilos y el peróxido de hidrogeno; y las ERN incluyen el óxido nítrico, dióxido de nitrógeno y el peroxinitrito, entre otras moléculas. El daño a los tejidos causado por estrés oxidativo se relaciona con diversos fenómenos biológicos, incluyendo el envejecimiento.<sup>4</sup>

La capacidad antioxidante celular está dada por mecanismos a través los cuales la célula anula la reactividad e inhibe la generación de radicales libres. Estos mecanismos son adecuados a la muy corta vida media de los radicales libres y comprenden moléculas pequeñas, endógenas y exógenas con capacidad antioxidante. Los antioxidantes exógenos provienen de la dieta, y dentro de este grupo se incluye la vitamina E, la vitamina C y los carotenoides. Recientemente se han descubierto en algunos alimentos otros antioxidantes no nutrientes, los compuestos fenólicos, la forma de suplir los antioxidantes para proteger el organismo del efecto oxidativo producido por los radicales libres es el consumo de alimentos ricos en vitamina E, vitamina C, carotenoides y otras sustancias que tiene función antioxidante, tales como compuestos fenólicos.<sup>5</sup> En la presente investigación se estará estudiando el destilado extraído de tuna (*Opuntia Streptacantha*). *Opuntia Streptacantha* también llamado nopal cardón, es una especie de planta de la familia de las cactáceas, Crecen en forma de arbusto, pero llega a alcanzar gran altitud formando bosques cerrados en varios lugares, regularmente habita en los climas templados y secos del centro de México y es uno de los nopales productores de tunas. <sup>6</sup> Se han llevado a cabo estudios en los cuales se reporta una actividad antioxidante asociada a su alto contenido de Ácidos fenólicos (3,4-di-O-cafeoylquinic acid, Acido Cafeico, Acido p-cumarico, Ácido protocatecuático, Acido quinico, Acido sirinico) y Flavonoides (Acacetina, Acido cinámico, Apigenina, Cirsilineol, Luteolina, Quercetina), <sup>6</sup> además de tradicionalmente ser utilizado para tratar la gastritis, cólico intestinal y úlceras, el cual podría considerarse como productos con calidad nutracéutica, por su valor nutricional y compuestos antioxidantes.<sup>7</sup>

### **Sistema de defensa antioxidante**

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que, al estar presentes en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentren en las células vivas, como proteínas lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN. Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente- membrana plástica, citosol, núcleo o liquido extracelular. Algunas proteínas que co-adyuvan a controlar la oxidación son: superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa<sup>8</sup>

### **Características de la enzima antioxidante**

En este trabajo utilizamos como blanco la glutatión peroxidasa (GPx), la cual es una de las enzimas que participan en las transformaciones de especies reactivas del oxígeno, catalizando la reducción del peróxido o lipoperóxido, para lo cual utiliza como agente reductor al glutatión reducido; dicha enzima desempeña un importante papel en la defensa antioxidante, por su localización en todos los órganos y tejidos, como parte del sistema antioxidante del glutatión, por lo que está involucrada en la fisiopatología de varias enfermedades.<sup>9</sup> Dicha enzima, selenio-dependiente, cataliza la reducción de peróxido de hidrogeno (L-OOH), usa como agente reductor el glutatión reducido (GSH) y se localiza en: citosol (eritrocitos), lisosomas (neutrófilos, macrófagos y otras células del sistema inmune)

Existen 3 formas de GPx: GPx-p o forma celular, tiene mayor afinidad por el peróxido de hidrogeno que por el lipoperoxido; GPx-p o forma extracelular, presenta afinidad semejante para ambos sustratos; GPx-PH, tiene afinidad específica para los lipoperoxidos. <sup>8</sup>

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Estudio *in silico*

Los ligandos se modelaron y optimizaron con el paquete computacional Avogadro y Gaussian 09<sup>10</sup>, utilizando el campo de fuerza universal (UFF)<sup>11</sup>. Además, la diana biológica seleccionada de descargó del Protein Data Bank (PDB), con el código 2I3Y (Crystal structure of human glutathione peroxidase 5). Se realizó el acoplamiento molecular a través de la función de scoring MolDock con el software Molegror Virtual Docker (MVD)<sup>1213</sup>

#### Calibración de proteína

Se llevo a cabo la calibración del blanco en el MVD<sup>12</sup>, preparando el blanco con la detección de cavidades, seleccionando 5 cavidades, posterior a esto se realizó el *Docking* ciego, el cuál fue en toda la proteína, obteniendo un RMSD del ligando co-cristalizado de 1.218Å, lo cuál indica que nuestro método reproduce datos experimentales.

#### Modelado y Acoplamiento (Molecular Docking)

Posteriormente se modelaron los fitoquímicos principales de la tuna: Ácidos fenólicos (ácido 3,4-di-O-cafeoilquinico, ácido Cafeico, ácido p-cumárico, ácido protocatecuático, ácido quínico, ácido sirinico), Flavonoides (Acacetina, ácido cinámico, apigenina, cirsilineol, luteolina, quercetina), para finalmente ponerlos a interactuar con la proteína calibrada y realizar el *docking* en el paquete MVD.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Calibración de proteína

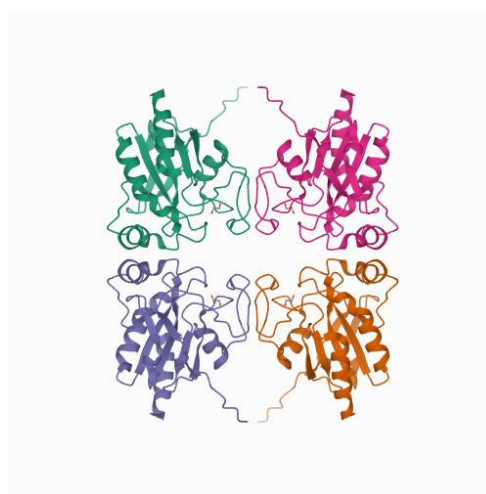


Figura 1. Estructura cristalina de la glutatión peroxidasa

En la Figura 2 se observan los resultados que se obtuvieron al calibrar la proteína de interés (Figura 1), cuyo RMSD fue de 1.218 Å.

### Modelado y acoplamiento molecular *in silico*

Para el modelado de los fitoquímicos en el software Avogadro, se realizó una búsqueda en la literatura de las moléculas de interés, en este caso flavonoles, se insertaron de forma individual cada uno de los átomos que conforman las moléculas estudiadas (Figura 2), para al final optimizarlas y realizar el acoplamiento con la proteína calibrada.

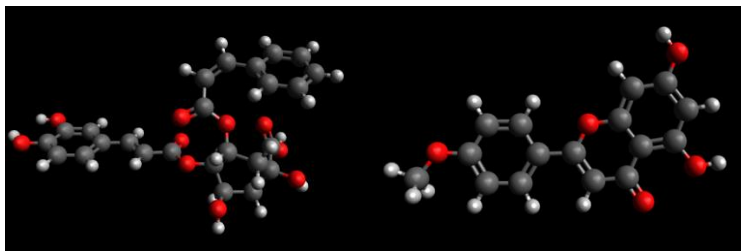


Figura 2. Modelos de 3,4-di-O-cafeoylquinic acid y Acetamina

El acoplamiento molecular específico que se realizó con los ligandos modelados en el sitio activo de la proteína de interés se muestra en la tabla 1, observando que los ligandos se acoplaron de manera similar entre ellos. La tabla 1 muestra las energías de enlace de hidrogeno (Hbond), las interacciones electrostáticas (Electro), y la eficiencia del ligando (LE) obtenidos de los ligandos seleccionados, así como también las energías de Van der Waals (VdW), en este caso interactuaron dos ligandos en 5 corridas cada uno, así se puede evaluar el mejor ligando acoplado en el blanco seleccionado. Considerando la LE (eficiencia del ligando), se puede decir que los ligandos estudiados, la pose [04] del ácido 4-di-O-cafeoilquinico y el ácido cafeico tienen los valores más negativos de LE en la tabla, lo cual los hace ligandos con mejor interacción.

Name	LE	Energía	Hbond	Electro	VdW
[00] Ácido 3,4-di-O-cafeoilquinico	-3.603	-126.131	-8.268	-2.667	-6.062
[01] Ácido 3,4-di-O-cafeoilquinico	-3.885	-135.998	-8.884	0.014	1.039
[02] Ácido 3,4-di-O-cafeoilquinico	-3.354	-117.398	-8.200	1.886	-8.653
[03] Ácido 3,4-di-O-cafeoilquinico	-3.430	-120.084	-6.966	0.790	-33.099
[04] Ácido 3,4-di-O-cafeoilquinico	-3.203	-112.119	-8.642	1.283	-15.344
[00] Ácido cafeico	-6.229	-80.986	-5.855	0.354	-19.176

Tabla 1. Energías de interacción entre los ligandos modelados y la peroxidasa estudiada, LE es la eficiencia del ligando, Hbond significa las interacciones del enlace hidrogeno, Electro las energías electrostáticas y VdW indica la energía de Van der Waals.

## CONCLUSIÓN

Se observo que después de realizar los acoplamiento moleculares, la pose [04] del ácido 3,4-di-O-caffeoilquinico es el ligando más eficiente, debido a su valor más negativo de LE, como se explicó en resultados y discusión. Por lo tanto, se puede concluir que los fitoquímicos que contiene la tuna pudieran actuar de manera indirecta como antioxidante contra el retraso del envejecimiento.

### BIBLIOGRAFÍA

- Herrera de la Uz ME. El envejecimiento Reflexiones acerca de la atención al anciano. *BIOÉTICA. BIOÉTICA*. Published online 2009:4-8.
- Ruiz Torres A. Envejecimiento: Causa, mecanismos y regulacion. *Esp Geriatr Gerontol*. 2001;0:27-33.
- Rodríguez Perón JM, Menedez Lopez J., Trujillo Lopez Y. Radicales libres en la biomedicina y estres oxidativo. *Rev Cuba Med Mil*. 2001;30:15-20.
- Samaro Martinez J, Torres Duran P., Oropeza Juarez M. El glutation y su asociación con las enfermedades neurodegenerativas, la esquizofrenia, el envejecimiento y la isquemia cerebral. *Dep Bioquímica, Fac Med UNAM*. 2011;2:56-67.
- Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de proteccion. *Atenea (Concepción)*. 2006;0:161-172.
- Hfaiedh M, Brahmi D, Gharsallah N, Zourgui L. Phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities of *Opuntia streptacantha* fruit skin. *J Food Meas Charact*. 1:1-15.
- Ramos Hernandez L. Valor nutracéutico y nutricional de aguamiel y miel de maguey obtenida por tres metodos de deshidratación. *Univ Autónoma Chapingo, México Bibl del Dep Ing Agroindustrial*. 2014;1:102-107.
- Venereo gutierrez JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cuba Med Mil*. 2002;31:126-133.
- Cisneros Prego E, Pupo Balboa J, Céspedes Miranda E. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III. Glutación peroxidasa. *Rev Cuba Invest Biomédicas*. 1997;16:10-15.
- Frisch MJ. et al. Gaussian 09, Revisions C.01; Gaussian. *Inc Wallingford, CT, USA*. Published online 2009.
- Rappe AK, Casewit CJ, Colwell KS, Skif WM. a Full Periodic Table Force Field for Molecular Mechanics and Molecular Dynamics Simulations. Published online 1992:10024–10035.
- Yang JM, Chen CC. A generic evolutionary method for molecular docking. Published online 2014:288–304.
- Segura Olvera D. et al. Synthesis of Pyrrolo[3,4-b]pyridin-5-ones via Multicomponent Reactions and In Vitro–In Silico Studies Against SiHa, HeLa, and CaSki Human Cervical Carcinoma Cell Lines. *Molecules*. 2009;0:2–15.

## Evaluación de la toxicidad de pigmentos de *Helianthus annuus* y *Comarostaphylis polifolia*: una perspectiva al etiquetado de alimentos.

Magdalena Díaz-Cruz<sup>1</sup>, Jorge Emmanuel Mejía-Benavides<sup>2</sup>, Carlos J. Cortés-García<sup>3</sup>,

Erik Díaz-Cervantes<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de alimentos, Centro Interdisciplinario del Noreste de la Universidad de Guanajuato, C.P.37975. Tierra Blanca, Guanajuato. \* [m.diazcruz@ugto.mx](mailto:m.diazcruz@ugto.mx).

<sup>2</sup>Departamento de Enfermería y Obstetricia, Centro Interdisciplinario del Noreste de la Universidad de Guanajuato, C.P.37975. Tierra Blanca, Guanajuato.

<sup>3</sup>Laboratorio de Diseño Molecular, Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 58033 Morelia, Michoacán, Mexico

### RESUMEN

Los principales componentes de las tintas son los colorantes y pigmentos, siendo estos últimos de mayor tamaño molecular, por lo tanto, son ideales para elaborar tintas de baja migración de partículas, para etiquetas. Dichos pigmentos, tienden a ser más eficaces, debido a que resisten a los factores externos en mayor proporción respecto a las tintas de colorantes. Las tintas más utilizadas para el impreso de etiquetas son base solvente, base agua y UV. Las tintas pigmentadas tienen mayor resistencia a los rayos ultravioleta y a todos los factores como alta temperatura y humedad, principalmente.

En el presente trabajo se realizó la evaluación de la migración de partículas o evaluación toxicológica de los componentes de una propuesta de tinta, basada en extractos *Helianthus annuus* y *Comarostaphylis polifolia*; lo anterior a partir de *docking* molecular utilizando el *Molegro Virtual Docker*, acoplando pigmentos, resina o monómeros en un fragmento del citocromo p450, para saber la posible reacción de las mismas en el organismo, pudiendo evaluar de manera implícita la toxicidad de estas. Se obtuvieron las interacciones de las energías entre los ligandos y la cavidad seleccionada de la enzima. Todas las poses se acoplaron en el sitio activo de la enzima. Se obtuvieron las eficiencias del ligando (LEs).

**Palabras clave:** Toxicidad, pigmentos, *H. annuus*, *C. polifolia*, *docking*, tintas.

**Key words:** Toxicity, pigments, *H. annuus*, *C. polifolia*, *docking*, inks.

### INTRODUCCIÓN

En la industria de alimentos son de gran importancia los empaques, debido a que estos protegen los alimentos de la degradación por factores externos como temperatura, humedad y agentes contaminantes. La migración de sustancias del empaque hacia el alimento es un fenómeno de transferencia de masa que se produce por la difusión y convección. Los alimentos con alto contenido de ácidos grasos ponen en contacto los esterios en la parte superficial y esos migran hacia el material de empaque y hay migración de los componentes de las tintas (Avendaño et al., 2018). Los alimentos empacados que contienen etiqueta con impresión sobre el material de empaque regularmente son por impresión en off-set flexografía o huecograbado. Es importante que se utilice el material de empaque compatible con el tipo de tintas, además de que estas sean de grado alimenticio para evitar la transferencia de sustancias del etiquetado y tinta impresa al alimento (Pochteca, 2016).

La migración de compuestos de las tintas en los envases y siendo importantes las impresiones tipo set-off, esto puede provocar alteraciones en la inocuidad de los alimentos. La migración de compuestos químicos de los envases transfiere las partículas por proceso submicroscópico de transferencia de masa a causa de la tendencia al equilibrio en el sistema (Peiro, 2018).

En general, las tintas poseen una fase sólida y una líquida. La fase sólida es discontinua y la forman los pigmentos, mientras que la líquida es correspondiente a una fase continua más o menos viscosa, llamada vehículo, barniz o aglutinante. Las principales propiedades de las tintas son dadas por cualidades como: La viscosidad, el color, la intensidad, la tonalidad, brillo, poder cubriente, limpieza del tono (Vite, 2018).

Propiedades reológicas como: viscosidad, resistencia, tack y el secado de la tinta

Las tintas más empleadas son:

- Base solvente
- Base Agua
- UV

### **Tintas base solvente**

El solvente es a base de alcohol y se compone de resinas naturales o sintéticas. Las más utilizadas poliamidas, la nitrocelulosa y poliuretano; plastificantes, aditivos, solventes, pigmentos y dispersantes.

### **Tintas base acuosa**

Se formulan a partir de resinas o barniz, se emplean acrílicas hidrosolubles.

### **Tintas UV**

Empleo de un tipo de tintas que se secan mediante radiación ultravioleta. Las resinas empleadas son derivados acrílicos de alta viscosidad. Con este tipo de tintas no se desprenden compuestos volátiles orgánicos, y estas tintas se pueden imprimir en madera, vidrio y aluminio también (Vite, 2018).

En la tinta flexográfica que es un proceso de impresión empleado para diferentes sustratos de embalaje como cartón, papel y plástico. Las tintas se han mejorado continuamente, desde su MP, solventes y componentes, hasta su toxicidad. Para generar tintas más amigables con el medio ambiente se ha recurrido a tintas vegetales con bajo color, no metales pesados y baja migración de partículas (Avendaño et al., & Vite, 2018).

Las tintas de colorantes se componen de pigmentos solubles en agua, que pueden ser de origen natural (pigmentos de plantas) o de origen sintético (químicos o de materia inerte). Las tintas pigmentadas las cuales contienen pigmentos (moléculas de origen orgánico) encapsulados en una resina sintética y a continuación situados en suspensión en un líquido. Las moléculas de estos pigmentos son mucho más grandes que las de los colorantes. Esta es la denominación para el tipo de tintas de origen natural a partir de los extractos de pigmentos de flores y frutos. Entonces la tinta pigmentada genera una capa encima del sustrato y de esta manera es como trabaja este tipo de tintas, además de que este tipo de tintas soportan los rayos V y son más eficaces son resistentes al agua (Bilbink, 2020).

*H. annuus* conocido como girasol, su fruto tiene forma ovoide; esta semilla se forma a partir del pericarpio que encierra la almendra el pericarpio cáscara se compone por la epidermis, corcho y células esclerénquimáticas. Las células esclerénquima segregan sustancias de coloración negra que tienen alrededor del 76% de hidratos de carbono. Ya esto funciona como un medio de defensa ante la

polilla del girasol contiene flavonoides (Méndez, 2019). El color exterior del pericarpio es entre blanco gris negro marrón y el porcentaje de cáscara o fila en 3 de 40 al 20% (Rocca et al., 2017).

*Comarostaphylis polifolia* es también llamado como madroño o pingüica negra, es un arbusto que se caracteriza por un fruto que en realidad son inflorescencias que se concentran en unidades de 0.4 a 0.8 cm de largo y de 0.4 a 0.9 cm de diámetro, de color rojo en la etapa inmadura y púrpura oscuro o negro al madurar completamente y de acuerdo con otro tipo de frutos que sí han sido investigados este puede contener pigmentos como antocianinas. El madroño negro florece durante todo el año, pero su principal producción es de abril a octubre y fructifica entre junio y noviembre (González & González., 2014).

Los biactivos pigmentados de *Helianthus annuus* y *Comarostaphylis polifolia* se desaprovechan en la industria y en el campo. Por lo tanto, en el presente trabajo se plantea el futuro aprovechamiento para la extracción de pigmentos y formular tintas de baja migración de partículas. Al generar una tinta de grado alimentario para empaque y etiquetas de alimentos, caracterizándola para que cumpla con la mínima migración de partículas hacia el alimento por factores extrínsecos e intrínsecos y así evitar daños a la salud por ingesta de partículas ajenas al alimento como metales pesados, resinas, adhesivos y tintas.

Previo a dicho planteamiento, es necesario realizar la evaluación de la toxicidad de dichos componentes pigmentados, lo cual se realizará a partir de *docking* molecular de los componentes de la tinta; considerando que, si estos se unen al blanco (Citocromo p450), el cual actúa en el organismo como agente desintoxicante, metabolizante de fármacos y venenos con ayuda del oxígeno (Williams et al., 2004).

El citocromo P450 elimina xenobióticos por medio de biotransformaciones que aumentan la hidrofilia en molécula para agilizar la excreción. La reacción se da en 2 fases en la primera modifica el xenobiótico por oxidación, reducción o hidrólisis polarizando los grupos de la molécula. en la segunda fase el sustrato que puede ser un xenobiótico o un metabolito de la reacción de la primera fase se combina con un endógeno y esto eficiente el transporte hasta su excreción. El citocromo se distribuye en los tejidos del organismo por las funciones que estos ejecutan. se encuentran principalmente en tejidos extrae hepáticos (Gallegos et al., 2011).

Los ligandos seleccionados fueron: monómero DPGDA que presenta baja volatilidad y la resina colofonia de extracción de pino que se emplea ampliamente en formulación de tintas de impresión (Telleira et al., 2018 & Alibaba, 2021).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se buscaron en la literatura los principales componentes fitoquímicos de extractos de las plantas de interés, *Helianthus annuus* y *Comarostaphylis polifolia*, y su estructura química. De las estructuras encontradas en los pigmentos de *Comarostaphylis polifolia* y *Helianthus annuus*, se generaron sus estructuras y se modelaron, para posteriormente realizar acoplamiento moleculares a través del programa *Molegro Virtual Docker* y así, reproducir la interacción de los componentes de la tinta (pigmentos, resinas y monómeros) (Bitencourt-Ferreira & de Azevedo, 2019). Para la evaluación de la migración de partículas se utilizó como blanco el Citocromo p450 código PDB:1W0G (Williams et al., 2004).

El acoplamiento de los ligandos (delfinidina, cianidina, ácido fenólico, monómero DPGDA y la resina colofonia) con el blanco se ejecutó por combinaciones distintas dockeando en la cavidad 1 de vol=385 Å.

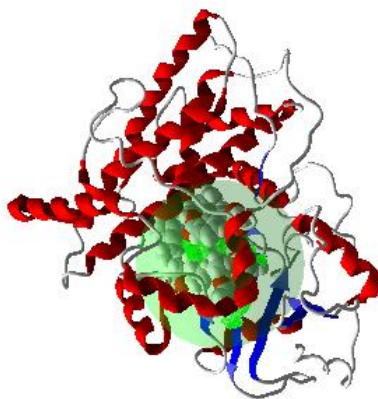
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del *docking* fueron interesantes, pues se esperaba que la interacción Enzima-Pigmentos fuera mejor, pero hubo mejor eficiencia del ligando entre enzima-monómero (**ver Tabla 1**).

	Molécula	E	Hbond	Electro	VdW	LE
	E_M	-110.05	-2.00	-0.79	-0.02	-6.47
	E_M_R	-97.48	-3.03	-0.34	-9.97	-4.64
A	_E_M_R_P	-61.64	-3.25	-1.30	-1.24	-6.84
C		-120.34	-5.51	-1.26	-4.97	-5.73
D		-102.49	-10.72	-0.97	126.56	-4.65
	E_R	-99.34	0.00	0.03	-10.01	-4.73
	E_R_M	-118.12	0.00	0.35	-0.49	-6.94
A	_E_M_R_P	-70.04	-2.19	0.00	-9.05	-7.78
C		-123.83	-6.57	-1.07	-3.85	-5.89
D		-67.39	-5.25	0.64	225.51	-3.06

**Tabla 1.** Principales interacciones entre los ligandos modelados y la enzima Citocromo p450. Interacción toxicológica blanco ligando. E=enzima, M=Monómero DPGDA, R= resina colofonia, P=pigmentos de los cuales C=Cianidina, D=Delfinidina y A=Ácido fenólico.

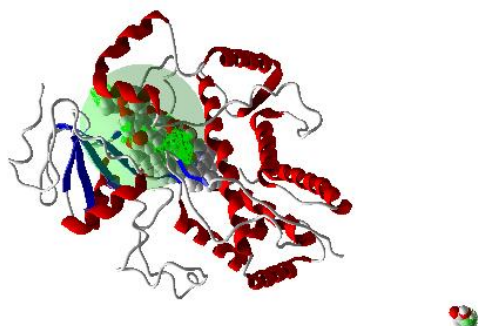
De acuerdo con los valores de LE, hay mejor acoplamiento de la enzima con el monómero, en comparación con la interacción enzima-resina (E-R). No se considera como el mejor acoplamiento el de pigmentos con la enzima y que la proporción de pigmento es mínima respecto al monómero o la resina (**ver tabla 1**).



**Fig. 1.** *Docking* enzima-resina



Sobre la enzima citocromo p450 en la cavidad de mayor volumen se acoplaron los pigmentos (cianidina, delfinidina, ácido fenólico), la resina y el monómero. De los cuales, resultó que, es más eficiente el ligando cuando se une a la enzima directamente con la resina y posteriormente los demás componentes (**Fig. 1**). La eficiencia del ligando E\_R\_M es eficiente con -6.94 kcal/mol y para solo E\_R solo es de -4.73 kcal/mol.



**Fig. 2.** Docking enzima-monómero-resina-pigmento.

Sobre la enzima citocromo p450 en la cavidad de mayor volumen se encuentran unidos los pigmentos (cianidina y delfinidina), la resina y monómero. El ácido fenólico está fuera de la cavidad de la enzima (**Fig. 2**). La eficiencia del ligando es mejor cuando la unión es entre E\_M\_R\_P cuando el pigmento es el ácido fenólico.

## CONCLUSIÓN

La enzima p450 se acopla con fármacos y venenos, actuando como defensa ante sustancias químicas del organismo. En el presente trabajo, los pigmentos, resina y monómero se acoplaron a la enzima de manera eficiente, por lo tanto, esto puede indicar que la enzima seleccionada puede co-adyuvar en la detoxificación de los mismos. De lo anterior, se concluye que, se acopla mejor el monómero a la enzima que los propios pigmentos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Avendaño, E. A., Castillo, E., Sinuco, D. C., Avendaño, E., Castillo, E., & Sinuco, D. (2018). Ensayo de migración global en empaques para alimentos: evaluación de patrones internos alternativos. *Revista Colombiana de Química*, 47(1), 34–40. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v47n1.63859>
- Barragán, M., Aro, J. M., Muñoz, A. E., & Rodríguez, J. (2020). Determinación de antocianinas y capacidad antioxidante en extractos de (*Muehlenbeckia volcánica*). *Rev. de Investigaciones Altoandinas*, 22, 161–169.
- Bilbink. (2020). *Diferencia entre tinta colorante y pigmentada*.
- Bitencourt-Ferreira, G & de Azevedo, W.F. Jr. (2019). Molegro Virtual Docker for Docking. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 149-167. doi:[https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9752-7\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9752-7_10)

- Gallego, A. , Sande, M. A., Marín, A. M., Blanco, S., & González, M. (2011). *Aspectos fundamentales del Citocromo P450* (F. Bandrés, Ed.).
- González, M. S., & González, M. (2014). *Flora del bajío y de regiones adyacentes* (Instituto de Ecología, Ed.).
- Méndez, L. Esperanza. (2019). *Experimentación con colorantes naturales en seda potosina y su posible uso en textiles de Santa María del Río, S.L.P.*
- Peiro, T. (2018). *Determinación de la migración set-off de tinta en vasos de cartón de uso en máquinas expendedoras de café.*
- Pochteca, P. (2016). *Materiales y tintas para empaques alimenticio.*
- Portalfrutícola. (2018). *Los colores de las plantas: en frutos, flores y semillas.*
- Rocca, P., Martino, L., Rausch, A., & Zuil, S. G. (2017). Variabilidad genotípica y ambiental del peso, tamaño y aceite del grano de girasol (*Helianthus annuus* L.) en el Noreste argentino. *Agrotecnia* , 26, 5–16.
- Telleira, N., Villanueva, S., & Henriquez, M. (2018). Estudio de tendencia: Aplicaciones de la Colofonia y sus derivados. *Rev. Ing. UC*, 25.
- Vite, J. C. (2018). *Obtención de Tintas Flexo Screen, para impresión de forma artesanal en fundas de polietileno, a partir de Tintas Flexográficas Base Solvente.*
- Williams, P. A., Cosme, J., Vinkovic, D. M., Ward, A., Angove, H. C., Day, P. J., Vornrhein, C., Tickle, I. J., & Jhoti, H. (2004). 1W0e Crystal structure of human cytochrome P450 3A4. In *RCSB PDB*.

## **Evaluación *in silico* de la interacción de fitoquímicos de la albahaca (*Ocimum basilicum L.*) con un blanco involucrado en estrés oxidativo**

María de los Ángeles Pérez-Sánchez<sup>1,\*</sup>, Marco Antonio García-Revilla<sup>2</sup>, Erik Díaz-Cervantes<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Alimentos, Centro Interdisciplinario del Noreste de la Universidad de Guanajuato, Tierra Blanca, Guanajuato, 37970, México [mdla.perezsanchez@ugto.mx](mailto:mdla.perezsanchez@ugto.mx), [e.diaz@ugto.mx](mailto:e.diaz@ugto.mx)

<sup>2</sup> Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato-36050, México

### **RESUMEN**

Los radicales libres son moléculas que contienen un electrón desapareado, esta característica los hace sumamente reactivos y capaces de modificar a otras moléculas haciéndolas muy reactivas, a través de una reacción en cadena que causa daño oxidativo, en; células y/o tejidos. Cuando el estrés oxidativo no es controlado de manera adecuada por los mecanismos antioxidantes de las células, se acelera el proceso de envejecimiento y se producen diversas enfermedades. En este trabajo se realizó un estudio computacional del acoplamiento molecular de la Glutación peroxidasa humana 5, con ocho de los principales fitoquímicos que contiene la albahaca, con el fin de conocer el sitio y energía de acoplamiento de los compuestos. A partir de los resultados obtenidos se puede observar que todos los compuestos de la albahaca tienen un nivel de acoplamiento de -7 Kcal/mol con el blanco biológico.

**Palabras clave:** Molegro Virtual Docker, ligandos, antioxidantes, albahaca.

### **ABSTRACT**

Free radicals are molecules that contain an unpaired electron, this characteristic makes them highly reactive and capable of modifying other molecules making them very reactive, through a chain reaction that causes oxidative damage in cells and/or tissues. When oxidative stress is not adequately controlled by the antioxidant mechanisms of the cells, the aging process is accelerated, and various diseases occur. In this work, a computational study of the molecular coupling of human Glutathione peroxidase 5 with eight of the main phytochemicals contained in basil was carried out in order to know the site and energy of coupling of the compounds. From the results obtained, it was observed that all basil compounds have a coupling level of -7 Kcal/mol with the biological target.

**KEY WORDS:** Molegro Virtual Docker, ligands, antioxidants, basil.

## INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo ocurre cuando hay un desequilibrio en nuestras células debido a un aumento en los radicales libres y/o una disminución en los antioxidantes. Con el tiempo este desajuste en el equilibrio entre radicales libres y los antioxidantes pueden dañar nuestros tejidos (1). Los radicales libres son moléculas que contienen un electrón no apareado, esta característica los hace sumamente reactivos y capaces de dañar a otras moléculas transportándolas a su vez en moléculas muy reactivas, una reacción en cadena que causa daño oxidativo, desde células hasta tejidos (2). La participación de los radicales libres en la generación de diferentes enfermedades es un fenómeno ampliamente documentado. Se ha demostrado que cuando el estrés oxidativo no es controlado de manera adecuada por los mecanismos antioxidantes de las células y el desequilibrio se mantiene de manera persistente, se acelera el proceso de envejecimiento y se inducen diversas enfermedades crónico-de-generativas., las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo son: cáncer, alteraciones cardiovasculares, artritis reumatoide, daño renal, trastornos oculares, dalo neurológico (Alzheimer y Parkinson), asma, etc. Y además algunas enfermedades metabólicas como: la diabetes. (3-8)

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que, al estar presente en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN. (3,9,10).

El sistema de protección antioxidante involucra diversos procesos y mecanismos encaminados a evitar la oxidación de las estructuras de las células. Estos sistemas funcionan con los antioxidantes producidos en el organismo(endógenos) y con los que se obtienen de los alimentos (exógenos; son compuestos que no se producen en el organismo y por ello requieren ser obtenidos de los alimentos ricos en vitamina C, vitamina E, Flavonoides) (5,8,9).

### **Características de la enzima antioxidante:**

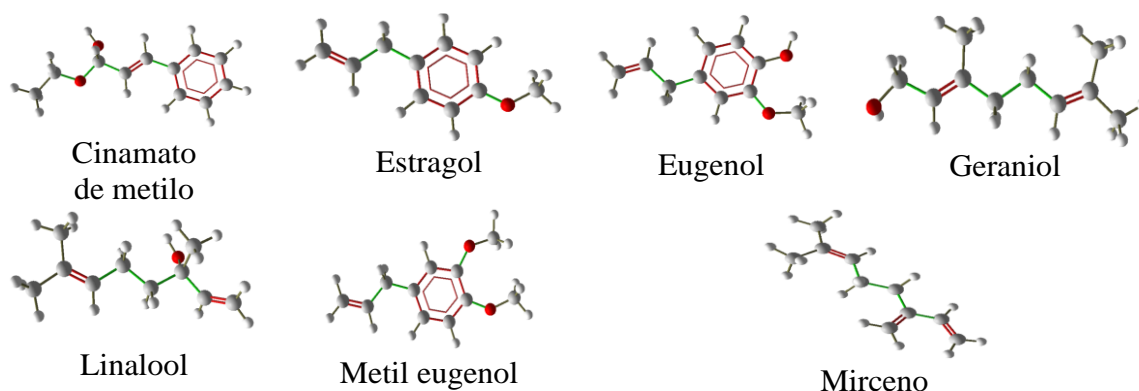
La Glutación peroxidasa: es una enzima selenio (Se) dependiente, que cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno o lipoperóxido, utilizando como agente reductor el glutación reducido. Se conoce que los lipoperóxido son tóxicos en los tejidos animales y que dan lugar a especies reactivas de oxígeno como los radicales peróxidos, que son compuestos indeseables para los organismos vivos. La Glutación peroxidasa, como parte del mecanismo de defensa antioxidante, evita la oxidación de los lipoperóxido, reduciéndolos en presencia de glutación reducido. Esta reacción produce hidróxidos que son elementos potencialmente dañinos y que al oxidarse se convierten en radicales alcohóxicos, para los que no se conoce enzima que los metabolice. Se localiza en: citosol (eritrocitos), lisosomas (neutrófilos, macrófagos y otras células del sistema inmune) (3,4).

Por otra parte, la albahaca (*Ocimum basilicum* L.), comprende más de 150 especies y es considerada uno de los géneros más grande de la familia Lamiaceae, la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) es miembro de esta familia y; es una hierba que crece en muchas regiones al rededor del mundo. Existe un gran número de variedades de albahaca que varían en el color de las hojas (verde o morada) y en aroma; es una hierba de 20 a 50 cm de largo y sus flores son de colores blanco y morado. Tradicionalmente la albahaca ha sido ampliamente utilizada en alimentos como agente saborizante, así como en la perfumería e industrias farmacéuticas. De igual manera en la medicina tradicional sus hojas y flores han sido empleadas como remedio de lagunas enfermedades digestivas y respiratorias. Por otra parte, es fuente de compuestos aromáticos y aceites esenciales con constituyentes biológicos que poseen propiedades insecticidas, nematicidas, fungicidas y antimicrobianas. Asimismo, sus componentes fenólicos y flavonoides han demostrado ser potentes antioxidantes, capturadores de radicales libres y quelantes de metales (6). La composición química del aceite esencial de la albahaca

ha sido sometida a un número considerable de estudios. Hay una extensa diversidad en los constituyentes de este aceite, sin embargo, para los diferentes quimiotipos de *Ocimum basilicum* L, se han informado como constituyentes mayoritarios él; Estragol, Linalool, Cinamato de metilo, Metil eugenol, Eugenol, isoestragol (anetol), Mirceno y Geraniol, entre otros (7).

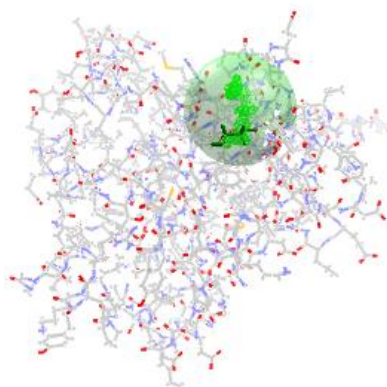
## MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo esta investigación se utilizó el programa Avogadro (11) para modelar los 8 fitoquímicos que contiene la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) los cuales son: Estragol, Linalool, Cinamato de metilo, Metil eugenol, eugenol, Mirceno y Geraniol (7). Como se muestra en la Figura 1.



**Figura 1:** fitoquímicos de la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) modelados en Avogadro.

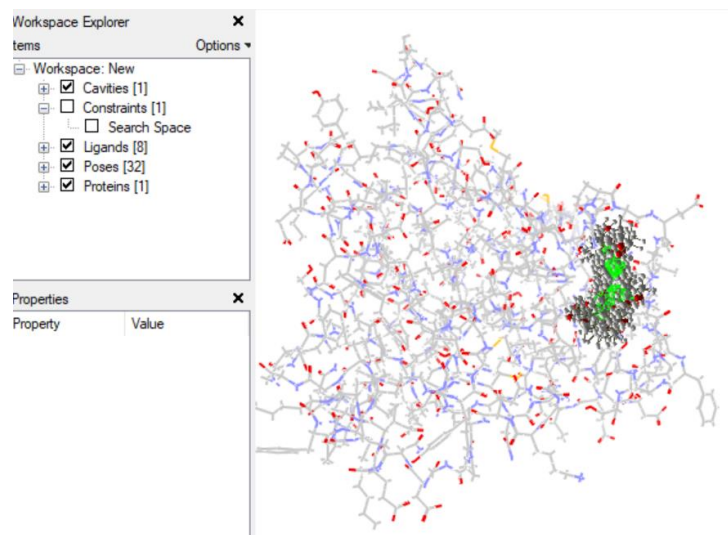
La proteína (blanco biológico) a utilizar fue la glutatión peroxidasa humana 5 (código PDB: 2I3Y) la cual se descargó del Protein Data Bank (PDB)(12), posteriormente se realizó una calibración del acoplamiento molecular en el programa de Molegro Virtual Docker (MVD)(13), como se muestra en la Figura 2.



**Figura 2:** Calibración de la Glutatión peroxidasa.

Una vez obtenido el acoplamiento molecular del blanco biológico se introdujeron los fitoquímicos de la albahaca (*Ocimum basilicum* L.), para posteriormente realizar un acoplamiento molecular de estos

con el blanco biológico y obtener los resultados de cuál es el mejor que se acopla al blanco biológico, como se puede observar en la Figura 3.



**Figura 3:** Glutación peroxidasa acoplada a los fitoquímicos de la albahaca (*Ocimum basilicum L.*)

En la calibración de acoplamiento molecular del blanco biológico (Estructura cristalina del glutación peroxidasa humana 5) se obtuvo un RMSD de 1.82. Con la pose podemos decir que es válido este valor ya que se encuentra en el rango de 0 a 2 Å, siendo válido el método.

Los resultados del acoplamiento molecular de los compuestos fitoquímicos de la albahaca (*Ocimum basilicum L.*) se muestran en la Tabla 1.

Molécula	E	$H_{Bond}$	Electrostatic	LE
Cinamato de metilo	-79.64	-4.54	0.08	-6.12
Estragol	-68.93	-1.15	-0.00	-6.26
Eugenol	-70.26	0.00	-0.86	-5.85
Geraniol	-74.97	-2.98	-0.65	-6.81
Linalool	-77.14	-2.5	0.13	-7.01
Metil eugenol	-80.37	0.00	-0.95	-6.18
Mirceno	-71.93	0.00	0.11	-7.19

**TABLA 2:** Resultados de acoplamiento molecular de los fitoquímicos de la albahaca (*Ocimum basilicum L.*) en el blanco biológico. E(energía), Hbond(interacciones de los enlaces de Hidrogeno), Electrostatic(energías electrostáticas), LE(eficiencia del ligando).

Los valores de la tabla 2 muestran los resultados obtenidos de la eficiencia de los ligandos, para evaluar el que mejor se acopla. Se puede observar que el fitoquímico de la albahaca (*Ocimum basilicum L.*) que mejor se acopla al blanco biológico es el Mirceno con un valor de LE de -7.19 Kcal/mol. Esto al parecer al tamaño de la molécula, más que a interacciones electrostáticas o enlaces de hidrógeno.

## CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos se concluye que el glutatión peroxidasa humana 5 (blanco biológico) se pudo calibrar de manera adecuada, con un RMSD de 1.82 Å. De igual manera, se obtuvo que el fitoquímico de la albahaca (*Ocimum basilicum L.*) que mejor se acopla a la proteína es el mircenol con un valor de -7.19 Kcal/mol a diferencia de los demás fitoquímicos de la albahaca (*Ocimum basilicum L.*), que tienen valores negativos a partir de -5.

Por lo que se puede decir que los compuestos que contiene la albahaca (*Ocimum basilicum L.*) nos pueden ayudar a reducir la probabilidad de que sufran alguna enfermedad derivada del estrés oxidativo, pudiendo ser un buen prospecto nutracéutico.

### BIBLIOGRAFÍA

ENVIRONMENTAL HEALTH SCIENCE. (2012). ¿Qué es el Estrés Oxidativo? Michigan: COEC.

Dorado Martínez, C., & Rugerío Vargas, C. (2003). Estrés oxidativo y neurodegeneración. Fac Med UNAM.

Díaz Soto, D. (2002). DAÑO OXIDATIVO, RADICALES LIBRES Y ANTIOXIDANTES. Instituto Superior de Medicina Militar, 1-8.

Cisneros Prego, D., & Pupo Balboa, D. (1997). Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III. Glutatión peroxidasa. Cubana Invest Bioméd.

Jaramillo Juárez, F., & Valdivia Flores, A. (2016). FUNDAMENTOS DE ESTRÉS OXIDATIVO CELULAR. México: Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Cardoso Urgate, G., & Sosa Moreles, M. E. (2012). Propiedades del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum L.*) y sus aplicaciones en alimentos. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos, 54-65.

Rivas, K., Rivas, C., & Gamboa, L. (2015). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum L.*). Multiciencias, 281-289.

Elejalde Guerra, J. (2001). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. Medicina Interna del Hospital de Narra.

Viada Pupo, E., Gómez Robles, L., & Camaña Marrero, I. R. (2017). Estrés oxidativo. Correo Científico Médico.

Sánchez-Valle, V., & Méndez-Sánchez, N. (2013). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Departamento de Investigación Biomédica, Fundación Clínica Médica Sur., 161-168.

D Hanwell, M., E Curtis, D., C Lonie, D., Vandermeersch, T., Zurek, E., & R Hutchison, G. (13 August 2012). Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. Revista de Cheminformatics.

Kavanagh, K. J. (2006). Estructura cristalina de la glutatión peroxidasa humana 5. Protein Data Bank (PDB).

Molegro ApS. (2005–2008). molegro virtual docker. Copyright ©.

## Evaluación de los compuestos bioactivos del aceite de romero (*Rosmarinus officinalis L.*) como conservador alternativo

Isela Contreras-Hernández<sup>1</sup>, Marco A. Castillo-Campohermoso<sup>2</sup>, Erik Díaz-Cervantes<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Alimentos, Centro Interdisciplinario del Noreste de la Universidad de Guanajuato, Tierra Blanca, Guanajuato C.P. 37975, México.

<sup>2</sup>Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). REINIECYT 1602690. Departamento de Biociencias y Agrotecnología, Blvd. Enrique Reyna No. 140. Colonia San José de los Cerritos. Saltillo, Coahuila, México, C.P. 25294

\*Correspondencia: [i.contrerashernandez@ugto.mx](mailto:i.contrerashernandez@ugto.mx)

### RESUMEN

En el presente trabajo se desarrolló la evaluación de algunos de los compuestos bioactivos del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis L.*), como una alternativa de conservación de alimentos. La evaluación de los compuestos se realizó con el software Molegro Virtual Docker. Se evaluaron los ligandos y el blanco biológico seleccionado (borneol deshidrogenasa de la *Salvia rosmarinus* con NAD<sup>+</sup> como cofactor) para determinar el efecto antioxidante y antimicrobiano que tienen los compuestos. Específicamente se estuvo trabajando con las moléculas de acetato de bornilo, ácido carnosico, ácido rosmarico, alcanfor, alfa-pineno y carnosol (fitoquímicos del romero), los cuales interactuaron con el blanco biológico que fue el borneol deshidrogenasa de la *Salvia rosmarinus*. Se demostró que el acetato de bornilo tiene interacción más favorable, teniendo una eficiencia del ligando más negativa, respecto a los demás, -6.09 kcal/mol.

**Palabras clave:** Aceite de romero, Antioxidante, Ligandos, docking molecular.

### ABSTRACT

In the present work, the evaluation of some of the bioactive compounds of the essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) was developed as an alternative for food preservation. The evaluation of the compounds was carried out with the Molegro Virtual Docker software. The ligands and the selected biological target (borneol dehydrogenase from *Salvia rosmarinus* with NAD<sup>+</sup> as a cofactor) were evaluated to determine the antioxidant and antimicrobial effect of the compounds. Specifically, they were working with the molecules of bornyl acetate, carnosic acid, rosmarinic acid, camphor, alpha-pinene, and carnosol (phytochemicals from rosemary), which interacted with the biological target that was borneol dehydrogenase from *Salvia rosmarinus*. It was shown that bornyl acetate has a more favorable interaction, having a more negative ligand efficiency than the others, -6.09 kcal/mol.

**Key words:** Rosemary oil, Antioxidant, Ligands, molecular docking.



## INTRODUCCIÓN

El romero (*Rosmarinus officinalis L.*) es una planta aromática perteneciente a la familia de las *Lamiaceae*. La planta de romero mide aproximadamente de 50 a 150 cm de altura, sus hojas pueden mediar hasta 3 cm de largo y 4 mm de ancho (Borges *et al.*, 2018).

Los principales principios activos se encuentran en las hojas de la planta. Las hojas contienen de 0,5 a 2,5% de aceite esencial (Elyemni *et al.*, 2019). Los compuestos que prevalecen en el aceite son flavonoides, terpenoides, monoterpenos, diterpenos y triterpenos (Ali *et al.*, 2019).

El aceite de romero se caracteriza por ser un líquido de color amarillento, transparente y no tan espeso que tiene un olor y sabor alcanforado (Basheer, 2018). Las hojas de romero están constituidas por monoterpenos como 1,8-cineol, alfa-pineno, alcanfor, alfa-terpineol, canfeno, borneol, acetato de bornilo, limoneno, linalol, mirceno, verbenona (Ali *et al.*, 2019).

El aceite de las hojas de romero es caracterizado por tener una alta actividad antimicrobiana. La actividad antimicrobiana de los extractos y aceite esencial del romero es principalmente atribuida a los siguientes compuestos:  $\alpha$ -pineno, el acetato de bornilo, el alcanfor y el 1,8-cineol (Ebrahimi *et al.*, 2020).

El uso potencias antioxidante del extracto de romero ha permitido su uso de forma regular en el control de la oxidación de lípidos presentes en alimentos (Brown *et al.*, 2019). Al interrumpir las reacciones en cadena de los radicales libres, permite aplicaciones como conservante natural en alimentos (Huang *et al.*, 2020).

El conservante regularmente retarda y genera un poder antioxidante que evita cambios en los alimentos, generados principalmente por los microorganismos, enzimas y reacciones químicas (Angioni *et al.*, 2004).

La incorporación de dicho compuesto a a ciertos alimentos, como embutidos, tendrá fines antimicrobianos sin que este dañe negativamente las condiciones sensoriales, nutritivas y de calidad del producto final (Castano *et al.*, 2010).

Por otra parte, en el aspecto de evaluación antioxidante, tenemos que analiza las deshidrogenasas, las cuales son enzimas pertenecientes a la familia de las óxidorreductasas. Las oxidorreductasas catalizan reacciones donde una molécula dona electrones o átomos de hidrógeno y otra los recibe produciéndose un cambio en los estados de oxidación de ambas. Estas reacciones requieren la presencia de distintos tipos de coenzimas que se encargan de donar o aceptar los electrones y los átomos de hidrógeno que las oxidorreductasas añaden o quitan a sus sustratos.

El grupo del borneol deshidrogenasas (BDHs) pertenecen a la superfamilia de alcohol deshidrogenasas reductasas de cadena corta (SDRs). Algunos borneoles deshidrogenasas son capaces de catalizar reacciones de reducción.

Las deshidrogenasas de tipo borneol de cadena corta (BDH) conocidas de plantas carecen de la especificidad y estabilidad. La estructura tridimensional de la deshidrogenasa de cadena corta de tipo borneol es anantioespecífica, los estudios de acoplamiento conducen a la identificación de una bolsa hidrofóbica en las enzimas que juega un papel crucial en la discriminación estereoscópica de los monoterpenoides de tipo transmitido. La resolución cinética del borneol e isoborneol se pueden integrar fácilmente en la ruta sintética existente desde el Alfa-pineno hasta el alcanfor, lo que permite la síntesis fácil de monoterpenos ópticamente puros de una fuente renovable abundante (Beuchat, 2001).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron los compuestos bioactivos presentes en las hojas de romero con ayuda del programa Molegro Virtual Docker, las moléculas seleccionadas fueron seis, acetato de bormilo, ácido carnosico, ácido rosmarico, alcanfor, alfa-pineno y carnosol, las cuales se modelaron en el software Avogadro para posteriormente poder trabajar con ellas en el software Molegro virtual Docker. En este último se evaluarán las moléculas seleccionadas del aceite esencial de romero empleando como blanco biológico la borneol deshidrogenasa. Este blanco fue seleccionado debido a que las deshidrogenasas son enzimas capaces de catalizar la oxidación redox de un sustrato, involucrando  $\text{NAD}^+$ , coenzimas que participan en el metabolismo redox, como moléculas transportadoras de electrones en los procesos metabólicos. El proceso fue el siguiente:

1. Se modelan las moléculas de los compuestos del romero en el software Avogadro.
2. El blanco biológico seleccionado se descargó del Protein Data Bank (PDB) y se realizó el acoplamiento molecular a través de la función de evaluación MolDock, con el software Molegro Virtual Docker (MVD).
3. Calibración y acoplamiento

Se lleva a cabo la calibración del blanco biológico con ayuda del software Molegro Virtual Docker. El blanco biológico seleccionado fue importado a Molegro virtual Docker en formato PDB, se inició preparando el blanco biológico con la detección de cavidades, posteriormente se seleccionó el ligando co-crystal (co-cristalizado en la proteína) y la cavidad con volumen de  $242.176 \text{ \AA}^3$  para posteriormente realizar el Docking. Para la correcta calibración se emplearon  $0.20 \text{ \AA}$  en Grid resolution(A), y así obtener un valor de RMSD entre 0 y 2. Cuando se obtiene la primera calibración con el valor de RMSD entre el valor específico se realizó nuevamente una segunda corrida empleando el ligando co-crystal con los ligandos que son las moléculas de romero en cinco corridos cada uno, finalmente se obtuvieron los resultados en una tabla, los resultados son evaluados para determinar que ligando interactúa mejor con el blanco seleccionado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Calibración

Al calibrar el blanco biológico, se obtuvo un  $\text{RMSD}=1.55$ , el cual se encuentra dentro del rango válido.

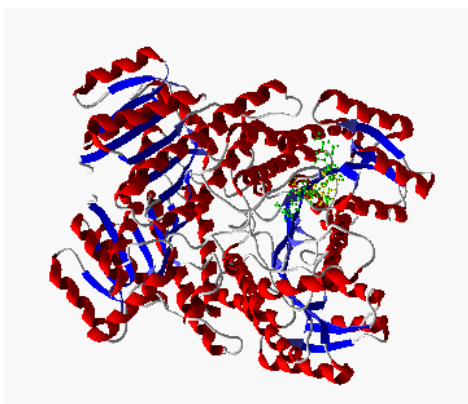
### Docking Molecular

El acoplamiento molecular específico que se realizó con las moléculas en el sitio activo se muestra en la tabla 1 y en la Figura 1. La tabla muestra las interacciones de enlace hidrógeno, las energías electrostáticas, las energías de Van der Waals y la eficiencia del ligando (LE, por su acrónimo en inglés), el cual a valores más negativos es mejor, debido a que se traduce como la energía libre de Gibbs que aporta cada átomo del ligando a la interacción blanco-ligando. En esta tabla, interactuaron seis ligandos en cinco corridas cada uno, para así evaluar el mejor ligando acoplado en el blanco seleccionado.

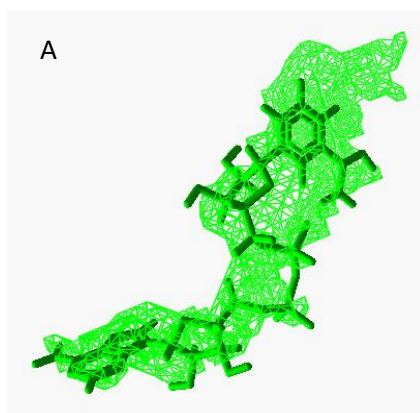
La tabla 1 muestra que el Acetato de bormilo presentó la mejor eficiencia del ligando  $-6.09 \text{ kcal/mol}$ . Gracias a su tamaño más pequeño y mejor energía de interacción, en términos termodinámicos.

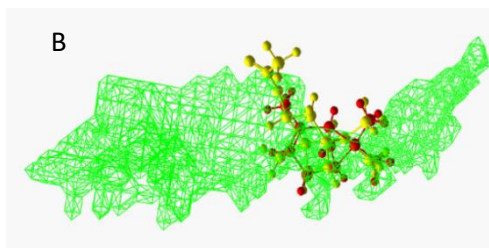
Molécula	Energy	H Bond	Electro	VdW	LE
<b>Acetato de bornilo</b>	<b>-85.31</b>	<b>-2.04</b>	<b>0.83</b>	<b>-28.19</b>	<b>-6.09</b>
Ácido carnósico	-109.91	-8.15	0.00	-39.45	-4.57
Ácido rosmárico	-128.05	-16.67	-0.14	-31.80	-4.92
Alcanfor	-48.60	-5.00	0.00	-20.66	-4.41
Alfa-pineno	-56.05	0.00	-0.06	-21.16	-5.60
Carnosol	-96.72	-4.94	0.07	-38.56	-4.03
Co-crystal	-197.89	-25.26	-9.69	-12.02	-4.49

**Tabla 1.** Energías de interacción entre los ligandos modelados y el blanco biológico. HBond son las interacciones de enlace de hidrógeno, Electro son las energías electrostático, VdW indica la energía de Van der Waals y, LE es la eficiencia del ligando.



**Fig.1.** Acoplamiento del ligando co-crystal y el acetato de bornilo con la proteína.





**Fig.2.** Sitio catalítico de la proteína (A) con el ligando co-crystal y (B) los dos mejores ligandos que interactúan en el sitio catalítico de la proteína.

En la figura 2 se muestran los principales ligandos estudiados en este trabajo, los cuales son candidatos a conservante, considerando que se tienen que hacer pruebas de oxidación a nivel mecanocuántico y posteriormente pruebas experimentales.

## CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados, el extracto de romero podría presentar capacidad antioxidante, al tener una alta interacción el acetato de bornilo con la oxidasa seleccionada, con valor de LE de -6.09kcal/mol. Esto nos lleva a considerar dicho extracto de romero como un prospecto en la conservación de alimentos, específicamente siendo antioxidante, proporcionando a la vez un olor y un sabor característico al producto y por ende mayor efectividad en las propiedades organolépticas del producto final.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ali, A., Chua, B. L. & Chow, Y. H. (2019). An insight into the extraction and fractionation technologies of the essential oils and bioactive compounds in *Rosmarinus officinalis* L.: Past, present and future. *Trends in Analytical Chemistry*, 188, 338-351.
- Angioni, A., Barra, A., Cereti, E., Barile, D., Coisson, J. D., Arlorio, M., Dessi, S., Coroneo, V & Cabras, P. (2004). Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. *J Agr Food Chem.* 2004 (11): 3530 -3535.
- Basheer, A. I. (2018). Effect of alcoholic extract of rosmarinus against some type of enterobacteriaceae. *Tikrit Journal of Pure Science*, 23, 18-21.
- Beuchat, L.R. (2001). Control of foodborne pathogens and spoilage microorganisms by naturally occurring antimicrobials. En: *Microbial Food Contamination*. Wilson CL, S Droby. (Ed.). CRC Press. London, UK. Chap. 11: 149-169.
- Borges, R. S., Sánchez, B. L., Matias, A. C., Keita, H. & Tavares, J. C. (2018). *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. *Journal of Ethnopharmacology*, 229, 29-45.
- Brown, N., John, J. A. & Shahidi, F. (2019). Polyphenol composition and antioxidant potential of mint leaves. *Food Production, Processing and Nutrition*, 1(1): 1-14.

- Castano P, Hader I; Ciro G, Gelmy; Zapata M, José E & Jimenez R, Silvia L, (2010). Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de Rosmarinus Officinalis l. sobre algunas bacterias de interés alimentario. *SciELO*,17(2):149-154.
- Ebrahimi, E., Haghjou, M., Nematollahi, A. & Goudarzian, F. (2020). Effects of rosemary essential oil on growth performance and hematological parameters of young great sturgeon (*Huso huso*). *Aquaculture*, 521, 1-6.
- Elyemni, M., Louaste, B., Nechad, I., Elkamli, T., Bouia, A., Taleb, M., Chaouch, M. & Eloutassi, N. (2019). Extraction of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. by two different methods: Hydrodistillation and Microwave assisted hydrodistillation. *The Scientific World Journal*, 1-7.
- Hammer, K.A., Carson, C.F & Riley, T.V, (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.* 86 (6): 985-990.
- Huang, M., Wang, H., Song, X & Zhou, G. (2020). Effects of nanoemulsion-based edible coatings with composite mixture of rosemary extract and  $\epsilon$ -poly-Llysine on the shelf life of ready-to-eat carbonado chicken. *Food Hydrocolloids*, 102, 1-9.
- Sik, B., Hanczné, E. L., Kapcsándi, V. & Ajtony, Z. (2020). Conventional and nonconventional extraction techniques for optimal extraction processes of rosmarinic acid from six Lamiaceae plants as determined by HPLCDAD measurement. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 184, 1-8.

## Nanomateriales transportadores de capsinoides como alternativa para inhibir *Fusarium oxysporum*

Verónica Padrón-Vázquez<sup>1</sup>, Vicente González-Rodríguez<sup>2</sup>, Ana Isabel Mireles-Arriaga<sup>3</sup>, Jorge Emmanuel Mejía-Benavides<sup>4</sup>, Erik Díaz-Cervantes<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Alimentos, Centro Interdisciplinario del Noreste (CINUG), Universidad de Guanajuato, Tierra Blanca, Guanajuato 37975, Mexico. e.diaz@ugto.mx\*

<sup>2</sup>División de Materiales Avanzados, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, Camino a la Presa de San José, 2055, San Luis Potosí, S. L. P., Mexico.

<sup>3</sup>Departamento de Agronomía, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato Campus Irapuato-Salamanca, 36500, Irapuato, Guanajuato, México

<sup>4</sup>Departamento de Enfermería y Obstetricia, Centro Interdisciplinario del Noreste (CINUG), Universidad de Guanajuato, Tierra Blanca, Guanajuato 37975, Mexico.

### RESUMEN

El objetivo del presente trabajo es determinar el uso de nanopartículas de dióxido de silicio y liposomas de lecitina de soya, transportadoras de una familia de *Capsinoides*, en la inhibición de *Fusarium oxysporum*. Considerando que dicho hongo comúnmente ataca a *S. lycopersicum* (jitomate). Lo anterior a partir de métodos basados en química computacional, específicamente Docking molecular. Los resultados muestran que el mejor vehículo es la fosfatidilcolina (componente principal de los liposomas de lecitina de soya) transportando la dihidrocapsaicina.

**Palabras clave:** Dióxido de Silicio, Lecitina de Soya, Capsinoides, *Fusarium oxysporum*, *Solanum lycopersicum*, Liposomas.

### ABSTRACT

This work aims to determine the use of silicon dioxide nanoparticles and soy lecithin liposomes, carriers of a family of Capsinoids, in the inhibition of *Fusarium oxysporum*. Considering that said fungus commonly attacks *S. lycopersicum* (tomato). The above methods are based on computational chemistry, specifically Molecular Docking. The results show that the best vehicle is phosphatidylcholine (the main component of soy lecithin liposomes) which transports dihydrocapsaicin.

**Key words:** Silicon dioxide, Soja-lecithin, Capsinoids, *Fusarium oxysporum*, *Solanum lycopersicum*, liposomes.

## INTRODUCCIÓN

La siembra intensiva de algunas especies, sumada al desequilibrio causado por las malas prácticas que el ser humano emplea contra las plagas ha llevado a que algunas de ellas presenten gran importancia para varios cultivos. Entre estas prácticas sobre sale el uso desmedido de insecticidas los cuales regulan las poblaciones de insectos en la naturaleza. Las plagas surgen de alteraciones de tipo ecológico.

Para contrarrestar esta situación, se deben buscar alternativas que no dañen la planta, ecológicas y económicas, que cumplan con buenas prácticas del manejo integrado de plagas (MIP), el diagnóstico fitosanitario cumple un papel fundamental, también la identificación de las especies de plagas que se desea contrarrestar.

Las plagas agrícolas corresponden a animales (insectos, ácaros, babosas, nematodos, roedores, aves, etc.), patógenos y malezas, las cuales afectan los bienes de la especie humana. Implica desde daños menores que reducen la calidad y valor del producto o cultivo.

Uno de los principales bioactivos que se pretende co-adyuven con el control de plagas es la denominada capsaicina. “La *capsaicina* es un alcaloide natural derivado de los chiles que es responsable de su sabor picante. Es un compuesto soluble en grasa (*lipofílicos*) sin olor que se absorbe rápidamente a través de la piel. (Hayman et al., 2008). Es importante destacar que los compuestos bioactivos del chile jugaran un papel importante es en esta investigación.

El chile piquín, como componente del matorral submontano del noreste de México, es una planta anual que también crece y se desarrolla de manera continua en zonas tropicales. Además de los usos culinarios se ha reportado su actividad en problemas cardiovasculares, enfermedades crónicas degenerativas, estimulante, digestiva y colerético, así como su capacidad de reducir los riesgos de contraer cáncer y como bactericida. Ante esta diversidad de aplicaciones y en busca de alternativas que contribuyan a mejorar la calidad de la producción agrícola, se plantea la evaluación de la actividad biológica de extractos etanólicos de frutos de chile piquín (*Capsicum annuum L. var aviculare*) y de capsaicina.

Los *liposomas* son vesículas, generalmente de fosfolípidos, que tienen la capacidad de encapsular parte del disolvente en el cual fueron elaborados, así como moléculas de interés biológico: fármacos, principios activos de plantas, ADN, proteínas como la hemoglobina, anticuerpos, entre otras.

La necesidad de utilizar liposomas como forma farmacéutica es porque debido a que sus componentes son inocuos, biodegradables, dan protección y estabilidad a los componentes que encapsulan, se elaboran fácilmente, y tienen la capacidad de transportar y ceder principios activos terapéuticos (Díaz-Cervantez et al., 2009).

La *capsaicina* se usa actualmente para evitar el dolor en el área neurológica, además destaca su uso convencional como antifúngico y entra otros usos. (Moreno et al., 2012)

La siembra de chile habanero en México aumentó en años recientes. La demanda de esta hortaliza a nivel mundial exige la aplicación de nuevas técnicas que permitan mejorar su rendimiento y calidad. (Ramirez et al., 2016) Es de gran importancia mencionar esto debido que esta especie es una de las principales en nuestra investigación

Además de su uso como alimento o condimento, el chile habanero (*Capsicum chinense*) y otros chiles menos picantes son utilizados en medicina, debido a la presencia de unos compuestos denominados

*capsaicinoides*. Los *capsaicinoides* son compuestos fenólicos, amidas derivadas de ácidos grasos, que tienen entre nueve y 11 átomos de carbono. Como ya se dijo, son responsables del picor de algunos chiles. El 90 por ciento de este picor está dado principalmente por dos *capsaicinoides*: la capsaicina y la *dihidrocapsaicina*.

Las propiedades antioxidantes no sólo deben estudiarse por sus interacciones químico-biológicas, sino por su función en el deterioro oxidativo que afecta a los alimentos, las plantas y sus cultivos.

La nanotecnología (NT) ha surgido como un avance tecnológico-científico que puede transformar sectores de la agricultura proporcionando herramientas novedosas para la detección molecular de estrés biótico y abiótico. Por lo tanto, los liposomas que son compuestos que pueden ayudarnos a combatir las plagas desde la célula contribuyendo a la planta para la reducción de plagas, la *capsaicina* siendo un compuesto antifúngico.

Los *liposomas* al parecerse a las membranas celulares poseen ventajas como el poder contener sustancias tanto hidrosolubles como liposolubles. Poseen una alta afinidad por las membranas celulares por lo que el encapsulamiento de un principio activo generara una mayor absorción y una acción localizada más duradera, cinética lenta y por lo tanto una menor toxicidad, siendo por lo que podrían considerarse como vehículos para liberar en lugares específicos los principios activos precisos. (Sánchez-Acosta, 2010)

Los antioxidantes son sustancias químicas que se caracterizan por impedir o retrasar la oxidación de diversas sustancias principalmente de los ácidos grasos cuyas reacciones se producen tanto en los alimentos como en el organismo humano, en el cual puede provocar alteraciones fisiológicas importantes desencadenantes de diversas enfermedades. (Zamora, 2007).

Un objetivo o diana biológicos es cualquier biomolécula dentro de un organismo vivo al que se dirige y/o se une alguna otra entidad, lo que desencadena un cambio en su comportamiento o función. “Las interacciones complejas y dinámicas entre los ligandos y los receptores conducen a cambios en nuestra percepción sensorial o estado de ánimo”. (Pluskal & Weng, 2018).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Estudio *in silico*

El primer paso que se realizará en el presente proyecto es el modelado de las moléculas de interés, *capsaicina*, *derivados de capsaicina* y sistemas modelo de nanopartículas. De estas últimas se utilizará un modelo finito de la pared de un *liposoma*, así como un fragmento de compuesto de *dióxido de silicio*, para poder evaluar la interacción de dichas moléculas de interés. El modelado mencionado se realizará haciendo uso del software computacional, *Avogadro*

El método seleccionado será, a partir del programa *Molegro Virtual Docker*, (Ferreira-Bitencourt & Azevedo- Filgueira, 2019), MVD (Ferreira-Bitencourt & Azevedo- Filgueira, 2019). Cabe destacar que, el blanco seleccionado se descargará del protein data bank, al cual se le harán correcciones de disolvente, pH y cargas.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Figura 1 y 2, se observan las moléculas de capsaicina, dihidrocapsaicina, homocapsaicina y la norhidrocapsaicina optimizadas.

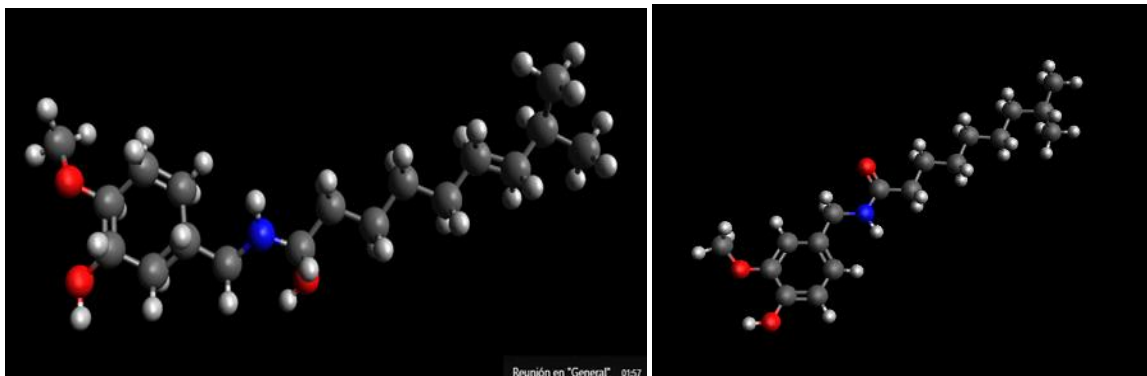


Figura 1. Moléculas de *Capsaicina* y *Dihidrocapsaicina*.

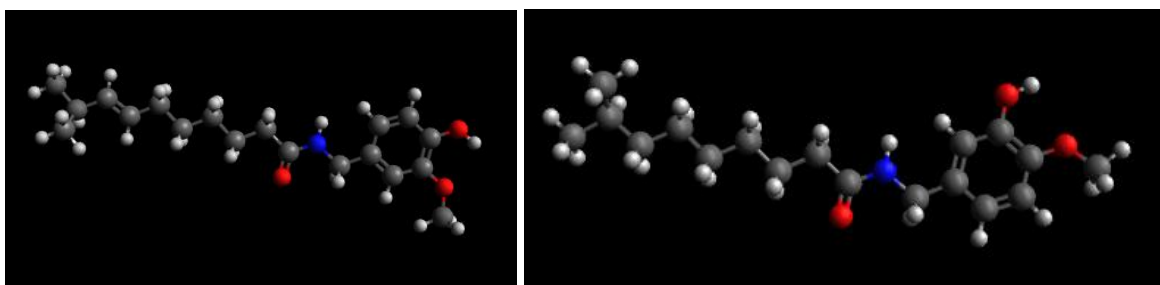


Figura 2. Molécula de la *Homocapsaicina* y la *Norhidrocapsaicina* optimizadas.

Los *liposomas* fueron utilizados para mimetizar membranas celulares. A medida que los estudios avanzaban se encontraron nuevas aplicaciones, entre las que destaca la vehiculización de principios activos en el sector agronómico por su prolongado tiempo de circulación, Su versatilidad los ha convertido en sistemas de gran interés biológico, y en la industria agroalimentaria. (Técnicas de Obtención de *Liposomas*, n.d.)

A continuación, se analizaron los dos principales componentes de los liposomas de lecitina de soya, fosfatidilcolina y fosfadiletanolamina, ver Figura 3. Estas se pusieron a interactuar con las moléculas *capsinoides*.

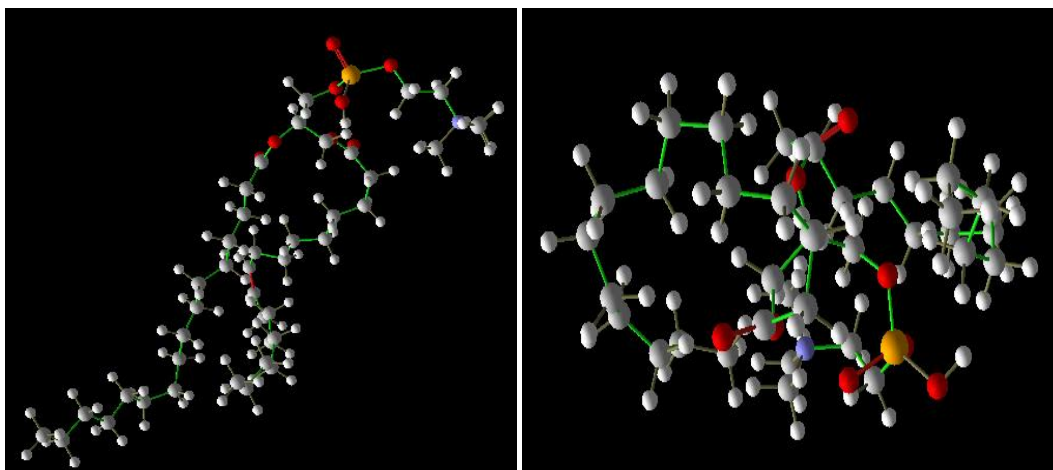


Figura 3. Podemos observar las moléculas de *Fosfatidilcolina* y *Fosfadiletanolamina*.

Después de modelar todas las moléculas necesarias para interactuar en nuestra simulación en *Molegro Virtual*, pasaremos a nuestra parte de simulación computacional y veremos como interactuaron las moléculas y cuales son más afines con las proteínas.

La Tabla. 1 muestra todos los resultados de las moléculas de interés, con los modelos de dióxido de silicio, liposomas y la cutinasa de *F. oxysporum*.

Dióxido de silicio	Hbond	Electro	Energy	LE1	VdW
Ibuprofeno	0.00	0.00	-61.46	-4.10	0.00
Capsaicina	0.00	0.00	-74.16	-3.37	0.00
Dihidrocapsaicina	0.00	0.00	-77.11	-3.51	0.00
Homocapsaicina	0.00	0.00	-74.88	-3.26	0.00
Nordihidrocapsaicina	0.00	0.00	-75.52	-3.43	0.00

Cutinasa de <i>F. oxysporum</i>	HBond	Electro	Energy	LE1	VdW (LJ12-6)
co-cristal	-6.37	0.00	-53.82	-6.73	-15.62
Homocapsaicina	-2.25	0.06	-118.52	-5.15	-36.40
Nordihidrocapsaicina	-5.15	-0.38	-108.50	-4.93	-33.24
Capsaicina	-3.23	-0.10	-112.95	-5.13	-38.24
Dihidrocapsaicina	-2.97	-2.00	-114.80	-5.22	-24.33

Fosfatidilcolina	HBond	Electro	Energy	LE1	VdW
Homocapsaicina	0.00	0.00	-77.04	-3.35	0.00
Homodihidrocapsaicina	0.00	0.00	-78.35	-3.41	0.00
Capsaicina	0.00	0.00	-80.53	-3.66	0.00
Dihidrocapsaicina	0.00	0.00	-84.63	-3.85	0.00

Fosfatidiletanolamina	Hbond	Electro	Energy	LE1	VdW
Homocapsaicina	0.00	0.00	-75.03	-3.26	0.00
Homodihidrocapsaicina	0.00	0.00	-66.23	-2.88	0.00
Capsaicina	0.00	0.00	-70.29	-3.20	0.00
Dihidrocapsaicina	0.00	0.00	-65.26	-2.97	0.00

**Tabla 1.** Resultados de interacciones no covalentes de los capsinoides con modelos de nanopartículas y el blanco seleccionado de *F. oxysporum*.

La tabla 1 nos muestra, a partir de los valores de la eficiencia del ligando (LE), que la dihidrocapsaicina tiene mejor preferencia a adsorberse en el dióxido de silicio y en la fosfatidilcolina, contraste con la homocapsaicina que tiene preferencia a la fosfatidiletanolamina. Esto nos indica de manera general, que puede ser exergónica la absorción de dichos compuestos en poros de nanopartículas de dióxido de silicio y en superficies de liposomas, siendo esta una primera aproximación de dicha interacción.

Considerando la interacción con la cutinasa del hongo, es claro que todas presentan menor interacción que la molécula co-cristalizada, pero aun así la diferencia no es tan significativa ( $< 1\text{kcal/mol}$ ). De los capsinoides, la dihidrocapsaicina es la que presenta mejor interacción con dicho blanco, lo cual indica que tentativamente, aplicando un extracto crudo de chile habanero, la dihidrocapsaicina podría propiciar la inhibición de *F. oxysporum*.

## CONCLUSIÓN

Se determinó el uso de nanopartículas de dióxido de silicio y liposomas de lecitina de soja, como posibles transportadoras de una familia de *Capsinoides*. A su vez, se corroboró el uso de capsinoides como posibles inhibidores de la cutinasa de *Fusarium oxysporum*; considerando que dicho hongo comúnmente ataca a *S. lycopersicum* (jitomate). Lo anterior a partir de métodos basados en química computacional, específicamente Docking molecular. Finalmente, los resultados muestran que el mejor vehículo es la fosfatidilcolina (componente principal de los liposomas de lecitina de soja) transportando la dihidrocapsaicina.

## BIBLIOGRAFÍA

- Andueza-Noh, R. H., Latournerie-Moreno, Luis, Moran-Vázquez, N., Cervantes-Ortiz, F., & Mendoza-Elos, Mariano. Rangel-Lucio, J. A. (2017). Respuesta fisiológica de la semilla de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) al almacenamiento. *Acta Universtaría*, 22–29.
- Coronado, M., Salvador, V., Gutiérrez, R., Vázquez, M., & Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena Nutricion*, 42, 206–212.
- Díaz-Cervantez, E., Durán-Castro, E., & Universidad de Guanajuato. (2009). Encapsulamiento en liposomas de algunos principios activos de la Damiana (*Turnera diffusa* L. = *Turnera aphrodisiaca* ward = *Turnera diffusa* Wild. var. *Aphrodisiaca*). *Investigación Científica*.
- Ferreira-Bitencourt, G., & Azevedo- Filgueira, W. (2019). Molegro Virtual Docker for Docking (pp. 149–167).
- Gameros, P. C. S. (2018). El pelo: generalidades y enfermedades más comunes. *Revista de La Facultad de Medicina*, 61, 48–56.
- Hayman, M., Kam, P., & Universidad de Sídney en el Royal Prince Alfred Hospita. (2008). Capsaicina: Una revisión de su farmacología y aplicaciones clínicas. *El Seveir*, 19, 338–343.
- Hrnandez, I., Rossani, G., & Susanibar, J. (2018). Inducción de crecimiento y restauración del folículo piloso con factores de crecimiento autólogos en patología no cicatriz del cuero cabelludo. 44(2), 151–160.
- Juaréz-Rendon, K., Rivera-Sánchez, G., Reyes-López, M., García-Ortiz, J., Bocanegra-García, V., & Altamirano-García, M. (2017). Alopecia areata. Actualidad y perspectivas. *Arch Argent Pediatr*, 115, 404–411.
- Moreno, S., Salcedo, M. S. M., Cárdenas, Á. M. L., Hernández, P., & Núñez, G. M. A. (2012). Efecto antifúngico de capsaicina y extractos de chile piquín (*Capsicum annum* l. var *aviculare*) sobre el crecimiento in vitro de *Aspergillus flavus*. *Polibotanica Mexico*, 34, 191–204.
- Pluskal, T., & Weng, J.-K. (2018). NATural product modulators of human sensations and mood: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Chem Soc Rev*, 47, 1565–1902.
- Ramirez, H., Mendoza, J., Vazquez, M. E., & Zermeno, A. (2016). La prohexadiona de calcio (P-CA): una alternativa hormonal viable en chile habanero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(3), 631–641.
- Ruiz, N., Lara, F., & Estévez, M. (2011). El Chile Habanero: su origen y usos. In *Comunicaciones Libres* (Vol. 70, pp. 70–78).
- Sánchez-Acosta, L. (2010). Encapsulamiento de Extractos de Damiana de California en Liposomas Multilaminares y Laminares. Universidad de Guanajuato.
- Técnicas de obtención de liposomas. (n.d.).
- Zamora, D. (2007). ANTIOXIDANTES: MICRONUTRIENTES EN LUCHA POR LA SALUD. *Revista Chilena Nutricion*, 34(1), 17–26.

## **Análisis de compuestos fluorescentes como perspectiva en cuantificación de albúmina**

Brenda Ruiz- Lopez<sup>1</sup>, Daniel Jauregui-Vazquez<sup>2</sup>, Ma. del Rosario Abraham-Juárez<sup>1</sup>,

Erik Díaz-Cervantes<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de alimentos, Centro Interdisciplinario del Noreste, Universidad de Guanajuato, 37975 Tierra Blanca, Guanajuato, México

<sup>2</sup>Departamento de Ingeniería Electrónica, División de Ingenierías Campus Irapuato Salamanca, Universidad de Guanajuato, Carretera Salamanca-Valle de Santiago km 3.5 + 1.8 km, Salamanca, Gto. 36885, México

\*corresponding author: [\\*e.diaz@ugto.mx](mailto:e.diaz@ugto.mx)  
[bg.ruizlopez@ugto.m](mailto:bg.ruizlopez@ugto.m)

### **RESUMEN**

El objetivo del presente trabajo fue realizar un ensayo de acoplamiento molecular para conocer la interacción molecular entre una familia de nuevos compuestos fluorescentes y la *Albúmina de Suero Bovino* (ASB, BSA por su acrónimo en inglés). Se realizó el acoplamiento molecular *in silico* de una serie de moléculas fluorescentes, con albúmina sérica, para saber la posible interacción de estas con dicha proteína, como una perspectiva a la cuantificación de BSA, obteniendo que el mejor ligando fue el del compuesto 9, con una eficiencia del ligando de -3.44 kcal/mol.

**Palabras clave:** Acoplamiento molecular, *Albúmina de suero bovino*, in silico, ligando, proteína, fluorescente.

### **ABSTRACT**

This work aimed to perform a molecular docking assay to determine the molecular interaction between a family of new fluorescent compounds and Bovine Serum Albumin (ASB, BSA for its acronym in English). In silico molecular coupling of a series of fluorescent molecules with serum albumin was performed to determine their possible interaction with the above protein. As a perspective for BSA quantification, the best ligand was compound 9, with a ligand efficiency of -3.44 kcal/mol.

**key words:** Molecular coupling, *Bovine serum albumin*, in silico, ligand, protein, fluorescence.

## INTRODUCCIÓN

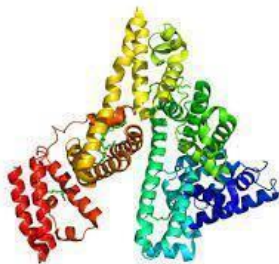
La fluorescencia es un proceso de emisión en el cual las moléculas son excitadas por la absorción de radiación electromagnética. Es decir es un tipo particular de luminiscencia, que caracteriza a las sustancias que son capaces de absorber energía en forma de radiaciones electromagnéticas y luego emitir parte de esa energía en forma de radiación electromagnética de longitud de onda diferente. (Aly *et al.*, 2008).

Las especies excitadas se relajan al estado fundamental, liberando su exceso de energía en forma de fotones. Una de las características más atractivas de los métodos de fluorescencia es su sensibilidad inherente, la cual es con frecuencia, de uno a tres órdenes de magnitud mejor que las de la espectroscopía de absorción. No obstante, los métodos de fluorescencia se aplican mucho menos que los métodos de absorción debido al número relativamente limitado de sistemas químicos que se pueden hacer fluorescer (Valeur, 2011).

Por tal, se optó por usar compuestos fluorescentes los cuales fueron sintetizados, esto con el objetivo de que el análisis fuera más preciso, con una estructura basada en, *tert*-butilo, tetrazol, fluorofenilo, metil amino, chlorobenzildieno, benzofurano y carbohidrazina, ver tabla 1.

Ante esto, aparece la posibilidad de llevar a cabo de forma eficiente y económica, la cuantificación de albúmina en alimentos.

La albúmina de suero bovino o ASB (BSA, por su acrónimo en inglés), es una proteína extraída del suero bovino que es ampliamente usada en diversos procedimientos de bioquímica. Es una cadena polipeptídica única que consiste en 583 residuos de aminoácidos, no contiene carbohidratos y tiene un tamaño de aproximadamente 66 kDa I, figura 1.

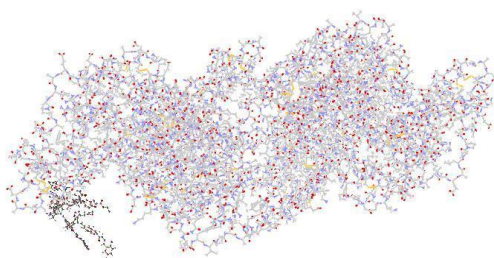


*Figura 1. Modelo de la proteína albúmina sérica bovina.*

Los ácidos grasos y los residuos de ácido siálico natural se conservan en esta BSA. Es rica en aminoácidos esenciales y compuestos con puentes disulfuro y grupos tiol (grupos azufrados).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó el modelado y la optimización de la familia de compuestos fluorescentes seleccionados, por medio del software Avogadro para poder obtener nuestros ligandos. Se obtuvo la estructura cristalizada de la albúmina de suero bovino, como blanco biológico del Protein Data Bank (código PDB: 5CDP), ver figura 2. Posteriormente se realizó el acoplamiento molecular *in silico*.

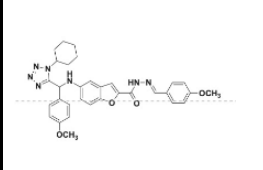
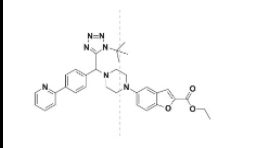
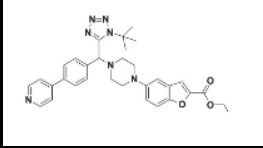
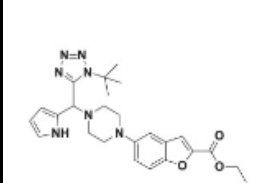


**Figura 2.** Modelado de la albúmina sérica de bovino

Se evaluó la interacción entre la albúmina (blanco) y los compuestos fluorescentes (ligandos), Tabla 1, en las cavidades del blanco biológico, por medio de la función de búsqueda Moldock Score, utilizando el software Molegro Virtual Docker (Thomsen Et al., 2006). Con lo anterior se lograron conocer las poses energéticamente más estables y la energía de interacción blanco-ligando.

**Tabla 1.** Compuestos fluorescentes seleccionados.

Compuestos	Nombre
	(E)-5-(((1-(tert-butyl)-1H-tetrazol-5-yl)(2-fluorophenyl)methyl)amino)-N'-(2-chlorobenzylidene)benzofuran-2-carbohydrazide
	(E)-5-(((1-cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl)(2-fluorophenyl)methyl)amino)-N'-(2-chlorobenzylidene)benzofuran-2-carbohydrazide
	(E)-5-(((1-(tert-butyl)-1H-tetrazol-5-yl)(2-chlorophenyl)methyl)amino)-N'-(2-chlorobenzylidene)benzofuran-2-carbohydrazide
	(E)-N'-(2-chlorobenzylidene)-5-(((2-chlorophenyl)(1-cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl)methyl)amino)benzofuran-2-carbohydrazide
	(E)-5-(((1-(tert-butyl)-1H-tetrazol-5-yl)(3-fluorophenyl)methyl)amino)-N'-(3-chlorobenzylidene)benzofuran-2-carbohydrazide

	(E)-5-(((1-cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl)(4-methoxyphenyl)methyl)amino)-H'(4-methoxybenzylidene)benzofuran-2-carbohydrazide
	Ethyl 5-(4-(((1-(tert-butyl)-1H-tetrazol-5-yl)(4-(pyridin-2-yl)methyl)piperazin-1-yl)benzofuran-2-carboxylate
	Ethyl 5-(4-(((1-(tert-butyl)-1H-tetrazol-5-yl)(4-(pyridin-4-yl)phenyl)methyl)piperazin-1-yl)benzofuran-2-carboxylate
	Ethyl 5-(4-(((1-(tert-butyl)-1H-tetrazol-5-yl)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)piperazin-1-yl)benzofuran-2-carboxylate.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos, con el uso del software Molegro Virtual Docker fueron los siguientes:

**Tabla 2.** Energías de interacción entre los ligandos modelados y la Albúmina Sérica Bovina

Molécula	<i>E</i>	H bong	Electro	VdW	LE
COM 1	-120.31	-6.97	-0.22	139.96	-3.34
COM 2	-128.63	-6.54	0.81	20.64	-3.34
Co-crystal	-112.98	-7.14	-0.04	-30.14	-2.75
COM 4	-135.35	-4.89	-40.13	6.49	-3.30
COM 5	-147.36	-2.51	-48.56	-2.99	-3.42
COM 6	-135.16	-3.97	-0.312	-26.54	-3.14
COM 7	-98.41	-11.98	-1.48	-28.45	-2.52
COM 8	-99.178	-4.42	-1.64	-38.33	-2.54
COM 9	-110.33	-0.69	0.38	-4.89	-3.44



De acuerdo con la tabla 2, logramos ver las poses energéticas más estables y la energía de interacción blanco-ligando. Por lo tanto, el mejor ligando de acuerdo a su eficiencia del ligando, LE, es el compuesto 9.

### CONCLUSIÓN

De acuerdo a lo obtenido durante el estudio, pudimos ver que los estudios *in silico* nos permiten estudiar el comportamiento de los ligando con nuestro blanco y así poder comprobar con cual de los ligando interactuar mejor los aminoácidos de la proteína. Específicamente, es claro que el compuesto 9 presentó una mejor interacción con la BSA, pudiendo ser un compuesto candidato a la detección de BSA, con aplicación a alimentos.

### BIBLIOGRAFÍA

- Aly SM, Abd-El-Rahman AM, John G, Mohamed MF (2008) Characterization of some bacteria isolated from *Oreochromis niloticus* and their potential use as probiotics. *Aquaculture* 277: 1-6.
- Valeur, B.; Berberan-Santos, M. R. N. (2011). "A Brief History of Fluorescence and Phosphorescence before the Emergence of Quantum Theory". *Journal of Chemical Education* 88 (6): 731
- Begon M, Townsend CR, Harper JL (2006) *Ecology. From individuals to ecosystems*. Blackwell Publishing. Oxford. Reino Unido. 759 pp.
- Prestinaci, F., Pezzotti, P. & Pantosti, A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathog. Glob. Health* 109, 309–318 (2015).
- Harvey, J. D. et al. A carbon nanotube reporter of microRNA hybridization events in vivo. *Nat. Biomed. Eng.* 1, 1–43 (2017).
- Geng, Y., Peveler, W. J. & Rotello, V. M. Array-based “chemical nose” sensing in diagnostics and drug discovery. *Angew. Chem. - Int. Ed.* 58, 5190–5200 (2019).
- Stacy, A., McNally, L., Darch, S. E., Brown, S. P. & Whiteley, M. The biogeography of polymicrobial infection. *Nat. Rev. Microbiol.* 14, 93–105 (2016).
- Thomsen, René y Mikael H. Christensen. 2006. MolDock: a new technique for high- accuracy molecular docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(11): 3315-3321. <https://doi.org/10.1021/jm051197e>

## **Elaboración de galleta con prebióticos rellena con mermelada ligera de higo (*Ficus carica*). Evaluación del efecto en personas con estreñimiento.**

I. Santiago-Jerez, N.P. Alvarado-Villamizar, C.J. Mora, Z. Ostojich-Cuevas\*, I. Arraiz-Budovalchew y S.M. Zerpa  
Departamento de Nutrición y Alimentación, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Medicina, Universidad de Los  
Andes. Mérida, Venezuela. \*[zoitzaula@gmail.com](mailto:zoitzaula@gmail.com), [zoitza@ula.ve](mailto:zoitza@ula.ve)

### **RESUMEN**

Se planteó como objetivo principal elaborar una galleta con prebióticos y mermelada ligera de higo (*Ficus carica*), para evaluar su efecto en personas con estreñimiento tras consumir una ración diaria (18 g) durante 10 días continuos. El análisis proximal determinó su valor nutricional, resaltando el aporte de Fibra Dietaria Total (1.4g/ración). Las pruebas sensoriales arrojaron un Nivel de agrado “Me Gusta” y aceptabilidad del 79%. Seguidamente, se evaluó la efectividad del alimento en 10 individuos diagnosticados con estreñimiento, y se determinó la prevalencia de síntomas molestos y número de evacuaciones antes y después de consumir la galleta. Aplicando las pruebas estadísticas de McNemar y Wilcoxon se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa tras la ingesta de la galleta. El número de evacuaciones aumentó de  $\leq 3$ /Semana a 3-15 evacuaciones durante los días de estudio; se evidenció disminución de los síntomas presentes (dolor, gases), en gran medida; las características de las heces cambiaron de duras, a blandas/pastosas. Asimismo, los resultados permitieron estimar que los participantes del estudio ingieren un estimado de 14.5g Fibra/día, realizan poca actividad física y no emplean técnicas dietéticas para mejorar el estreñimiento. En definitiva, el producto desarrollado ocasionó la mejoría significativa de los síntomas relacionados con el estreñimiento.

**Palabras Clave:** Estreñimiento, función evacuatoria, prebióticos, fibra dietaria, higo, galleta.

### **ABSTRACT**

The main objective was the development of a cookie with prebiotics and fig (*Ficus carica*) light jam, to evaluate its effect in people with constipation after consuming a daily ration (18g) for 10 days. The proximate analysis highlighted the contribution of Total Dietary Fiber (1.4g per ration). Results of the sensory evaluation showed that Cookies were rated as “Liked” with an acceptability of 79%. The cookies effectiveness in 10 patients diagnosed with constipation was evaluated, and the prevalence of annoying symptoms and number of bowel movements before and after consuming the cookie was determined. Applying the statistical tests of McNemar and Wilcoxon, a statistically significant difference was obtained after the intake of the cookie. The number of evacuations increased from  $\leq 3$  per week to 3-15 evacuations during the trial period; regarding the constipation symptoms (pain, meteorism), its decrease was evidenced to a great extent, while the characteristics of the feces changed from hard, to soft or pasty. Likewise, the results allowed estimating that the study participants ingest only 14.5g Fiber per day, 6.5 glasses of water/day and exercise little. In conclusion, the developed cookie caused significant improvement of constipation related symptoms, being a helpful alternative for its treatment.

**Key words:** Constipation, bowel function, prebiotics, dietary fiber, fig, cookie.

### INTRODUCCIÓN

Los hábitos de consumo alimentario se han modificado drásticamente en las últimas décadas, particularmente en lo concerniente a la ingesta de fibra cuyo consumo se ha reducido, al contrario de los alimentos ultraprocesados, generalmente bajos en fibra dietaria. La definición de fibra dietaria abarca aquellos carbohidratos que escapan a la digestión del intestino delgado y pasan al intestino grueso, donde son fermentados parcial o completamente por la microbiota intestinal. Adicionalmente, son osmóticamente activos; es decir, absorben agua y forman geles que aumentan el volumen fecal y favorecen el tránsito intestinal y la evacuación. Tradicionalmente, se puede clasificar a la fibra alimentaria en dos grandes grupos: la insoluble y la soluble. La fibra insoluble (celulosa, hemicelulosa, lignina), tiene gran capacidad de retención de agua, es decir, absorbe agua sin disolverse, lo que aumenta el volumen de las heces, disminuye su consistencia y el tiempo de tránsito intestinal. Por su parte, la fibra soluble (gomas, pectinas y mucílagos) se disuelve en agua, forma geles en el tracto digestivo retrasando el vaciado gástrico y es fermentada, casi en su totalidad, por la flora intestinal contribuyendo al incremento de la masa microbiana como consecuencia de la fermentación. La mayoría de los alimentos contienen mezclas de ambos tipos de fibra. El déficit de fibra, ha sido relacionado con alteraciones en la digestión y el metabolismo, siendo la ralentización de la función evacuatoria una de las consecuencias más relevantes (Botella *et al.* 2011; Sánchez Almaraz *et al.* 2015; Vilcanqui-Pérez y Vélchez-Perales 2017; Soliman, 2019; Vázquez *et al.*, 2021).

Un estudio sobre consumo de energía y nutrientes realizado en Venezuela en el año 2015 encontró que el consumo de fibra es de 15.4 g/persona/día de los cuales 73.4% fue insoluble y 26.6% soluble, valor inferior a la recomendación Nacional de un mínimo de 20 g/persona/día (Hernández *et al.* 2017; Instituto Nacional de Nutrición 2012a), lo que implica que solo el 15,1% de la población tiene una ingesta de fibra ajustada a las recomendaciones (Hernández *et al.* 2021). Una de las consecuencias más comunes del consumo excesivo de alimentos ultraprocesados es el estreñimiento; este puede definirse como una disfunción intestinal, caracterizada por la defecación infrecuente (menos de tres a la semana) y/o la alteración del acto defecatorio (esfuerzo excesivo, bloqueo o dificultad para evacuar, heces duras, sensación de evacuación incompleta), y que suele estar acompañado de dolor y distensión abdominal. Se considera que evacuar el intestino por lo menos tres veces a la semana y no más de tres veces diarias es un patrón normal en personas sanas (Casanueva *et al.* 2008; Hosseinzadeh *et al.* 2011; Coral *et al.* 2012; Laso 2013; Collado *et al.* 2014; Zhao y Yu 2016; Vilcanqui-Pérez y Vélchez-Perales 2017).

La causa del estreñimiento es multifactorial y se desconoce la fisiopatología exacta, aunque estudios recientes han encontrado relación entre el déficit de serotonina (5-HT) y la disfunción intestinal (Israelyan *et al.* 2019). Se han descrito factores de riesgo como: dieta baja en fibra, poca ingesta de líquidos, sedentarismo y factores genéticos (Zhao y Yu 2016). Asimismo, ha sido asociado con la disbiosis, que ocasiona la disminución de la concentración de ácido láctico proveniente de las bacterias y el aumento de metanógenos producidos por bacterias y hongos potencialmente patógenos. Algunos de los síntomas más comunes presentes en los pacientes estreñidos son dolor abdominal, irritabilidad, ansiedad y otros trastornos psicológicos, dolor anal, vómito, anorexia, malestar general, meteorismo, cefalea y posturas retentivas (contracción de los músculos pélvicos y glúteos para detener la defecación) (Murillo-Ortiz *et al.* 2016; Zhao y Yu 2016; Ohkusa *et al.* 2019). En todo caso es evidente que, diversos estudios relacionan al pH ácido del lumen del colon con la disbiosis y la aparición de diversas patologías en el resto del organismo (Ohkusa *et al.* 2019; Soliman 2019).

La constipación o estreñimiento, afecta globalmente al 14 % de los pacientes adultos y al 30 % de los que tienen más de 60 años. Se ha encontrado más frecuentemente en mujeres y en personas institucionalizadas, así como también suele estar relacionado a personas con bajo nivel socioeconómico o con tratamiento farmacológico para

trastornos psicológicos o psiquiátricos, incluyendo a quienes mantienen elevados niveles de estrés, ya que la serotonina (5-HT) interviene en el desarrollo y funcionamiento del sistema nervioso central y el sistema nervioso entérico, incluyendo los estados de ánimo y la motilidad gastrointestinal. En consecuencia, los defectos en la producción de 5HT pueden ocasionar disfunción en cerebro e intestinos. Este padecimiento puede alterar notablemente la calidad de vida; y, adicionalmente, por su alta prevalencia, es costoso para los sistemas de salud (Hosseinzadeh *et al.* 2011, Zhao y Yu 2016; Díaz *et al.* 2018; Columbia University Irving Medical Center 2019; Israelyan *et al.* 2019; Hernández *et al.* 2021).

A pesar de los avances en las pruebas diagnósticas, la entrevista clínica sigue siendo esencial para caracterizar la presencia y la gravedad de los síntomas, además de permitir establecer una buena relación con el paciente. Debido a su naturaleza subjetiva y marcada complejidad, el estudio del estreñimiento llevó a crear un grupo internacional de expertos, The Rome Foundation (Ohkusa *et al.* 2019), para estandarizar los criterios diagnósticos ante la ausencia de marcadores biológicos específicos, los cuáles, de acuerdo con Botella *et al.* (2011) y Collado *et al.* (2014) se refieren a la persistencia de dos o más de los siguientes síntomas por más de 3 meses:

- Necesidad de esfuerzos en más del 25.0% de las deposiciones, heces duras en más del 25.0% de las deposiciones, sensación de evacuación incompleta en más del 25.0% de las deposiciones, sensación de obstrucción ano rectal > 25.0% de las deposiciones, necesidad de maniobras manuales para facilitar la deposición, y/o menos de tres deposiciones/semana;
- Precisa el uso habitual de laxantes para conseguir una deposición,
- No incontinencia y ausencia de criterios diagnósticos de colon irritable.

Con la finalidad de diversificar la oferta de alimentos fuentes de fibra, el presente estudio se propuso como objetivo principal elaborar una galleta de harina de trigo integral con prebióticos, rellena de mermelada ligera de higo y evaluar su efecto en personas con estreñimiento. Asimismo, se analizó su composición proximal, así como su nivel de agrado y aceptabilidad en consumidores. Adicionalmente, se estimó la cantidad de fibra que normalmente consumen los participantes en el estudio de acuerdo a su alimentación, así como la actividad física, ingesta de agua y la incidencia de los síntomas molestos que presentan las personas en relación al estreñimiento.

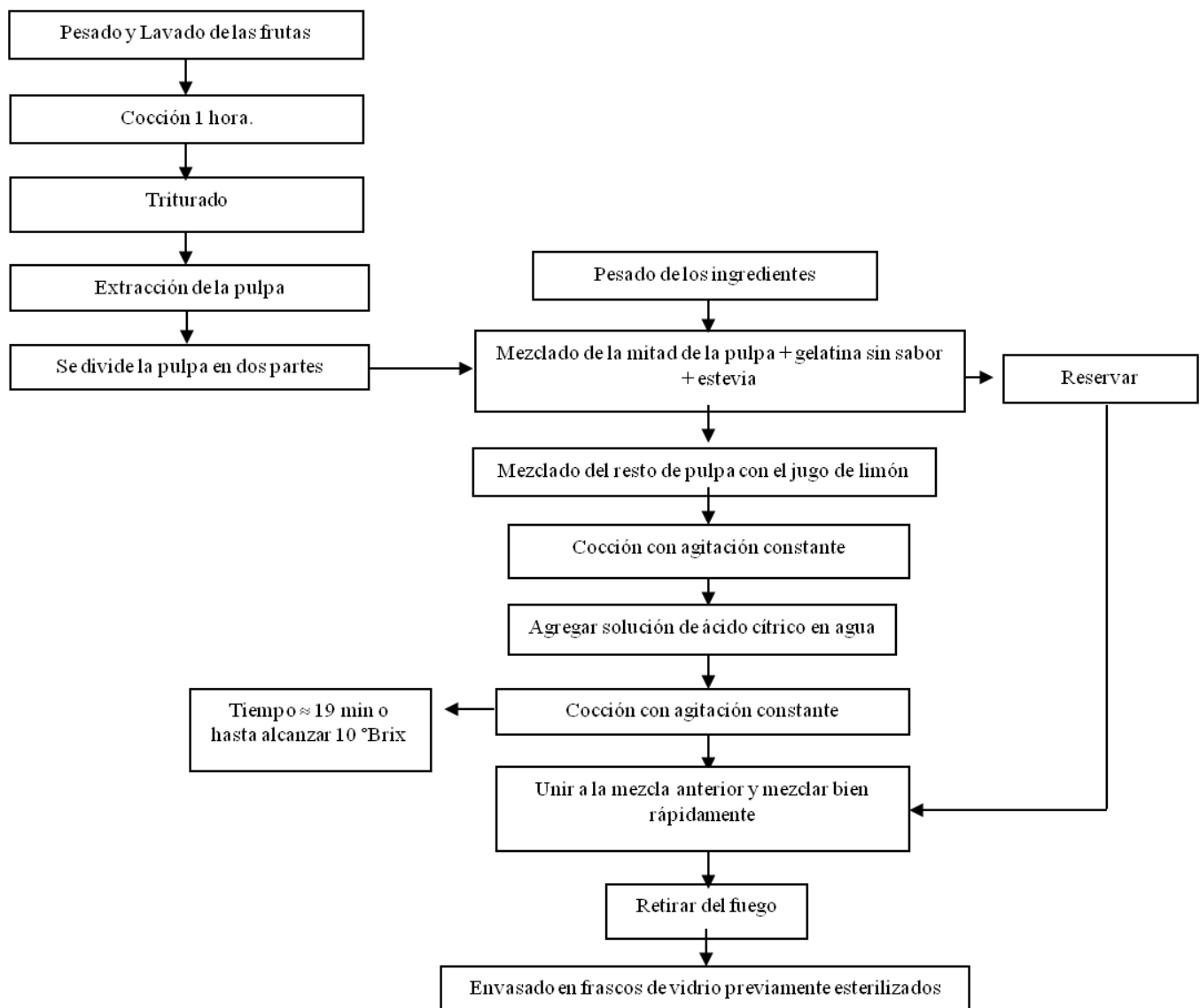
## MATERIALES Y MÉTODOS

**Ingredientes de la galleta:** harina de trigo todo uso, avena en hojuelas, afrecho de trigo, linaza (Previamente remojada para hidratar su mucílago), prebiótico Orafit Synergy 1® (Inulina y Fructooligosacáridos FOS), vainilla, huevo, polvo de hornear, sal. Relleno (Mermelada ligera de higo): higos (*Ficus carica*), gelatina sin sabor, ácido cítrico, estevia en polvo, limón y agua. En las Figuras 1 y 2 se presenta el esquema tecnológico utilizado para la preparación de la mermelada de higo y de la galleta rellena, respectivamente.

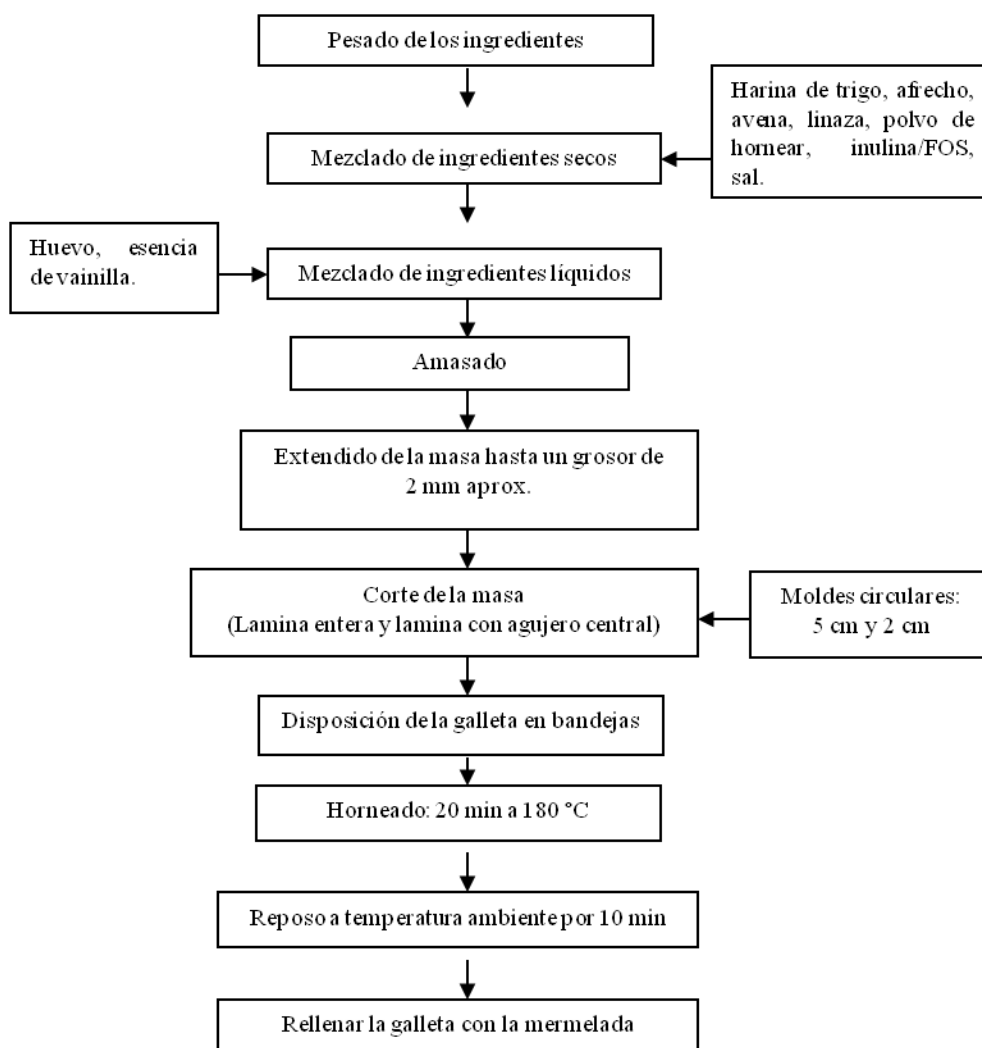
**Análisis proximal de la galleta:** La determinación del porcentaje de humedad se realizó mediante calentamiento en estufa a 100 °C a presión atmosférica normal siguiendo el método de la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN 1980a). El contenido de cenizas se analizó por incineración de la muestra mediante vía seca (COVENIN 1981). La determinación de proteínas se realizó utilizando el método de micro-Kjeldahl (COVENIN 1980b). El contenido de grasa de la galleta se determinó mediante el método de Soxhlet, utilizando hexano como solvente (COVENIN 1996). El contenido de carbohidratos totales se calculó en base húmeda por diferencia (Instituto Nacional de Nutrición INN 2012b). La fibra dietaria total se determinó de acuerdo al método de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 985.29 también conocido como "Método de Prosky"

(AOAC 1997). El contenido de carbohidratos disponibles de la galleta se obtiene restando del % de Carbohidratos totales el valor de la Fibra dietaria total. Por último, el cálculo del aporte calórico de la galleta se realizó multiplicando la cantidad en gramos de cada macronutriente por los coeficientes de Atwater modificados por la Food and Drug Administration (FDA) para incluir a la fibra dietaria: 4 para proteínas, 9 para grasas, 4 para carbohidratos disponibles y 2 para la fibra dietaria (Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO 2003).

**Análisis sensorial de la galleta:** se aplicó una prueba de escala hedónica por atributos y de aceptabilidad. En esta prueba participaron 63 panelistas no entrenados, de diversos géneros, con edades comprendidas entre los 18 y 50 años, quienes evaluaron el nivel de agrado global de la galleta integral rellena de mermelada ligera de higo, así como también los atributos aspecto, sabor y textura, utilizando una escala estructurada de cinco puntos. La prueba se realizó en el Laboratorio de Análisis Sensorial de Alimentos de la Escuela de Nutrición y Dietética de la Universidad de Los Andes.



**Figura 1.** Esquema tecnológico para la elaboración de la mermelada de higo ligera.



**Figura 2.** Esquema tecnológico para la elaboración de la galleta integral rellena.

**Estudio del efecto del consumo de la galleta sobre el patrón evacuatorio:** se seleccionó un grupo de 10 individuos diagnosticados con estreñimiento, con edades comprendidas entre 23 y 59 años, habitantes del municipio Libertador del estado Mérida (Venezuela), que cumplieran con los criterios descritos a continuación y que aceptaron el consentimiento informado; Criterios de inclusión: Personas de ambos géneros y mayores de 18 años; que presenten estreñimiento, sin patologías clínicas asociadas; sin tratamiento farmacológico, que estén de acuerdo en participar voluntariamente en el estudio, además de cumplir con las instrucciones dadas durante el mismo; y personas que estén de acuerdo en consumir la ración diaria de galleta de harina de trigo integral rellena de mermelada ligera de higo. Criterios de exclusión: Personas que presenten patologías; que no consuman frutas y/o vegetales, personas que no estén de acuerdo en participar en el estudio o en no dejar de utilizar laxantes durante el

tiempo del tratamiento con la galleta. La población en estudio se entrevistó utilizando un instrumento con el cual se indagó sobre la realización de actividad física, incluyendo tipo y frecuencia, así como también sobre la ingesta diaria de agua, el uso de tratamientos dietéticos para aliviar el estreñimiento, un recordatorio de 24 horas para estimar el consumo de fibra en su alimentación diaria (Ferrari 2013), así como los antecedentes clínicos y familiares. Consecutivamente, se exploró sobre el ritmo de las evacuaciones, sus características y síntomas que presentan de acuerdo a los criterios establecidos por The Rome Foundation (Ohkusa *et al.* 2019). Para determinar la efectividad del producto se estableció una ración diaria de 18 g (Una galleta), durante 10 días continuos, que los individuos participantes consumieron como merienda. A la población en estudio se le hizo entrega de una planilla para registrar la hora y fecha del consumo de la galleta, así como el número de evacuaciones, las características de las heces y la presencia de síntomas molestos tras consumir la galleta.

**Técnicas de procesamientos de análisis de datos:** Se realizaron 3 repeticiones de los análisis que conforman el proximal de la galleta; una vez obtenidos los datos, estos fueron promediados para la cuantificación del valor final. Los resultados de la prueba hedónica y de aceptabilidad fueron analizados por medio de la estadística descriptiva. Para el análisis de los datos del estudio clínico, se utilizó la estadística descriptiva para la construcción de tablas, tablas de contingencia, gráficos y medidas como la media y la desviación estándar; para probar la inferencia estadística, se procesaron los datos aportados por la población en estudio, aplicando las pruebas t-Student para muestras relacionadas, prueba de McNemar y prueba de Wilcoxon, comparando con los datos aportados por los participantes previo al inicio del consumo diario de la galleta. Los datos fueron procesados a través del paquete estadístico IBM SPSS Statistics 20, utilizando  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Resultados del análisis proximal de la galleta:** En la Tabla 1, se observa el resultado del análisis proximal de la galleta. Destaca la elevada humedad de la galleta rellena, debido a que en el relleno se utilizó una mermelada (con base acuosa) y no un relleno con base lipídica (con cremas a base de aceite vegetal) que es lo que usualmente se hace a nivel industrial, para evitar que el relleno sea absorbido por la pasta de galleta y esta pierda su textura crocante. Las grasas proporcionan una textura suave a los productos horneados y tienen un efecto lubricante, con mayor tendencia a formar películas finas que envuelven los glóbulos de la masa y que, al atrapar aire, confieren al producto una apariencia esponjosa, otorgándole buena textura (Gil 2010).

**Tabla 1.** Resultados del Análisis proximal y aporte calórico estimado por ración de galleta rellena.

<b>Nutriente</b>	<b>Por cada 100 g</b>	<b>Por ración (18 g)</b>
<b>Humedad (g)</b>	33.26 ± 0.09	6.0
<b>Proteína (g)</b>	8.80 ± 0.16	1.6
<b>Grasa (g)</b>	4.48 ± 0.11	0.8
<b>Cenizas (g)</b>	1.62 ± 0.02	0.3
<b>Carbohidratos totales (g)</b>	51.84	9.3
<b>Fibra dietaría total (g)</b>	7.62	1.4
<b>Carbohidratos Disponibles (g)</b>	44.22	7.9
<b>Energía (Kcal)</b>	267.64	48

Aunque no se realizó un estudio formal de la vida útil de la galleta, se observó que tras 4 días de almacenamiento a temperatura ambiente (25 °C) o de 15 días en refrigeración (a 4 °C), ocurrió una modificación considerable

(ablandamiento) de la textura característica de la galleta, principalmente debido a las razones anteriormente expuestas; adicionalmente, se observó crecimiento de mohos, lo cual implica el final de la vida útil de la galleta. Su poca duración puede atribuirse a que el producto no contiene conservantes ni otros tipos de aditivos que retrasen el deterioro microbiano. La selección de los ingredientes de la galleta se hizo en base a la función activa que ejercen contra el estreñimiento; en tal sentido, se incluyeron fuentes de fibra soluble, como el higo, la inulina/FOS, avena y el mucílago de la linaza; este tipo de fibra es fermentable, aumenta la biomasa bacteriana y la retención de agua originándose soluciones de gran viscosidad, aumentando el volumen de las heces y disminuyendo su consistencia. De igual forma, la fibra insoluble, aportada primordialmente por el afrecho y la linaza, es poco fermentable y es la que aumenta en mayor grado la masa fecal debido a los restos de fibra no digeridos y a su capacidad para retener agua, acelerando el tránsito intestinal. Esto permite disminuir la concentración y el tiempo de contacto de residuos considerados como potenciales carcinogénos, con la mucosa del colon. El proceso de formación de materia fecal se lleva a cabo en el colon. En este sitio se mezcla, se fermenta y se deseca el material proveniente del intestino delgado. Estas funciones son el resultado de contracciones colónicas. El acto de comer aumenta las contracciones que tienen por efecto mezclar el contenido intestinal y hacer avanzar la corriente intestinal hacia el colon por cortos segmentos (Quesada *et al.* 2012). En tal sentido, a mayor consumo de fibra soluble e insoluble y agua, mayor volumen de heces, mayor contracción intestinal y por lo tanto mayor expulsión fecal.

La fibra dietaria debe considerarse un elemento importante en la dieta regular, ya que ejerce una serie de efectos beneficiosos sobre el funcionamiento gastrointestinal, en el metabolismo hepático y del colon, además de considerárseles de suma importancia en la prevención de enfermedades como la dislipidemia, diabetes tipo 2, la hipertensión arterial y la obesidad debido a su capacidad de atrapar parte de los lípidos (INN 2012a; Sánchez Almaraz *et al.* 2015; Soliman 2019). Una alimentación balanceada y sujeta a las recomendaciones de ingesta diaria de fibra contribuye a mejorar y mantener al sistema digestivo trabajando de manera regular; ya que esta, junto a la ingesta adecuada de agua, aumenta el volumen del bolo fecal, ocasionando que el tiempo de permanencia de los alimentos en el tracto digestivo disminuya; en consecuencia, facilita la eliminación de los desechos del organismo (Prieto y Villaseñor 2009; Soliman 2019).

La naturaleza ofrece una diversidad de alimentos que poseen gran cantidad de fibra, entre los cuales destacan los frutos como el higo (*Ficus carica*). Una caracterización fisicoquímica de la fibra alimentaria procedente de diferentes variedades de higos (*Ficus carica*), concluyó que las muestras analizadas presentaron contenidos de fibra con valores que oscilan entre 2 y 7 g/100g de higo fresco, con predominancia de la fibra soluble (66-79%) en todas las variedades (Bauzà 2017). Por otra parte, es importante mencionar que la higuera contiene un fermento péptico activo que facilita la digestión de los albuminoides, denominado cradina (Haiek *et al.* 2005).

Por su parte, la inulina es un carbohidrato de almacenamiento presente en muchas especies vegetales, como frutas y cereales; se usa como ingrediente en los alimentos, ofreciendo ventajas tecnológicas, además de importantes beneficios a la salud. Se ha comprobado que la inulina estimula el crecimiento de la microbiota intestinal. Ello se debe a que atraviesa el estómago y el duodeno, alcanzando el intestino delgado prácticamente sin digerirse, en donde es metabolizado por algunos de los microorganismos intestinales, como las bifidobacterias y los lactobacilos, promoviendo su desarrollo. De igual forma, los Fructooligosacáridos (FOS), son fermentados más rápidamente en el lado derecho del colon, sirviendo como alimento a las bacterias de esa parte. Mientras que la inulina se fermenta más lentamente, alimentando preferentemente a las bacterias del lado izquierdo del colon.

Los FOS enriquecidos con inulina alimentan las bacterias de ambos lados del colon; debido a ello, son considerados prebióticos y se incluyen dentro de la definición de Fibra Funcional; esta abarca a todos los carbohidratos no digeribles que son extraídos, aislados, sintetizados o fabricados (Soliman 2019). Por esta serie de beneficios, han sido empleados como coadyuvantes en casos de algunas patologías del sistema digestivo como por ejemplo la



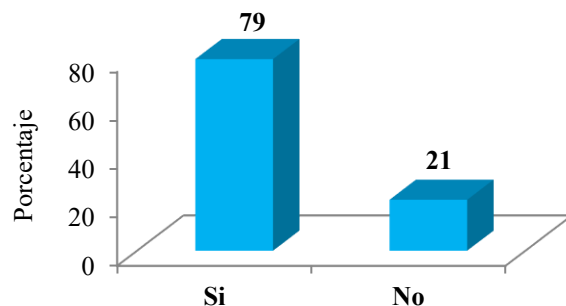
enfermedad inflamatoria intestinal (enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa), el estreñimiento y el síndrome del intestino irritable (Lara-Fiallos *et al.* 2017; Haz *et al.*, 2019; Soliman 2019).

También se hace necesario brindar mayor información a la población en general y a las personas que presenten síntomas de estreñimiento acerca de los beneficios del consumo adecuado de fibra. Adicionalmente, el objetivo de normalizar el tránsito intestinal debería iniciar con la educación del paciente valorado, incluyendo una adaptación en el patrón horario, de ser posible aprovechando los momentos en que el colon presenta mayor actividad propulsiva (después de las comidas y al levantarse por las mañanas), y un cambio en la postura que permitan adoptar una rutina a la hora de la defecación. También es recomendable, establecer pautas de conducta desde la infancia para que no se retrase de forma prolongada el deseo de defecar (Botella *et al.* 2011).

**Resultados del análisis sensorial de la galleta:** con respecto a las pruebas sensoriales aplicadas a la galleta se obtuvo que el nivel de agrado global y los atributos aspecto, sabor y textura de la galleta (Tabla 2), fueron calificados por los panelistas en el nivel “*me gusta*” (Puntuación 4 de una escala de 5), lo que indica que la galleta resulta de agrado para el consumidor. Asimismo, el 79% de los panelistas expresó estar dispuestos a adquirirla (Figura 3). Entre las observaciones realizadas por los panelistas consumidores que evaluaron las muestras, destacan las relacionadas a la falta de textura crocante y de dulzor. La ausencia de estas características es debido a que no se emplearon dos de los ingredientes claves que proporcionan dichas características a este tipo de productos: grasa y azúcares simples. Estos ingredientes, ampliamente utilizados en los alimentos ultraprocesados, aportan gran cantidad de calorías y una de las finalidades del presente estudio era obtener un producto con menor aporte calórico y mayores propiedades funcionales que las galletas comúnmente encontradas en el mercado. La apariencia, la textura y el sabor son los principales atributos de calidad evaluados por el consumidor al momento de seleccionar una galleta; entre ellos, la textura y el dulzor son las características que suelen verse más afectadas con el uso de sustitutos de grasa y edulcorantes.

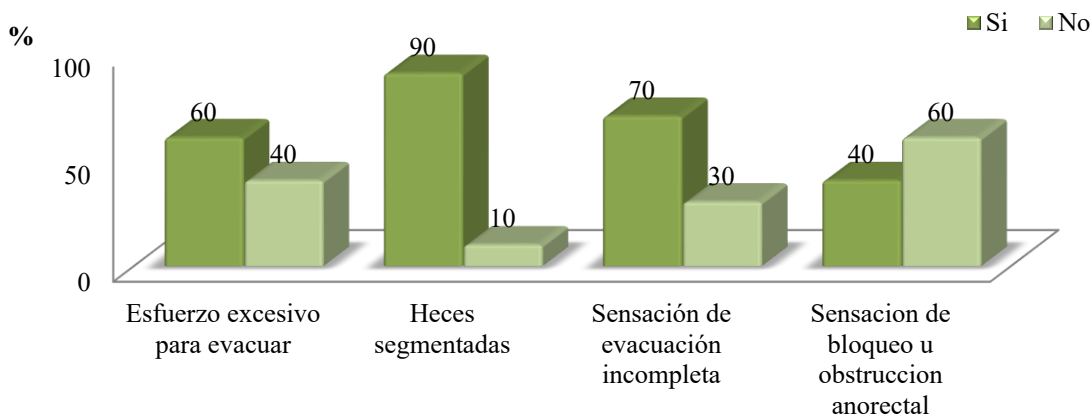
**Tabla 2.** Resultados obtenidos en la prueba hedónica estructurada.

	Agrado global	Número de panelistas		
		Aspecto	Sabor	Textura
<b>Disgusta mucho</b>	-	2	-	1
<b>Disgusta</b>	7	8	5	11
<b>Ni gusta Ni disgusta</b>	17	14	18	11
<b>Gusta</b>	32	24	34	28
<b>Gusta mucho</b>	7	15	6	12
<b>Total de panelistas</b>	<b>63</b>	<b>63</b>	<b>63</b>	<b>63</b>



**Figura 3.** Resultados para la prueba de aceptabilidad de la galleta integral rellena.

**Hábitos de los participantes en el estudio, antecedentes familiares y sintomatología previa al tratamiento:** En la Figura 4, se presentan los resultados para la incidencia de los criterios de Roma, establecidos para el diagnóstico clínico de estreñimiento y de trastorno de la defecación, en los participantes del estudio. Se observa que el 90.0% de los participantes en el estudio presentaba heces duras o segmentadas; un 70.0% tiene sensación de evacuación incompleta y un 60.0% debe realizar esfuerzo excesivo para evacuar; por el contrario un 60.0% de la población no presenta sensación de bloqueo u obstrucción intestinal. De acuerdo a los valores establecidos, se puede evidenciar que los pacientes en estudio presentan más de dos criterios diagnósticos para ser catalogados con un estreñimiento crónico (Garrigues *et al.* 2013).



**Figura 4.** Criterios Roma III para identificar el estreñimiento.

Por su parte, en la Tabla 3, se observa el promedio estimado de consumo de fibra soluble de los individuos objeto de estudio; estimándose que la ingesta promedio de fibra total es de  $14.5 \pm 5.0$  g, quedando evidenciada la baja ingesta de fibra en la alimentación de la población participante. Estos datos fueron obtenidos con el recordatorio de 24 horas que se realizó durante la entrevista inicial realizada a los participantes en el estudio, de acuerdo a la metodología descrita por Ferrari (2013). La información se comparó a través de la Prueba t-Student, resultando que efectivamente, el consumo de fibra soluble es estadísticamente diferente al de fibra insoluble ( $p=0.045$ ). El recordatorio de 24 horas sirvió como herramienta para la recolección de datos, en donde se pudo apreciar una baja ingesta de ciertos alimentos como frutas, legumbres, hortalizas y cereales integrales, los cuales contribuyen al aporte de fibra tanto soluble como insoluble, y su ausencia prolongada en la dieta diaria trae como consecuencia cambios en los patrones gastrointestinales de cada individuo.

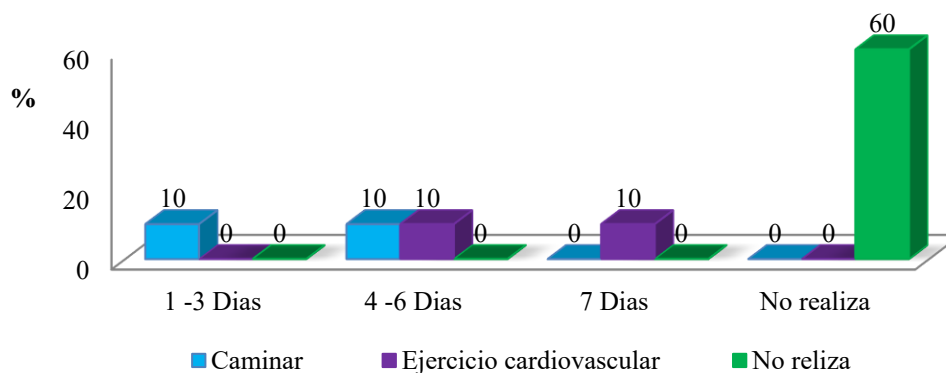
**Tabla 3.** Ingesta de fibra de los pacientes con estreñimiento de acuerdo a su alimentación

Tipo de fibra	Media ± Desv. típ.	Sig.
Fibra soluble(g)	6.6580 ± 2.09232	0.045*
Fibra insoluble(g)	7.8440 ± 4.17609	
Fibra dietaria total (g)	14.5020 ± 5.00779	

\*Prueba t-Student  $p < 0.050$

Investigaciones anteriores coinciden con los resultados obtenidos en la presente investigación y reportan que el consumo de fibra dietaria en Venezuela está por debajo de los niveles recomendados; siendo alrededor de 15 g de fibra/día (Hernández *et al.* 2017; Haz *et al.* 2019), siendo los adolescentes y los adultos mayores los más propensos a no cumplir las recomendaciones (Hernández *et al.* 2021). Las recomendaciones actuales de consumo de fibra a nivel mundial oscilan entre 20 a 38 g/día o bien alrededor de 14g/1.000 Kcal/día. En Venezuela, la cantidad de fibra recomendada es de 9 a 12g/1000Kcal/día, con un mínimo de 20g/persona/día (INN 2012a). La Academia Nacional de Ciencias y el Instituto de Medicina de Estados Unidos, recomiendan el consumo de 25 y 38 g/día para mujeres y hombres respectivamente. Para los niños, la recomendación efectuada por la Academia Americana de Pediatría (AAP), consiste en la suma de la edad del niño (años) con 5 g de fibra/día (es decir, un niño de cinco años debería de consumir 10 g/día de fibra). Por su parte, la Asociación Americana de Dietética (ADA) recomienda una ingesta de 10-13 g de fibra por cada 1000 kcal consumidas y que la proporción insoluble/soluble sea de 3/1 (Sánchez Almaraz *et al.* 2015; Vilcanqui-Pérez y Vílchez-Perales 2017; NIDDK 2018; Soliman 2019). La mayor cantidad de fibra en alimentos de uso común en el país está en el salvado de trigo, seguido de las leguminosas, harinas integrales de maíz y, en último lugar, frutas y verduras (Botella *et al.* 2011; Hernández *et al.* 2021); sin embargo, Botella *et al.* (2011), resalta que no todos los efectos de la ingesta de fibra son beneficiosos y que, consumida en cantidades superiores a las recomendadas, puede ocasionar una disminución en la absorción intestinal de cationes divalentes (calcio, hierro, zinc), un exceso de meteorismo, distensión abdominal, diarrea o por el contrario, estreñimiento si no se ingiere agua suficiente.

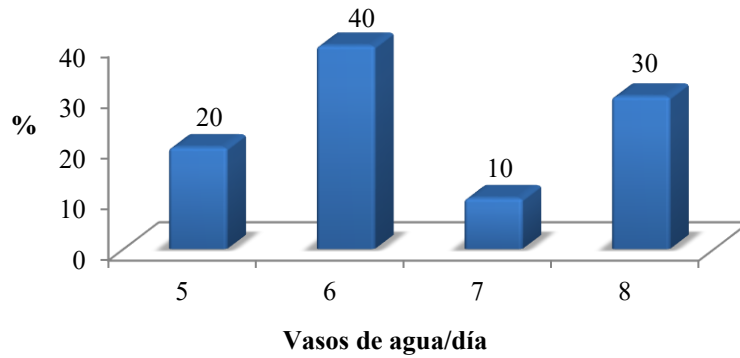
En la Figura 5, se observa que el 60.0% de los participantes en el estudio no realiza ningún tipo de actividad física, mientras que el 40.0% restante mantiene una rutina de ejercicio eligiendo actividades como caminar y el ejercicio cardiovascular, los cuales realizan a diario. Rondón *et al.* (2015) y Haz *et al.* (2019), encontraron resultados similares respecto a la poca actividad física de los participantes en su estudio.



**Figura 5.** Tipo de actividad física y frecuencia realizada por la población en estudio.

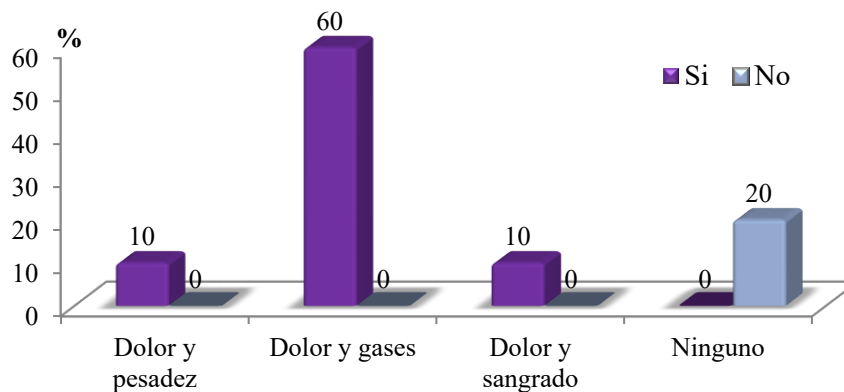
La actividad física se refiere a cualquier movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos que exija gasto de energía y se considera un factor importante en la prevención y tratamiento de enfermedades no transmisibles, además de ser beneficiosa para la salud mental, pues previene el deterioro cognitivo y los síntomas de la depresión y la ansiedad (OMS, 2020). Algunos estudios epidemiológicos indican una mayor prevalencia de estreñimiento crónico en poblaciones sedentarias cuando se compara con individuos que realizan una actividad física regular (Schmulson Wasserman *et al.* 2008; Saz Peiró *et al.* 2010). Sin embargo, Remes *et al.* (2011), señala que hay evidencias contradictorias al respecto. En el mismo orden de ideas, una investigación realizada por Díaz *et al.* (2018), observó que el 69% de los pacientes encuestados no considera que realizar ejercicio de manera regular mejore el estreñimiento o disminuya la necesidad de laxantes. Esta percepción de los pacientes podría deberse a que los mecanismos fisiológicos que explicarían un aumento en el tránsito del colon, asociado con el ejercicio no son totalmente claros e incluyen un aumento en la motilidad, modificaciones del flujo sanguíneo intestinal, y liberación de hormonas y péptidos gastrointestinales. No está claro hasta qué nivel de actividad física es necesario llegar para lograr el posible efecto beneficioso, tanto en la fisiología como en la respuesta clínica (Saz Peiró *et al.* 2010). De cualquier forma, la OMS (2020), recomienda para la población adulta con edades comprendidas entre los 18-64 años que dediquen entre 150 y 300 minutos semanales a la práctica de actividad física aeróbica de intensidad moderada, o al menos 75 minutos de actividad física aeróbica vigorosa cada semana. Mantener una adecuada rutina de ejercicio como estilo de vida, favorecerá a mejorar los movimientos peristálticos y por consiguiente a mejorar el estreñimiento. Es indispensable insistir en los beneficios de la práctica de ejercicio físico encaminado a reforzar la prensa abdominal, adaptado a las posibilidades del paciente (Botella *et al.* 2011).

Respecto a la ingesta de agua, en la Figura 6 se aprecia que sólo el 30.0% de la población consume 8 vasos de agua al día, mientras que la mayoría de las personas toman menos de la cantidad recomendada. Resultados similares fueron obtenidos en investigaciones realizadas en la ciudad de Caracas por Villalobos *et al.* (2012), y en la ciudad de Mérida por Haz *et al.* (2019); en ambos casos, la mayoría de los individuos encuestados manifestaron consumir menos de 8 vasos de agua al día. Diferentes estudios reportan que la poca ingesta de agua resulta contraproducente para la función evacuatoria, ya que, la fibra requiere absorber agua para aumentar su volumen y formar una especie de gel, lo cual entre otras cosas, mejora la consistencia de las heces, acelera y facilita el tránsito gastrointestinal, y disminuye las molestias abdominales ocasionadas por el estreñimiento. Por el contrario, en ausencia de agua suficiente, la fibra insoluble se adhiere a las paredes del colon, alargando el tiempo entre deposiciones y por ende, empeorando el estreñimiento (Botella *et al.* 2011; Remes *et al.* 2011). Sin embargo, Díaz *et al.* (2018) manifiesta haber encontrado evidencia de que la ingesta de agua en efecto aumenta el tránsito colónico, pero no se ha demostrado que alivie el estreñimiento, excepto en los pacientes hospitalizados y deshidratados. El 20-30% del agua incorporada diariamente al organismo proviene de los alimentos sólidos; el 70-80% restante se incorpora al organismo mediante la ingesta directa de agua, aunque la variabilidad de estas cifras es importante en función de las poblaciones (hábitos alimenticios, edad, género). Con respecto a estos parámetros, la OMS y especialistas de la salud recomiendan consumir 8 vasos de agua al día (Instituto de Investigación Agua y Salud 2018).

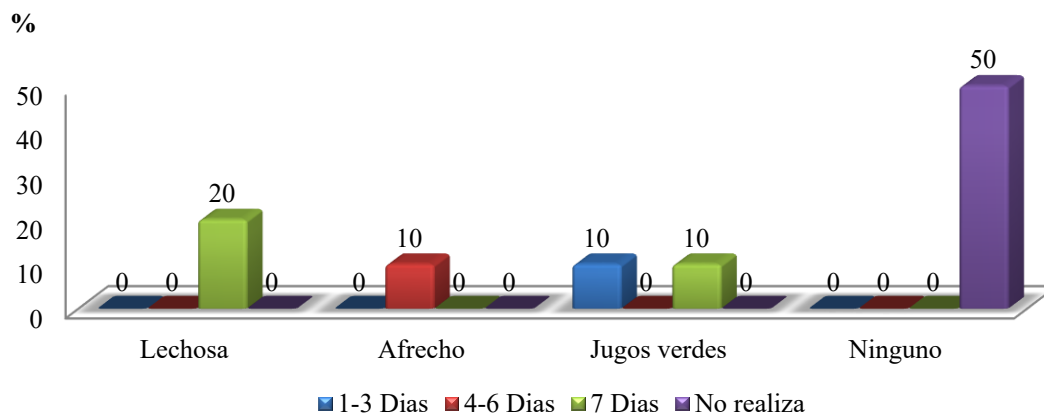


**Figura 6.** Ingesta de agua (vasos/día) de la población en estudio.

Por su parte, referente a la sintomatología que suele acompañar al estreñimiento, en la Figura 7, se observa que en cuanto a las molestias reportadas por las personas que padecen estreñimiento se encuentran el dolor o malestar abdominal, hinchazón, sensación de pesadez, meteorismo (gases) y sensación de evacuación incompleta. Se ha reportado que, la dificultad al momento de la expulsión de las heces y el esfuerzo defecatorio puede provocar o agravar problemas de hemorroides o fisuras anales (Villalobos *et al.* 2012; Ormaechea 2016). La sensación de hinchazón y la distensión abdominal forman parte de los síntomas y signos referidos habitualmente por los pacientes con síndrome de intestino irritable, especialmente de aquellos con un patrón predominante de estreñimiento (Mearin y Montoro 2011).



**Figura 7.** Síntomas molestos que presenta la población en estudio en relación con el estreñimiento.



**Figura 8.** Tratamiento dietético, tipo y frecuencia de que lo realizan las personas con estreñimiento.

En la Figura 8, se observa que el 50.0% de la población en estudio no utiliza ningún tipo de técnicas dietéticas para el estreñimiento, mientras que restante si las realiza; específicamente, el 20.0% consume a diario lechosa, otro 10.0% añade afrecho a sus alimentos y el 20.0% toma algunos de los denominados “jugos verdes” (licuado de hortalizas y frutas como pepino, celery o apio España y piña) con una frecuencia que va entre 3-6 a veces a la semana, coincidiendo con lo reportado por Hernández *et al.* (2021). No se observó en las personas participantes en el estudio el consumo frecuente de otros alimentos altos en fibra como la linaza, la chía o los batidos de frutas y hortalizas altas en fibra soluble como la cáscara cocida de parchita (*Passiflora edulis*), chayote (fruto de *Sechium edule*) o el zapallo (*Cucurbita ficifolia*); principalmente por desconocimiento de dichas técnicas dietéticas. Por otra parte, se encontró que el 90.0% no realiza ningún tipo de tratamiento farmacológico para el estreñimiento, mientras que, el 10.0% utiliza laxantes al menos 3 veces a la semana. El abuso de los fármacos laxantes puede conllevar a la aparición de problemas asociados, e incluso empeorar el estreñimiento; es por ello que el tratamiento farmacológico debería reemplazarse por la reeducación del tránsito intestinal mediante la puesta en práctica de hábitos dietéticos adecuados (Garrote y Bonet 2007).

En la Figura 9, se puede observar que el 80.0% de la población en estudio presenta antecedentes familiares de estreñimiento. Resultados similares fueron obtenidos por Rondón *et al.* (2015), quien observó que el 60% de los participantes en su estudio presentaron antecedentes familiares de estreñimiento. Es indudable que un plan de alimentación balanceado es la “medicina de elección” para curar y prevenir el estreñimiento, así como otras enfermedades. Depender de los fármacos para regular el tránsito intestinal puede ser costoso, innecesario y nocivo, puesto que muchos laxantes ocasionan irritación en el colon, impidiendo el correcto funcionamiento del intestino. Para evitar y combatir el estreñimiento es necesario llevar una buena alimentación con suficiente fibra y mantener el intestino sano, sobre todo si se acompaña de ejercicio físico que activa el tránsito intestinal. Los alimentos con mayor cantidad de fibra que suelen incluirse en la dieta para personas con estreñimiento son frutas, vegetales, cereales integrales, leguminosas y semillas como la linaza y la chía (Martínez 2011).

Aunque no existen evidencias científicas de que el estreñimiento sea hereditario, es importante conocer este factor, ya que permite indagar sobre el estilo de vida y hábitos alimentarios que tiene tanto el paciente como sus familiares (Garrigues *et al.* 2013). Los niños generalmente tienden a imitar el estilo de vida de sus padres, y si crecen en un ambiente sedentario, con hábitos alimentarios poco saludables, posiblemente como consecuencia desarrollen situaciones clínicas como el estreñimiento. Se considera que normalmente el tránsito colónico total es de 43 a 72 horas (En el colon derecho es de 20 a 38 horas, en el colon izquierdo de 14 a 37 horas y en el recto sigmoides de 25

a 45 horas) (Remes *et al.* 2011). Resultados similares fueron obtenidos por López *et al.* (2008), quien al administrar un preparado lácteo enriquecido con un suplemento de fibra soluble observó que la sintomatología del estreñimiento crónico primario idiopático (Esfuerzo deposicional, sensación de evacuación incompleta, sensación de obstrucción en la evacuación y número de días entre deposiciones) disminuyó significativamente tras la ingesta del producto, mejorando la situación en cuanto al estreñimiento. Así mismo, Cruces y Osorio (2011) al medir la efectividad de la inclusión en la dieta de una bebida pasteurizada a base de linaza (*Linum usitatissimum*) en 10 personas con estreñimiento tras 7 días detectó diferencias estadísticamente significativas, en cuanto al ritmo de evacuaciones antes del consumo de la bebida ( $2.1 \pm 0.7$  deposiciones/semana) y después ( $6.4 \pm 2.3$  d/s), concluyendo que con la ingesta de la bebida se observaron mejorías significativas. De igual forma, Haz *et al.* (2019), reportó un aumento en la frecuencia evacuatoria de los participantes (a 11-14 veces/semana), y disminución de los síntomas de dolor al evacuar, de la sensación de evacuación incompleta y de la evacuación con sangre, tras la ingesta diaria de un pan con inulina y FOS.

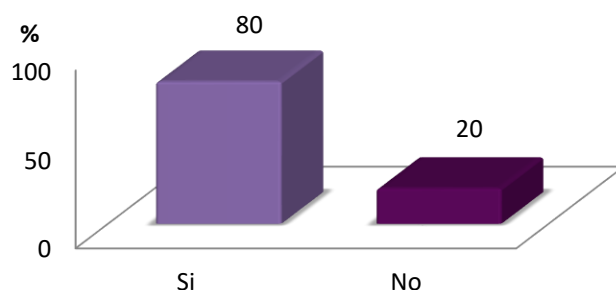


Figura 9. Antecedentes familiares de estreñimiento.

**Efectividad de la galleta de harina de trigo integral rellena de mermelada de higo ligera:** Para verificar el efecto de la galleta, se realizaron varias pruebas de acuerdo con el tipo de variable, con respecto al número de evacuaciones, características de las heces y síntomas antes y después del consumo de la galleta. En la Tabla 4, se presenta la aplicación de varias pruebas para muestras relacionadas con un nivel de significación del 0.05, donde se diferencia el antes y después del consumo de la galleta de harina de trigo integral rellena de mermelada ligera de higo, arrojando como resultado que el número de evacuaciones, las características de las heces y los síntomas presentados antes y después del consumo del producto, difieren significativamente.

Tabla 4. Pruebas Estadísticas para el número de evacuaciones, síntomas y características de las heces y antes y después del consumo de la galleta.

Paired Samples Test (n=10)	± Std.		95% Confidence Interval of the Difference		T	Sig. (2-tailed)
	Mean	Deviation	Lower	Upper		
Número de Evacuaciones Antes	2.30	± 0.675				
Número de Evacuaciones Después	6.90	± 4.280	-7.524324	-1.675676	-3.55	0.006*

McNemar Test (n=10)		Síntomas Molestos Antes				Exact Sig. (2-tailed)
		SI		NO		
		No.	%	No.	%	
Síntomas Molestos Después	SI	1	10	--	--	0.016**
	NO	7	70	2	20	

**Wilcoxon Signed Ranks Test (n=10)**

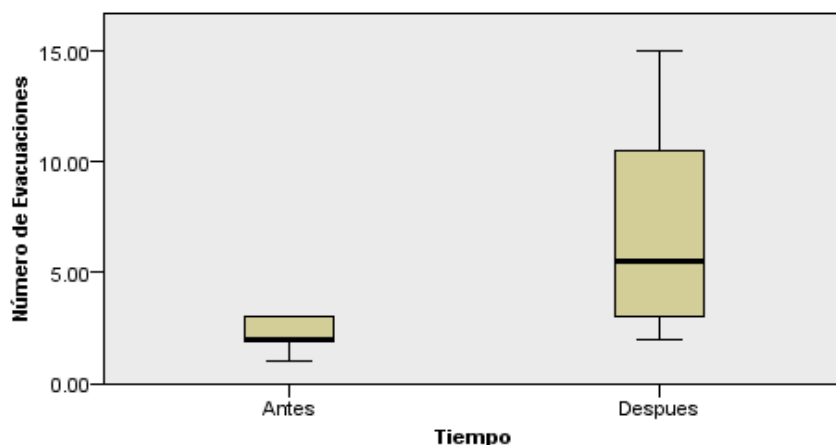
		Consistencia de las Heces Después						Asymp. Sig. (2-tailed)
		Duras		Pastosas		Blandas		
		No.	%	No.	%	No.	%	
Consistencia de las Heces Antes	Duras	2	20	5	50	2	20	0.014***
	Pastosas	--	--	1	10	--	--	

\*Prueba t-Student para muestras relacionadas con  $p < 0.050$

\*\*Prueba Mc Nemar con  $p < 0.050$

\*\*\*Prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas con  $p < 0.050$

Es decir, que la galleta aumenta el número de evacuaciones semanales, mejorando las características de las heces (de duras a pastosas) además de disminuir los síntomas molestos producidos por el estreñimiento. A través de la Prueba t-Student se comprobó que el promedio de evacuaciones semanales que la población en estudio tenía antes del consumo de la galleta era  $2.300 \pm 0.675$ , después del tratamiento aumentó de manera estadísticamente significativa ( $p = 0.006$ ) con un promedio de evacuaciones de  $6.90 \pm 4.28$  (Figura 10). El número de evacuaciones fue aumentando progresivamente durante los 10 días de tratamiento, debido principalmente al aumento de la masa fecal y por consiguiente de la motilidad colónica. Resultados similares fueron obtenidos por Haz *et al.* (2019), quienes al administrar un pan con prebiótico tras 21 días observaron un aumento significativo en el número de deposiciones hasta 11-14 veces/ semana. Por su parte, Rondón *et al.* (2015), observó cambios en las características de las heces (de duras y segmentadas a blandas y alargadas), con el consiguiente alivio de los síntomas asociados al estreñimiento como el dolor al evacuar, el sangrado y la sensación de evacuación incompleta. Al respecto, Vandeputte *et al.* (2016) indica que el cambio en la consistencia de las heces está directamente asociado a la composición de la microbiota fecal; específicamente, la dureza de las heces ha sido reportada junto al incremento de las bacterias metanógenas en la microbiota colónica.



**Figura 10.** Comparación estadística del número de evacuaciones antes y después del consumo de la galleta.

Por otra parte, en la misma Tabla 4, a través del Test de McNemar se comprobó que los síntomas molestos en relación con el estreñimiento de las personas en estudio disminuyeron en gran medida luego del consumo de la galleta de harina de trigo integral rellena de mermelada ligera de higo, siendo la diferencia estadísticamente significativa con  $p = 0.016$ . Resultados similares fueron reportados por otros estudios, en los cuales se observó la disminución del dolor y sangrado durante las evacuaciones tras la ingesta de alimentos con inulina y FOS; con



excepción del meteorismo (gases) cuya presencia se mantiene e incluso aumenta (Rondón *et al.* 2015; Haz *et al.* 2019). Al respecto, Yu *et al.* (2020), destaca que durante su fermentación en el intestino, la inulina es capaz de producir más hidrógeno que otros prebióticos. Se considera, por lo tanto que el producto desarrollado en esta investigación no produce síntomas molestos en relación con el estreñimiento, e incluso, disminuyó significativamente los presentados antes del tratamiento. Finalmente, en la última parte de la Tabla 4 se observa, a través de la Prueba de Wilcoxon, que las heces de la población en estudio mejoraron de forma estadísticamente significativa sus características para facilitar las evacuaciones; es decir, antes del tratamiento las heces eran duras y segmentadas, mientras que después del tratamiento se tornaron entre blandas y pastosas ( $p=0.014$ ).

### CONCLUSIONES

En base a los objetivos que se plantearon al inicio de esta investigación se concluye que el consumo de la galleta de harina de trigo integral rellena de mermelada ligera de higo tuvo efectos positivos estadísticamente significativos sobre la población en estudio, viéndose reflejado en el aumento del número de evacuaciones, disminución de los síntomas molestos durante el tratamiento y cambios en las características de las heces. Por su parte, la composición proximal de la galleta reveló un contenido de fibra suficiente por ración para que, de acuerdo con la normativa nacional vigente que rige la declaración de propiedades nutricionales en el etiquetado de alimentos, la galleta rellena pueda considerarse un producto “buena fuente” de fibra, mientras que la aceptabilidad de la galleta puede considerarse como satisfactoria para cumplir con los objetivos de la investigación.

De igual forma, se puede concluir que la cantidad de fibra dietaria total que consume la población estudiada es de 14.5 g, considerándose este aporte bajo en relación con las recomendaciones actuales establecidas por el Instituto Nacional de Nutrición venezolano para el consumo diario de fibra (20 g/día). Por su parte, en cuanto a los hábitos de la población estudiada, solamente la mitad realiza algún tipo de actividad física, destacando la caminata y el ejercicio cardiovascular; mientras que el consumo de agua estuvo entre 5 y 8 vasos/día.

**AGRADECIMIENTOS:** Las autoras agradecen el soporte económico del CDCHT – ULA para la realización de este proyecto.

### BIBLIOGRAFÍA

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1997). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Vol II. 16<sup>th</sup> ed. Horowitz W. (ed) published by AOAC. Gaithersburg, MD, USA.
- Bauzá C. (2017). Fibra alimentaria: Caracterización Fisicoquímica de Variedades Autóctonas de Higo (*Ficus carica*) de las Islas Baleares [Trabajo de Grado No Publicado]. Universitat de les Illes Balears, Palma-España [Documento en línea] Consultado el 05 Marzo 2023 en: [http://dspace.uib.es/xmlui/bitstream/handle/11201/145735/Bauza\\_Cosme.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.uib.es/xmlui/bitstream/handle/11201/145735/Bauza_Cosme.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Botella F, Alfaro J, Hernández A, Lomas A, Quílez T. (2011). Estrategias nutricionales ante el estreñimiento y la deshidratación en las personas mayores. *Nutrición Hospitalaria*. 4 (3): 44-51.
- Casanueva E, Kaufer M, Pérez A, y Arroyo P. (2008). *Nutriología médica*. 3era ed. Editorial Médica Panamericana. México.
- Collado L, San Mauro I, Ciudad-Cabañas MJ, Calle-Purón ME, Hernández Cabria M. (2014). Effectiveness of inulin intake on indicators of chronic constipation; a meta-analysis of controlled randomized clinical trials. *Nutrición Hospitalaria*. 30(2): 244-252.

- Columbia University Irving Medical Center. (2019). A Moody Gut Often Accompanies Depression -New Study Helps Explain Why [Página web en línea] Consultado el 01 Septiembre 2022 en: <https://www.cuimc.columbia.edu/news/moody-gut-often-accompanies-depression-new-study-helps-explain-why>
- Coral S, Escudero E, Gómez C, Riobó P. 2012. *Patologías nutricionales en el siglo XXI: Un problema de salud pública*. Universidad Nacional de Educación a Distancia. Madrid, España.
- COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). (1980a). *Norma 1553-80: Productos de Cereales y Leguminosas. Determinación de humedad*. Caracas, Venezuela: Fondonorma.
- COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). (1980b). *Norma Venezolana 1195-80. Alimentos. Determinación de nitrógeno. Método de Kjeldahl*. Caracas: Fondonorma.
- COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). (1981). *Norma 1783-81. Productos de cereales y leguminosas. Determinación de cenizas*. Caracas, Venezuela: Fondonorma.
- COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). (1996). *Norma 3218:1996. Alimentos. Determinación de grasa libre*. Caracas, Venezuela: Fondonorma.
- Cruces H, Osorio C. (2011). *Elaboración de una bebida pasteurizada a base de linaza (Linum usitatissimum) y la determinación de su efectividad en personas con estreñimiento*. [Trabajo de Grado no Publicado]. Universidad de Los Andes, Mérida- Venezuela.
- Díaz A, Otero W, Otero L. (2018). Creencias y percepciones de los pacientes con estreñimiento crónico sobre etiología, complicaciones y eficacia de las medidas generales. Una encuesta en consulta externa de gastroenterología. *Rev Colomb Gastroenterol*. 33 (4): 361-365. DOI: <http://dx.doi.org/10.22516/25007440.311>
- Ferrari, MA. (2013). Estimación de la Ingesta por Recordatorio de 24 Horas. *Diaeta*, 31(143), 20-25.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2003). Food energy - Methods of analysis and conversion factors. Report of a Technical Workshop [Documento en línea] <https://www.fao.org/3/y5022e/y5022e00.htm#Contents>
- Garrigues V, Mercader P, Mora F, Mínguez M. (2013). Guía práctica de actuación diagnóstico-terapéutica en estreñimiento crónico. Fundación Española del Aparato Digestivo (FEAD): Valencia, España.
- Garrote A, Bonet M. (2007). Reguladores intestinales. Tipos de laxantes y antidiarreicos. *Offarm Farmacia y sociedad*. 26(4): 62-68.
- Gil A. 2010. *Tratado de nutrición. Tomo II. Composición y calidad nutritiva de los alimentos*. 2ª ed. Editorial Médica Panamericana. España. p. 112-169.
- Haiek G, Orsini G, Tillett S. (2005). Higo. *Ficus carica L. Revista Facultad de Farmacia Universidad Central de Venezuela*, 68(1-2), 50-52. [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/Revista\\_Facultad/Vol\\_68-1\\_y\\_2\\_2005.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/Revista_Facultad/Vol_68-1_y_2_2005.pdf)
- Haz YM, Dos Santos R, Márquez JL, Ostojich-Cuevas Z. (2019). Elaboración de un pan con prebióticos y su efecto sobre el tránsito gastrointestinal en personas con estreñimiento. *MedULA*, 28(2), 25-32.
- Hernández P, Landaeta-Jiménez M, Herrera-Cuenca M, Meza C, Rivas O, Ramírez G, Vásquez M, Méndez-Pérez M, y el grupo del estudio ELANS. (2017). *Estudio Venezolano de Nutrición y Salud: Consumo de energía y nutrientes*. Grupo del Estudio Latinoamericano de Nutrición y Salud. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 30(1): 17-37. <https://www.analesdenutricion.org.ve/ediciones/2017/1/art-3/>
- Hernández P, Ramírez G, Vásquez M & Herrera-Cuenca M. (2021). Patrones de consumo de frutas y hortalizas en la población urbana de Venezuela. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 25(2), 165-176. <https://dx.doi.org/10.14306/renhyd.25.2.1100>
- Hosseinzadeh, S. T., Poorsaadati, S., Radkani, B., & Forootan, M. (2011). Psychological disorders in patients with chronic constipation. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*, 4(3), 159–163.
- Instituto de Investigación Agua y Salud. (2018). *Guía de Hidratación. La importancia de una hidratación natural para alcanzar un estilo de vida saludable*. [Documento en línea] <https://institutoaguaysalud.es/wp-content/uploads/2018/06/Gui%CC%81a-de-Hidratacio%CC%81n-final-RD.pdf>
- INN (Instituto Nacional de Nutrición). (2012a). *Valores de referencia de energía y nutrientes para la población venezolana*. Dirección técnica INN. Caracas (Venezuela).

- INN (Instituto Nacional de Nutrición). (2012b). *Tabla de Composición de los Alimentos*. Revisión 2012. Fondo Editorial Gente de Maíz. Caracas, Venezuela.
- Israelyan N, Del Colle A, Li Z, Park Y, Xing A, Jacobsen JPR, Luna RA, Jensen DD, Madra M, Saurman V, Rahim R, Latorre R, Law K, Carson W, Bunnett NW, Caron MG & Margolis KG. (2019). Effects of Serotonin and Slow-Release 5-Hydroxytryptophan on Gastrointestinal Motility in a Mouse Model of Depression. *Gastroenterology*. 157(2): P507-521. DOI:<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.04.022>
- Lara-Fiallos M, Lara-Gordillo P, Caridad M, Julián-Ricardo MC, Pérez-Martínez A, Benítez-Cortés I. (2017). Avances en la producción de inulina. *Tecnología Química*, 37(2), 352-366. <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v37n2/rtq16217.pdf>
- Laso J. 2013. *Diagnóstico diferencial en medicina interna*. 3era ed. Elsevier. Barcelona-España.
- López J, Martínez A, Luque A, Pons J, Vargas A, Iglesias J, Hernández M, Villegas JA. 2008. Efecto de la ingesta de un preparado lácteo con fibra dietética sobre el estreñimiento crónico primario idiopático. *Nutrición Hospitalaria*, 23 (1), 12-19. <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v23n1/original2.pdf>
- Martínez E. 2011. *Segunda parte: Hay mucha vida después de los 50*. 2ª ed. Ediciones Noufront. España.
- Mearin F, Montoro MA. (2011). *Síndrome de intestino irritable*. [https://www.aegastro.es/sites/default/files/archivos/ayudas-practicas/36\\_Sindrome\\_de\\_intestino\\_irritable.pdf](https://www.aegastro.es/sites/default/files/archivos/ayudas-practicas/36_Sindrome_de_intestino_irritable.pdf)
- Murillo-Ortiz JP, Monge-Navarro S, Herrera-Quesada A. 2016. Estreñimiento crónico: identificación de las causas en una clínica de manejo intestinal. *Acta médica costarricense*, 58 (4), 166-170. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43448498005>
- NIDDK (The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Health Information Center). 2018. *Alimentación, dieta y nutrición para el estreñimiento*. [Documento en línea] Consultado el 03 Marzo 2022 en: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/enfermedades-digestivas/estreñimiento/alimentacion-dieta-y-nutricion>
- Ohkusa, T., Koido, S., Nishikawa, Y., & Sato, N. (2019). Gut Microbiota and Chronic Constipation: A Review and Update. *Frontiers in medicine*. 6(19). <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00019>
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (2020). *Directrices de la OMS sobre actividad física y hábitos sedentarios: de un vistazo*. [Documento en línea] Consultado el 03 Marzo 2022 en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/337004/9789240014817-spa.pdf>
- Ormaechea E. (2016). *Estreñimiento en personas mayores*. [Documento en línea] Consultado el 03 Marzo 2022 en: <http://www.mapfre.es/salud/es/cinformativo/estreñimiento.shtml>
- Prieto PA y Villaseñor S. eds (2009). *Fibra. Dieta y Salud*. Instituto de Nutrición y Salud Kellogg's
- Quesada D, Manzano AC, Rivera DM. (2012). Tiempo de tránsito colónico con marcadores radiopacos: serie de casos. *Rev. Colomb Radio*. 23(4): 3573-3578.
- Remes JM, Gómez O, Icaza ME, Noble A, López A, Bielsaf MV, Charúa L. (2011). Guías de diagnóstico y tratamiento del estreñimiento en México. c) Tratamiento médico y quirúrgico. *Revista Gastroenterología Mexico*. 76(2): 141-154.
- Rondón YJ, Valera MP, Ostojich Cuevas Z, Márquez JL, Arraiz I, Zerpa SM, Quintero L. (2015). Efectividad de un yogurt elaborado con prebióticos y probióticos en personas con estreñimiento. *MedULA, Revista de Facultad de Medicina ULA*. 24(2): 76-82.
- Sánchez Almaraz R, Martín M, Palma S, López Plaza B, Bermejo López LM, Gómez C. (2015). Indicaciones de diferentes tipos de fibra en distintas patologías. *Nutr Hosp*. 31(6): 2372-2383. DOI:10.3305/nh.2015.31.6.9023
- Saz Peiró P, Ortiz M, Saz Tejero S. (2010). Cuidados en el estreñimiento. *Medicina naturista*. 4(2): 66 - 71.
- Schmulson Wasserman M, Francisconi C, Olden K, Aguilar Paíz L, Bustos-Fernández L, Cohen H, do Carmo Passos M, González-Martínez MA, Iade B, Iantorno G, Ledesma Ginatta C, López-Colombo A, Louis Pérez C, Madrid-Silva AM, Quilici F, Quintero Samudio I, Rodríguez Varón A, Suazo J, Valenzuela J, Zolezzi A. (2008). Consenso Latinoamericano de Estreñimiento Crónico. *Gastroenterología y Hepatología*. 31(2): 59-74 DOI: 10.1157/13116072

- Soliman G. A. (2019). Dietary Fiber, Atherosclerosis, and Cardiovascular Disease. *Nutrients*. 11(5): 1155. <https://doi.org/10.3390/nu11051155>
- Vandeputte D, Falony G, Vieira-Silva S, Tito RY, Joossens M & Raes J. (2016). Stool consistency is strongly associated with gut microbiota richness and composition, enterotypes and bacterial growth rates. *Gut*. 65:57-62.
- Vázquez C, Escalante A, Huerta J & Villarreal ME. (2021). Efectos de la frecuencia de consumo de alimentos ultraprocesados y su asociación con los indicadores del estado nutricional de una población económicamente activa en México. *Revista chilena de nutrición*. 48(6): 852-861.
- Vilcanqui-Pérez F, Vílchez-Perales C. (2017). Fibra dietaria: nuevas definiciones, propiedades funcionales y beneficios para la salud. Revisión. *ALAN*. 67(2): 146-156.
- Villalobos JY, De Andrade Y, Carreiro M. (2012). Evaluación del Hábito Intestinal en una Población de Personal Hospitalario. *Gen*. 66(4). [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0016-35032012000400004](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-35032012000400004)
- Yu X, Gurry T, Nguyen LTT, Richardson HS, & Alm EJ. (2020). Prebiotics and Community Composition Influence Gas Production of the Human Gut Microbiota. *mBio*. 11(5): e00217-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.00217-20>
- Zhao Y & Yu YB. (2016). Intestinal microbiota and chronic constipation. *SpringerPlus*. 5(1): 1130. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2821-1>

## Actividad citotóxica, antioxidante y antihemolítica del extracto metanólico de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf

Ramiro Quintanilla-Licea<sup>1</sup>, Nancy Edith Rodríguez-Garza<sup>1</sup>, Ángel David Torres-Hernández, María Julia Verde-Star<sup>1</sup>, Joel Horacio Elizondo-Luévano<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Química, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, N.L., Monterrey 66455, México; \* Correspondencia: joel.elizondolv@uanl.edu.mx

### RESUMEN

*Cymbopogon citratus* es una planta aromática de amplio uso como infusión a nivel mundial que destaca por sus efectos farmacológicos y biológicos. El objetivo de este artículo es investigar la actividad citotóxica, antioxidante y antihemolítica del extracto metanólico de *C. citratus*. El extracto se obtuvo por extracción con metanol absoluto utilizando un equipo Soxhlet durante 48 h y al cual se le realizaron pruebas fitoquímicas convencionales; la actividad citotóxica se evaluó mediante la técnica colorimétrica del MTT a una absorbancia (Abs) de 570 nm. Además, se evaluó el porcentaje de actividad antioxidante mediante el ensayo de radicales libres DPPH (Abs = 517 nm) y la capacidad de proteger eritrocitos expuestos frente al radical oxidante azo (AAPH, Abs = 540 nm) que provoca la oxidación de las membranas eritrocitarias. El análisis fitoquímico reveló la presencia en el extracto de *C. citratus* de cumarinas, esteroides y flavonoides. El extracto posee actividad citotóxica considerable frente a la línea de linfoma L5178Y-R (IC<sub>50</sub> = 209.2 µg/ml), no es tóxico en eritrocitos humanos (IC<sub>50</sub> = 607.0 µg/ml), además presenta una alta capacidad protectora de los eritrocitos frente al AAPH (IC<sub>50</sub> = 7.0 µg/ml). Estos resultados demuestran los potenciales efectos biológicos de *C. citratus* en ensayos in-vitro. En lo sucesivo, nuestro equipo de laboratorio seguirá trabajando para aislar e identificar los compuestos presentes en el extracto de *C. citratus* responsables de los efectos citotóxicos observados, con el fin de encontrar más alternativas para el tratamiento del cáncer.

**Palabras clave:** Citotoxicidad, Plantas medicinales mexicanas, *Cymbopogon citratus*, Zacate limón.

### ABSTRACT

*Cymbopogon citratus* is an aromatic plant widely used as an infusion worldwide that stands out for its pharmacological and biological effects. The aim of this paper is to investigate the cytotoxic, antioxidant, and antihemolytic activity of the methanolic extract of *C. citratus*. The extract was obtained by extraction with absolute methanol in Soxhlet equipment for 48 h; conventional phytochemical tests were performed; the cytotoxic activity was evaluated by MTT colorimetric technique at 570 nm. In addition, the percentage of antioxidant activity was evaluated by the DPPH (Abs = 517 nm) free radical assay and the ability to protect exposed erythrocytes against the azo radical oxidant (AAPH, Abs = 540 nm), which causes oxidation of erythrocyte membranes. The main natural products found in *C. citratus* extract were coumarins, sterols, and flavonoids. The extract possesses considerable cytotoxic activity against lymphoma line L5178Y-R (IC<sub>50</sub> = 209.2 µg/ml), is not toxic in human erythrocytes (IC<sub>50</sub> = 607.0 µg/ml), and shows a high erythrocyte protective capacity against AAPH (IC<sub>50</sub> = 7.0 µg/ml). These results demonstrate the potential biological effects of *C. citratus* in in-vitro assays. Henceforth, our laboratory

957

team will continue to work to isolate and identify the bioactive compounds from *C. citratus* extract with cytotoxic effects to find more alternatives for cancer treatment.

**Key words:** Cytotoxicity, Mexican medicinal plants, *Cymbopogon citratus*, Lemongrass.

## INTRODUCCIÓN

*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., comúnmente llamado zacate limón o té zacate limón, es una planta aromática perenne de la familia de las gramíneas y presente en países tropicales y subtropicales (Ekpenyong, Akpan and Nyoh, 2015). El consumo de infusiones del zacate limón es común en varios países desde que se descubrió el valor medicinal de la planta a lo largo de la historia (De Oliveira-E Silva *et al.*, 2022). Diversos estudios han demostrado que algunos componentes de *C. citratus* presentan efectos farmacológicos y biológicos relevantes (Vázquez-Briones and Guerrero-Beltrán, 2017). Entre las actividades biológicas de esta planta se encuentran la actividad antioxidante, neuroprotectora, antimicrobiana, antitumoral y anticancerígena (Ekpenyong, Akpan and Nyoh, 2015). En el grupo de trabajo del Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas (FCB) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) se cuenta con amplia experiencia en la extracción y evaluación de sustancias bioactivas aisladas a partir de las plantas con actividad biológica, lo cual está respaldado por una amplia cantidad de trabajos publicados (Gomez-Flores *et al.*, 2009; Molina-Garza *et al.*, 2014; Bazaldúa-Rodríguez *et al.*, 2021). El objetivo principal de esta investigación está enfocado en presentar los efectos citotóxicos en ensayos *in-vitro* que posee el zacate limón frente a células tumorales, así como su acción antioxidante y antihemolítica en eritrocitos humanos, lo cual brindara una mejor perspectiva sobre su uso seguro, así como los posibles efectos benéficos del mismo.

## METODOLOGÍA

**Reactivos:** Todos los solventes y reactivos utilizados en esta investigación fueron de grado analítico. 2,2'-azo-bis (2-amidino-propano) dihidrocloruro (AAPH), Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT), antibióticos (Penicilina/Estreptomicina/Anfotericina B), sulfóxido de dimetilo (DMSO), medios de cultivo (DMEM y RPMI-1640), metanol absoluto (MeOH), vitamina C (Vit. C) fueron adquiridos en Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA.

**Extracción y pruebas fitoquímicas:** La planta utilizada en esta investigación fue previamente identificada por el curador del Herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL a la cual se le asignó un vócher de identificación correspondiente (FCB-UNL-30644). La extracción se realizó con MeOH. Para ello, 50 g de material vegetal seco fueron sometidos a extracción con 500 ml de MeOH, utilizando un equipo Soxhlet durante 48 h para su extracción continua (Quintanilla-Licea *et al.*, 2014). Finalmente, los extractos fueron filtrados, rotaevaporados y almacenados (4 °C) en frascos ámbar hasta su posterior uso (Cárdenas-Garza *et al.*, 2021). Se utilizó la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de rendimiento de extracción (1):  $\text{Rendimiento} = (\text{Peso final} / \text{Peso Inicial}) \times 100$ . Se realizaron las siguientes pruebas fitoquímicas para determinar la presencia o ausencia de grupos funcionales:  $\text{KMnO}_4$  (insaturaciones), Antrona (hidratos de carbono), Lieberman-Buchard (esteroles), Shinoda (flavonoides), NaOH (cumarinas), Baljet (sesquiterpenlactonas), saponinas, ácido sulfúrico (quinonas), cloruro férrico (taninos) y Dragendorff (alcaloides) (Rodríguez-Garza *et al.*, 2023).

**Actividad citotóxica:** Se evaluaron dos líneas celulares con capacidad adherente las cuales fueron carcinoma hepatocelular humano (HEP-G2) y células de riñón del mono verde africano (VERO) y dos líneas celulares no adherentes las cuales corresponden a células de linfoma murino (L5178Y-R) y células mononucleares de sangre

periférica humana (PBMC). Las células adherentes se incubaron en el medio de cultivo DMEM, y las no adherentes se mantuvieron en medio de cultivo RPMI-1640. En ambos casos los medios fueron suplementados con 10 % (v/v) de suero fetal bovino suplementado con 1% (v/v) de antibiótico/antimicótico (Elizondo-Luévano *et al.*, 2022). Las células se cultivaron a 37 °C en una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> y 95% de aire. Antes de evaluar los extractos, las células se incubaron durante 24 h para su adaptación, luego se evaluaron los extractos en concentraciones de 50, 100, 250 y 500 µg/ml en un volumen final de 200 µl en una microplaca transparente de 96 pozos con fondo cóncavo y las células se incubaron durante 48 h. El control positivo (C+) consistió en el fármaco antineoplásico sulfato de vincristina (0.05 µg/ml) y como negativo (C-) se utilizó medio de cultivo sin tratar. La viabilidad de las células se determinó mediante un ensayo de reducción colorimétrica añadiendo 15 µl de MTT (concentración final de 500 µg/ml) e incubando durante 3.5 h (Ramírez-Villalobos *et al.*, 2021). Posteriormente, se disolvieron los cristales de formazán con 80 µl de DMSO y se midieron las absorbancias (Abs) a 570 nm en un lector de microplacas (MULTISKAN GO, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). La viabilidad celular se determinó mediante la siguiente fórmula (2): % de viabilidad celular = (Abs Tratamiento / Abs C-) × 100. Los valores de IC<sub>50</sub> se utilizaron para determinar el índice de Selectividad (IS) del extracto (Romero-Arguelles *et al.*, 2022). El IS se calculó con la siguiente fórmula (3) IS = IC<sub>50</sub> en células normales / IC<sub>50</sub> en células tumorales.

**Actividad antioxidante:** La actividad antioxidante se determinó mediante el método de reducción del radical DPPH (150 µM en MeOH) para lo cual, los tratamientos fueron evaluados a concentraciones de 100 a 1,000 µg/ml, e incubados a 37°C (30 min en ausencia de luz) y se realizó la medición de la Abs de cada tratamiento a 517 nm (Rodríguez-Magaña *et al.*, 2019). Como control positivo (C+), se utilizó una solución de Vit. C y como blanco (Bco) MeOH; el porcentaje de reducción del DPPH se calculó con la siguiente fórmula (4): % Reducción = (Abs Tratamiento / Abs Bco) × 100.

**Actividad hemolítica y antihemolítica:** Para este ensayo se utilizó la metodología reportada por Elizondo *et al.*, en 2020 (Elizondo-Luévano *et al.*, 2020), en eritrocitos. Para la evaluación de la hemólisis de los eritrocitos, la suspensión preparada previamente se incubó (30 min / 37 °C, en ausencia de luz) con diferentes concentraciones de los extractos, así como de soluciones testigo (50 a 1,000 µg/ml). Como C- se utilizó eritrocitos sin tratamiento y como C+ eritrocitos con agua destilada estéril (para producir la hemólisis osmótica). Para la evaluación del efecto antihemolítico, a los tratamientos se les añadió el reactivo AAPH (150 mM en PBS) más la suspensión de eritrocitos y se incubaron a 5 h a 200 rpm utilizando (37 °C) una incubadora de y en ausencia de luz. El control negativo (C-), consistió en PBS con la suspensión de eritrocitos sin añadir AAPH y como control positivo (C+), la suspensión de eritrocitos con AAPH. En ambos casos después del tiempo de incubación, los tratamientos se centrifugaron (13,000 rpm / 5 min / 4 °C), se tomaron 200 µl del sobrenadante y se pusieron en una microplaca transparente de 96 pozos con fondo plano la cual fue leída en un lector de microplacas 540 nm de Abs. El porcentaje de hemólisis y actividad antihemolítica se determinaron con las siguientes formulas (5, 6): % hemólisis = [(Abs Tratamiento – Abs C-) / (Abs C+ – Abs C-)] × 100, % de actividad antihemolítica = 100 - [(Abs Tratamiento – Abs C-) / (Abs C+ – Abs C-)] × 100].

**Análisis estadístico:** Todos los ensayos se realizaron por triplicado en al menos tres repeticiones. Se usó la prueba Anova de una vía para determinar si existía diferencia significativa entre los tratamientos y la prueba Tukey para determinar la diferencia entre las medias de los tratamientos. La concentración inhibitoria media (IC<sub>50</sub>) se determinó mediante la prueba de Probit. Los análisis se realizaron con el software SPSS, versión 23.0 (SPSS, Inc. USA). Las diferencias se consideraron significativas a  $P < 0.05$ , con un intervalo de confianza del 95 %.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Pruebas fitoquímicas

La extracción de compuestos específicos de las plantas es una estrategia utilizada, con el fin de encontrar más alternativas menos tóxicas para el tratamiento de distintas enfermedades o agentes patógenos (Quintanilla-Licea *et al.*, 2020). La tabla 1 muestra los resultados de las pruebas fitoquímicas y el rendimiento de extracción obtenido. El rendimiento de extracción fue del 23.0 %, el extracto metanólico dio negativo para las pruebas de sesquiterpenlactonas, alcaloides, quinonas, saponinas y taninos. Una técnica de extracción adecuada ayuda a aumentar el rendimiento de la extracción y a evitar la degradación de los metabolitos extraídos, lo que permite extraer fitocomponentes de mayor calidad y en mayor volumen, por lo cual normalmente, la extracción Soxhlet es la elección adecuada (Ngamwonglumlert, Devahastin and Chiewchan, 2017).

**Tabla 1.** Análisis fitoquímico del extracto metanólico de *C. citratus*

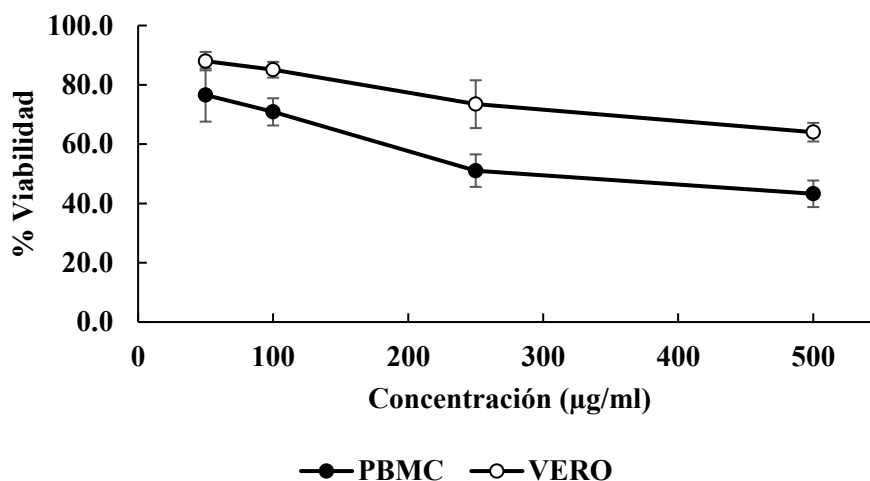
<b>Prueba fitoquímica</b>	
Insaturaciones	+
Carbohidratos	+
Sesquiterpenlactonas	-
Cumarinas	+
Alcaloides	-
Esteroles	+
Quinonas	-
Saponinas	-
Flavonoides	+
Taninos	-
% de rendimiento	23.0
+ Reacción positiva., - Reacción negativa.	

### Actividad citotóxica

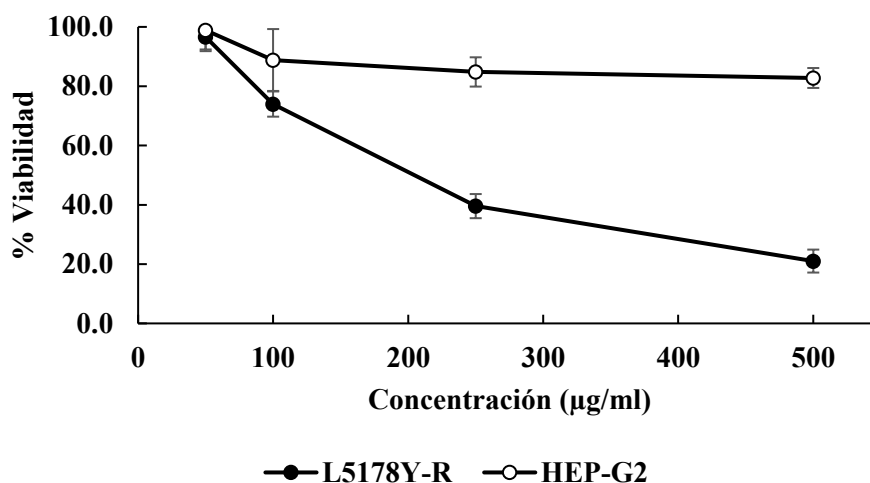
La actividad citotóxica se determinó en 2 líneas celulares tumorales y en 2 líneas celulares normales. En la figura 1 se aprecia la viabilidad celular la cual fue dependiente a la dosis, conforme aumenta la dosis del extracto disminuye la viabilidad de las células no tumorales en ambos casos y dentro de la misma línea celular, no hay diferencia ( $P > 0.05$ ) entre las concentraciones de 250 y 500  $\mu\text{g/ml}$ . En la figura 2 se observa que el extracto no presentó actividad citotóxica frente a las células HEP-G2, pues entre las concentraciones de 100 a 500  $\mu\text{g/ml}$  no hubo diferencia significativa ( $P > 0.05$ ), sin embargo, frente a las células de linfoma L5178Y-R sí hubo diferencia significativa entre las concentraciones ( $P < 0.05$ ), lo que indica un efecto antineoplásico, además se observó una toxicidad selectiva en células tumorales humanas (Guillén-Meléndez *et al.*, 2021).



**Figura 1. Viabilidad de las células no tumorales**



**Figura 2. Viabilidad de las células tumorales**



**Figura 1 y 2.** Porcentaje de viabilidad celular causado por el extracto metanólico de *C. citratus*, sobre las células no tumorales PBMC y VERO (Figura 1) y sobre las células tumorales HEP-G2 y L5178Y-R (Figura 2). Los datos se muestran como las medias  $\pm$  DE del porcentaje de viabilidad celular a distintas concentraciones ( $\mu\text{g/mL}$ ) del extracto evaluado.

En la tabla 1 se muestran las  $IC_{50}$  correspondientes a las 4 líneas celulares evaluadas así como los IS correspondientes; se observa que el extracto de *C. citratus* presentó actividad citotóxica considerable frente a la célula tumoral L5178Y-R (no adherente), sin embargo, no presentó actividad citotóxica significativa frente a las células HEP-G2 (adherentes). Para el caso de las células normales VERO el extracto presentó  $IC_{50}$  alto de 24.5  $\mu\text{g/ml}$  por lo que se consideró tóxico frente a esta línea celular. En cuanto a las células normales PBMC se obtuvo una  $IC_{50}$  de 312.4  $\mu\text{g/ml}$ , por lo que se consideró con una toxicidad media. En cuanto a la toxicidad, la concentración letal media ( $IC_{50}$ ) para que un extracto se considere no tóxico es de  $\geq 1,000$   $\mu\text{g/ml}$ , las comprendidas entre 1,000 y 500  $\mu\text{g/mL}$  se consideran ligeramente tóxicas, entre 500 y 100  $\mu\text{g/ml}$  moderadamente tóxicas y las altamente tóxicas de  $< 100$   $\mu\text{g/ml}$  (De La Cruz-Jiménez *et al.*, 2022; López Villarreal *et al.*, 2022).

**Tabla 2.** Actividad citotóxica media e índice de selectividad.

Tipo de células	Línea celular	IC <sub>50</sub> (µg/ml)	SI
No adherentes	L5178Y-R	209.2 ± 6.2	1.5
	PBMC	312.4 ± 2.9	
Adherentes	HEP-G2	1,560.0 ± 23.2	0.02
	VERO	24.5 ± 3.8	

Los datos se muestran como las medias ± DS de la IC<sub>50</sub>.

IS: Índice de selectividad.

### Actividad antioxidante, hemolítica y antihemolítica

En la tabla 3 proporcionamos los datos de tres actividades biológicas distintas en el cual reportamos las IC<sub>50</sub> correspondientes a cada una, se aprecia la capacidad antioxidante media por parte del extracto y este presenta una capacidad antioxidante de media a baja en comparación con el control, esto se puede deber al tipo de extracción utilizado y/o a los solventes utilizados en la extracción (Ngamwonglumlert, Devahastin and Chiewchan, 2017), pues se sabe que el aceite esencial de *C. citratus* posee alta actividad antioxidante en comparación con la Vit. C., además de esto se tiene reportado que dicho aceite esencial posee actividad antihemolítica en eritrocitos (De Oliveira-E Silva *et al.*, 2022), por lo que nuestros datos con el extracto metanólico, confirman su capacidad protectora frente a la oxidación de la membrana eritrocitaria. En cuanto a la capacidad hemolítica, el extracto no presentó actividad hemolítica aparente pues la concentración para inhibir el 50 por ciento de los eritrocitos fue relativamente alta en comparación con la concentración necesaria para protegerlos frente al radical AAPH, por lo que se considera que el extracto metanólico de *C. citratus* posee actividad protectora frente al radical del tipo azo AAPH.

**Tabla 3.** Actividad antioxidante, hemolítica y antihemolítica del extracto metanólico de *C. citratus*.

Actividad	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Antioxidante (DPPH)	691.0 ± 21.4
Hemolítica (Hemolisis)	607.0 ± 19.1
Antihemolítica (AAPH)	7.0 ± 1.5

Los datos se muestran como las medias ± DS de la IC<sub>50</sub>.

Entre paréntesis se indica la prueba realizada para cada actividad biológica reportada.

El C<sup>+</sup> de la prueba de DPPH (Vit.C.) presentó una IC<sub>50</sub> menor a 10 µg/ml.

### CONCLUSIONES

El extracto metanólico de *C. citratus* actúa como agente protector contra la lipoperoxidación eritrocitaria *in-vitro* cuando se evaluó en contra del agente oxidante AAPH; sin embargo, posee baja actividad antioxidante en comparación con el antioxidante estándar vitamina C. En cuanto a la actividad citotóxica *in-vitro* el extracto no presentó actividad significativa frente a las células HEP-G2, pero presentó actividad citotóxica considerable frente a las células L5178Y-R. Las perspectivas de este trabajo están orientadas a realizar un fraccionamiento bio-guiado para obtener una fracción con el compuesto bioactivo y así aislarlo y purificarlo.

**AGRADECIMIENTOS:** Un agradecimiento al Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica PAICYT por apoyar esta investigación (Reg. 307-CN-2022).

**CONFLICTO DE INTERESES:** Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

**DECLARACIÓN DE DISPONIBILIDAD DE DATOS:** Los conjuntos de datos generados o analizados durante el presente estudio están disponibles a través de los autores correspondientes.

## REFERENCIAS

Bazaldúa-Rodríguez, A. F. *et al.* (2021) 'Furanocoumarins from *Ruta chalepensis* with Amebicide Activity', *Molecules*, 26(12), p. 3684. doi: 10.3390/molecules26123684.

Cárdenas Garza, G. R. *et al.* (2021) 'Benefits of Cardamom (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) and Turmeric (*Curcuma longa* L.) Extracts for Their Applications as Natural Anti-Inflammatory Adjuvants', *Plants*, 10(9), p. 1908. doi: 10.3390/plants10091908.

De La Cruz-Jiménez, L. *et al.* (2022) 'Biological Activities of Seven Medicinal Plants Used in Chiapas, Mexico', *Plants*, 11(14), p. 1790. doi: 10.3390/plants11141790.

De Oliveira E Silva, F. *et al.* (2022) 'Cymbopogon citratus Protects Erythrocytes from Lipid Peroxidation in vitro', *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry*. Netherlands, 20(2), pp. 166–169. doi: 10.2174/1871525719666210906122948.

Ekpenyong, C. E., Akpan, E. and Nyoh, A. (2015) 'Ethnopharmacology, phytochemistry, and biological activities of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf extracts', *Chinese Journal of Natural Medicines*. China Pharmaceutical University, 13(5), pp. 321–337. doi: 10.1016/S1875-5364(15)30023-6.

Elizondo-Luévano, J. H. *et al.* (2020) 'Berberina, curcumina y quercetina como potenciales agentes con capacidad antiparasitaria', *Revista de Biología Tropical*, 68(4), pp. 1241–1249. doi: 10.15517/rbt.v68i4.42094.

Elizondo-Luévano, J. H. *et al.* (2022) 'In Vitro Cytotoxic Activity of Methanol Extracts of Selected Medicinal Plants Traditionally Used in Mexico against Human Hepatocellular Carcinoma', *Plants*, 11(21), p. 2862. doi: 10.3390/plants11212862.

Gomez-Flores, R. *et al.* (2009) 'Antitumor properties of *Gymnosperma glutinosum* leaf extracts.', *Cancer investigation*, 27(2), pp. 149–55. doi: 10.1080/07357900802192190.

Guillén-Meléndez, G. A. *et al.* (2021) 'Cytotoxic Effect In Vitro of *Acalypha monostachya* Extracts over Human Tumor Cell Lines', *Plants*, 10(11), p. 2326. doi: 10.3390/plants10112326.

López Villarreal, S. M. *et al.* (2022) 'Preliminary Study of the Antimicrobial, Anticoagulant, Antioxidant, Cytotoxic, and Anti-Inflammatory Activity of Five Selected Plants with Therapeutic Application in Dentistry.',

- International journal of environmental research and public health*, 19(13), p. 7927. doi: 10.3390/ijerph19137927.
- Molina-Garza, Z. J. *et al.* (2014) ‘Anti-*Trypanosoma cruzi* activity of 10 medicinal plants used in northeast Mexico.’, *Acta tropica*. Elsevier B.V., 136(1), pp. 14–8. doi: 10.1016/j.actatropica.2014.04.006.
- Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S. and Chiewchan, N. (2017) ‘Natural colorants: Pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods.’, *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(15), pp. 3243–3259. doi: 10.1080/10408398.2015.1109498.
- Quintanilla-Licea, R. *et al.* (2014) ‘Antiprotozoal activity against *Entamoeba histolytica* of plants used in northeast mexican traditional medicine. Bioactive compounds from *Lippia graveolens* and *Ruta chalepensis*’, *Molecules*, 19(12), pp. 21044–21065. doi: 10.3390/molecules191221044.
- Quintanilla-Licea, R. *et al.* (2020) ‘Antiprotozoal Activity against *Entamoeba histolytica* of Flavonoids Isolated from *Lippia graveolens* Kunth.’, *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(11), p. 2464. doi: 10.3390/molecules25112464.
- Ramírez-Villalobos, J. M. *et al.* (2021) ‘In Vitro Tumor Cell Growth Inhibition Induced by *Lophocereus marginatus* (DC.) S. Arias and Terrazas Endophytic Fungi Extracts.’, *International journal of environmental research and public health*, 18(18), p. 9917. doi: 10.3390/ijerph18189917.
- Rodríguez-Garza, N. E. *et al.* (2023) ‘In Vitro Biological Activity and Lymphoma Cell Growth Inhibition by Selected Mexican Medicinal Plants’, *Life*, 13(4), p. 958. doi: 10.3390/life13040958.
- Rodríguez-Magaña, M. P. *et al.* (2019) ‘Hypoglycemic Activity of *Tilia americana*, *Borago officinalis*, *Chenopodium nuttalliae*, and *Piper sanctum* on Wistar Rats’, *Journal of Diabetes Research*, 2019, p. 7836820. doi: 10.1155/2019/7836820.
- Romero-Arguelles, R. *et al.* (2022) ‘In Vitro Antitumor Activity of Endophytic and Rhizosphere Gram-Positive Bacteria from *Ibervillea sonorae* (S. Watson) Greene against L5178Y-R Lymphoma Cells.’, *International journal of environmental research and public health*, 19(2), p. 894. doi: 10.3390/ijerph19020894.
- Vázquez-Briones, M. and Guerrero-Beltrán, J. (2017) ‘Effect of essential oil of *Cymbopogon citratus* in the physicochemical properties of chitosan films’, *Scientia Agropecuaria*, 8(4), pp. 401–409. doi: 10.17268/sci.agropecu.2017.04.11.