

Investigación en las Ciencias y Tecnología de los Alimentos



Pedro García Alamilla

Laura Mercedes Lagunes Gálvez

Edith Miranda Cruz

Investigación en las Ciencias y Tecnología de los Alimentos

C O L E C C I Ó N
ÁNGEL RAMOS SÁNCHEZ
Textos de enseñanza en Ciencias Agropecuarias

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

José Manuel Piña Gutiérrez Rector
Rector

Dora María Frías Márquez
Secretaria de Servicios Académicos

Raúl Guzmán León
Secretario de Investigación, Posgrado y Vinculación

Rubicel Cruz Romero
Secretario de Servicios Administrativos

Elena Ocaña Rodríguez
Secretaria de Finanzas

Roberto Antonio Cantú Garza
Director de la División Académica de Ciencias Agropecuarias

Investigación en las Ciencias y Tecnología de los Alimentos

Pedro García Alamilla

Laura Mercedes Lagunes Gálvez

Edith Miranda Cruz

Primera edición, 2019

D. R. © Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
Av. Universidad s/n, Zona de la Cultura
Col. Magisterial, C. P. 86040
Villahermosa, Centro, Tabasco.
www.ujat.mx

ISBN: 978-607-606-514-3

El contenido de la presente obra es responsabilidad exclusiva de los autores. Queda prohibida su reproducción total sin contar previamente con la autorización expresa y por escrito del titular, en términos de la Ley Federal de Derechos de Autor. Se autoriza su reproducción parcial siempre y cuando se cite a la fuente.

Esta obra fue dictaminada mediante el sistema de pares ciegos, por un Comité Científico Interinstitucional que contó con el apoyo de evaluadores de diferentes Instituciones y dependencias públicas, así como por el Consejo Divisional Editorial de la División Académica de Ciencias Agropecuarias de la UJAT. Las denominaciones empleadas y la forma en que aparecen presentadas los datos que contiene no implican, de parte de la UJAT, juicio alguno sobre la delimitación de fronteras o límites y la mención de empresas o productos de fabricantes en particular, estén o no patentados, no implica que la UJAT los apruebe o recomiende de preferencia a otros de naturaleza similar que no se mencionan. Aunque la UJAT fomenta la reproducción y difusión parcial o total del material contenido, queda prohibida su reproducción total sin contar previamente con la autorización expresa y por escrito del titular, términos de la Ley Federal de Derechos de Autor. Su uso para fines no comerciales se autorizará de forma gratuita previa solicitud. La reproducción para la reventa u otros fines comerciales, incluidos fines educativos, podría estar sujeta a pago de derecho o tarifas.

Apoyo editorial: Calíope Bastar Dorantes
Formación: José Manuel Vázquez Broca
Responsable de la edición: Laura Mercedes Lagunes Gálvez

Hecho en Villahermosa, Tabasco, México.

ÍNDICE

Prólogo	9
Reconocimiento	11
Sección 1. Biotecnología de los Alimentos	12
Extracción, purificación y caracterización de fibroina y sericina de fibras de seda (Capullos de Bombyx mori)	13
Comparación de la ciencia de crecimiento de una levadura comercial con cepa nativa, usando como sustrato melaza	26
Sección 2. Calidad de alimentos	41
Análisis de residuos de herbicidas en frutas y vegetales frescos por el método LSE-SPE-HPLC	52
Sección 3. Desarrollo e innovación de alimentos	65
Desarrollo de una formulación para elaborar un súper alimento “barra nutritiva” de chía y amaranto	66

Evaluación sensorial de queso panela elaborado con leche de vaca (<i>Bos taurus</i>) y búfala (<i>Bubalus bubalis</i>)	79
Aplicación de estrategias para la instalación de planta productora de filete de pez armado	92
Sección 4. Ingeniería y Tecnología de los Alimentos	112
Efecto de la adición de harina de garbanzo sobre las propiedades fisicoquímicas de un yogurt natural	113
Efecto del extracto proteico obtenido a partir de látex de papaya y pulpa de piña adicionado en un condimento sobre las propiedades mecánicas y sensoriales de un corte de carne de tercera calidad	128
Sección 5. Nutrición, Alimentos y Salud	148
Efecto del deterioro de amaranto sobre sus ingredientes funcionales	149
Efecto anticancerígeno celular por ingesta de almidón modificado de banano (<i>Musa cavendish</i> AAA) en ratas tratadas con 1-2 dimetilhidrazina	164
Seguridad alimentaria en familias del poblado Chiltepec, Paraíso, Tabasco	193
Sección 6. Química y Bioquímica de los Alimentos	211
Caracterización físicoquímica de una galleta libre de gluten	212

Caracterización por espectroscopía de
infrarrojo por transformada de Fourier de
aislados proteicos de *Lupinus*
angustifolius 226

Cinética de degradación de los
compuestos bioactivos del extracto de
semillas annatto (*Bixa orellana* L.) a
diferentes condiciones de
almacenamiento 239

Sección 7. Seguridad Alimentaria 252

Cultivo de microalgas aisladas del distrito
de riego 03 para el desarrollo de métodos
de biorremediación 253

Semblanza de los Editores 271

Prólogo

La ciencia de los alimentos se perfila hacia el desarrollo de nuevas tecnologías que aseguren la calidad y seguridad de los alimentos, con un costo mínimo en su producción y utilizando técnicas amigables con el medio ambiente. Hoy en día los avances en ciencia y tecnología de los alimentos ha sorprendido al mundo, permitiéndole encontrarse con una diversidad de conocimiento que se transforma en formulaciones que se ofrecen a los consumidores, asimismo se reconoce la importancia de la nutrición y buenos hábitos alimenticios para el bienestar integral de los individuos, incluyendo su salud.

En este contexto, en la actualidad es común escuchar términos como antioxidante, probiótico, funcional o sobre los componentes de los alimentos (vitaminas, minerales, grasas omegas, entre otros), conceptos enfocados a la salud del consumidor. Adicionalmente existen otros términos de importancia como antiinflamatorio, anticancerígeno, antitumoral, osteoprotectores, y otros más que se investigan en muchas frutas, hortalizas, leguminosas y cereales, que complementan la dieta humana. De igual forma, las fuentes de proteína animal son temas de investigación recurrente en función del procesamiento para estudiar los cambios físicos, químicos, biológicos, estructurales y sensoriales, orientados a disminuir efectos negativos en la salud.

Los conceptos antes mencionados abren un amplio panorama de nuevas posibilidades para la elaboración de alimentos que aunados con la trazabilidad de los productos alimentarios permite asegurar su inocuidad y calidad. Por ello es importante que existan espacios donde se muestren los avances científicos y tecnológicos que permitirían producir alimentos y bebidas que cumplan con las demandas de calidad de los consumidores y de los mercados globales actuales, y además garanticen la seguridad alimentaria a través de procesos productivos sostenibles y eficientes, cubriendo la demanda.

Investigación en las Ciencias y Tecnología de los Alimentos

En este sentido, la presente obra es la compilación de diversos trabajos de investigación en ciencia y tecnología de los alimentos, que han sido realizados por investigadores de distintas instituciones en México y otros países de América. En ella se establecen una serie de capítulos enfocados a diferentes temáticas que se pueden abordar de forma indistinta en áreas como: biotecnología alimentaria, ingeniería y tecnología de alimentos, química y bioquímica de alimentos, calidad alimentaria, desarrollo e innovación de alimentos, nutrición, alimentación y salud, además de seguridad alimentaria. Al interior de los capítulos se encuentran investigaciones donde se desarrollan aspectos de extracción, purificación, técnicas analíticas, formulación, estudios cinéticos, caracterización, entre otras, por lo que invitamos a los estudiantes y profesionales del área a degustar una buena taza de café o chocolate rico en antioxidantes y de una buena lectura.

Reconocimiento

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT) por el apoyo económico brindado al IX Simposio Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos Dr. Mario Yanes García a través del proyecto número 293005 en la convocatoria 2018 del Programa de Apoyos para Actividades Científicas, Tecnológicas y de Innovación de la Dirección Adjunta de Desarrollo Científico. A través del Simposio se generó la información de los capítulos presentes en esta obra.

Sección 1. Biotecnología de Alimentos

Extracción, purificación y caracterización de fibroina y sericina de fibras de seda (*Capullos de Bombyx mori*)

¹Ángeles-Jiménez, A.A., ¹Aguilar-Arteaga, K., ^{*2}Castañeda-Ovando, A.,
²González Olivares, L.G., Hernández Martínez, V., Díaz-Batalla, L.

¹Universidad Politécnica de Francisco I. Madero. Ingeniería Agroindustrial.
Domicilio Conocido s/n, Francisco I. Madero, 42660 Tepatepec, Hgo., México.

²Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química.
Laboratorio de Físicoquímica de Alimentos ²Ciudad Universitaria, Carr. Pachuca-
Tulancingo km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42184. Tel: +52
(771) 7172000 ext. 2512, Fax: +52 (771) 717 2109.

e-mail: kaguilar@upfim.edu.mx

Resumen

La seda es una fuente de biopolímeros, utilizados en productos textiles; sin embargo, en la actualidad se están explorando otras aplicaciones para la sericina y fibroina proteínas mayoritarias en la seda. En el presente proyecto, cuyo objetivo es extraer, purificar y caracterizar a las proteínas de seda, se evaluaron dos métodos de extracción; el sistema abierto y en sistema cerrado. Se cuantificó la concentración de proteína en los extractos de sericina y fibroina utilizando métodos espectrofotométricos de Biuret y Bradford, usando albúmina como estándar. Se determinó el porcentaje de nitrógeno total por el método Kjeldahl en las fracciones extraídas. El mayor porcentaje de proteína se obtuvo a partir del desgomado por sistema cerrado con un porcentaje de 78.86% en fibroina y 14.29% en sericina. Mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) se obtuvieron microfotografías a 15 kV, a 15 mm de distancia y un rango de conteos de 50 a 600.

Palabras clave: *Bombyx mori*, fibroina, sericina, proteína entomológica.

Abstract

Silk is a source of biopolymers, used in textile products; however, other applications for the sericin and fibroin major proteins in silk are currently being explored. The present project, which aims to extract, purify and characterize silk proteins, evaluated two extraction methods; the open system and closed system. The concentration of protein in sericin and fibroin extracts was quantified using spectrophotometric methods of Biuret and Bradford, using albumin as standard. The total nitrogen percentage was determined by the Kjeldahl method. The highest percentage of protein was obtained from degumming by closed system with a percentage of 78.86% in fibroin and 14.29% in sericin. By means of Scanning Electron Microscopy (SEM), microphotographs were obtained at 15 kV, a 15 mm distance and a range of counts from 50 to 600.

Keywords: *Bombyx mori*, fibroin, sericin, entomological protein.

1. Introducción

Hoy en día el uso de empaques no biodegradables ha aumentado significativamente los índices de contaminación a nivel mundial (Rollandi, 2016). Por tal razón es necesario crear nuevas alternativas para combatir esta problemática, a través de la investigación en nuevos biomateriales que favorezcan la biodegradación de las materias primas empleadas. Algunos de estos materiales pueden ser residuos agroindustriales cuyo aprovechamiento necesita ser estudiado y evaluado para conocer su composición, origen y calidad, para que de esta manera se puedan determinar sus posibles aplicaciones (Henao y Márquez, 2008). Estos residuos son desechados por la industria serícola, ya que produce residuos que oscilan entre el 80% del peso total del capullo de gusano de seda *Bombyx mori* (Nand y Viswanath, 1994), donde a partir de estos residuos fibrosos se pueden extraer dos proteínas: sericina y fibroína.

La fibroína está formada por un par de fibras paralelas, unida por una capa de sericina en su superficie, representa entre el 70 y 80% del peso de las fibras de seda, está constituida principalmente por los siguientes aminoácidos: glicina, alanina, serina y tirosina (Scheibel y Hardy, 2010). Presenta buenas propiedades como dureza, fuerza, firmeza, biocompatibilidad y biodegradabilidad (Duei *et al.*, 2015) para ser utilizada en la fabricación de biomaterial en formas tan diversas como películas, esponjas, geles o andamios celulares. Es importante mencionar que la fibroína puede ser combinada con otros biopolímeros permitiendo mejorar características fisicoquímicas. La obtención de esta proteína se realiza utilizando altas concentraciones de soluciones salinas a través de un proceso de desgomado con carbonato de sodio (Na_2CO_3) el cual permite la separación con la sericina, así como el uso de altas presiones y temperaturas, sometiendo las fibras de seda a un tratamiento en autoclave.

Por otro lado, la sericina es una proteína globular soluble en agua, se obtiene como subproducto en el proceso de desgomado, constituye entre el 20 y 30% del peso de la fibra, es una proteína que se compone principalmente por glicina, serina y ácido aspártico. Las sericinas se clasifican en A, B y C de acuerdo a su solubilidad. Las sericinas A y B se disuelven sencillamente en agua a una temperatura cercana a 60 °C, mientras que la sericina C requiere temperaturas de hasta 83 °C (Pandamwar y Pawar, 2004). Esta proteína por ser de bajo peso molecular puede utilizarse en productos cosméticos para el cuidado del cabello y la piel, también es utilizada para materiales biomédicos, biomembranas funcionales, hidrogeles y en la elaboración de fibras funcionales (Zhang, 2002). Estudios han demostrado y evaluado otras propiedades de la sericina como su capacidad antioxidante, antimicrobiana, su actividad para inhibir tiroxinas. También presenta funciones farmacológicas y anticoagulantes, ayuda a combatir el cáncer y acelerar la digestión (Álvarez, 2013). La sericina, al tener contacto con agentes alcalinos, se hidroliza mediante un rompimiento en los enlaces peptídicos y que a su vez da paso a la formación de péptidos hidrosolubles (Ho et al., 2012).

2. Materiales y Métodos

Para la extracción de sericina y fibroína se evaluaron dos métodos diferentes de desgomado a los que hemos denominado: sistema abierto y cerrado.

2.1 Desgomado

Para realizar el desgomado en sistema abierto, se utilizó 200 ml de Na₂CO₃ al 0.01% y 5 g de seda nativa se calentó a baño María a una temperatura de 80 °C por una hora. Posteriormente se separaron por filtración a vacío las fibras de fibroína, lavando con agua destilada hasta que el pH de las aguas de lavado fuera neutro. A continuación, se secaron las fibras en un horno durante 1 h a 75

°C, y se almacenaron en un desecador. A la solución alcalina de sericina se le eliminó la humedad en horno durante 72 h a 100 °C, se dejaron secar y se almacenaron en desecador para análisis posteriores.

Por otra parte, el sistema cerrado consistió de los siguientes pasos. A 5 g de seda nativa en base seca se le añadió 200 ml de agua destilada y se calentaron a 1 atm y 125 °C durante 15 min. Posteriormente se separaron por filtración a vacío las fibras de fibroina. Las soluciones sobrenadantes fueron también secadas en horno a 100 °C durante 72 h. Para ambos sistemas los experimentos fueron realizados por triplicado, obteniendo los pesos de cada una de las fracciones para posteriormente calcular los porcentajes de rendimiento de extracción de ambas fracciones proteicas: fibroina y sericina.

2.2 Disolución en medio básico de fibroina.

Con la finalidad de evaluar la solubilidad de la fibroina en medio acuoso, se realizaron experimentos previos de solubilización, observando que, a pH ácidos y neutros, sin la adición de sales, no existe una disolución; sin embargo, a pH alcalinos impuestos con NaOH si se logra solubilizar a las fibras de fibroina; se evaluó el efecto que tiene el medio alcalino sobre la desnaturalización de la proteína.

2.3 Determinación de proteína mediante métodos espectrofotométricos

Para cuantificar el porcentaje de proteína en cada una de las muestras y fracciones se utilizó el método espectrofotométrico de Biuret, midiendo a una λ de 540 nm y el método de Bradford a una λ de 595 nm.

Para el método espectrofotométrico de Biuret se preparó la curva de calibración a partir de albúmina de huevo en un rango de 0 y 10 ppm en medio de NaCl al 1%, para ello se mezcló un volumen adecuado de la solución madre de albúmina (100 ppm) y el correspondiente volumen necesario de NaCl, de acuerdo con la Tabla 1. Para la determinación en las muestras, se colocaron en

cada tubo 800 μl , 900 μl y 1000 μl de muestra más 3 ml de reactivo Biuret. Se dejó reposar en oscuridad durante 20 min. Posteriormente se mide la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro Uv-Vis.

Tabla 1. Preparación de la curva de calibración por el método de Biuret.

$\mu\text{g ml}^{-1}$ (proteína)	1	2	4	6	8	10
	mg L^{-1}					
ml	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	
(albúmina)						
ml	24	24	23	23	22	
(NaCl 1%)	5	5	5	5	5	
ml	25	25	25	25	25	
total	5					

Para el método espectrofotométrico de Bradford se preparó la curva patrón de albúmina en un rango de 0 a 60 mg L^{-1} de tal manera que el volumen final en cada tubo fue de 300 μl , se mezcló el volumen adecuado de la solución madre de albúmina y el correspondiente volumen de agua destilada de acuerdo con la Tabla 2.

Tabla 2. Preparación de la curva patrón de Albúmina por el método de Bradford.

$\mu\text{g ml}^{-1}$ 1 (proteína)	1	2	3	40	5	6
	mg L^{-1}					
	0	0	0		0	0
	m	m	m	L ⁻¹	m	m
	g L^{-1}	g L^{-1}	g L^{-1}		g L^{-1}	g L^{-1}
μl	1	2	3	40	5	6

(albúmina)	0	0	0		0	0
 μl	2	2	2	260	2	2
(agua)	00	90	80	70	50	40
 μl	3	3	3	300	3	3
total	00	00	00	00	00	00

Para la determinación en las muestras, se colocó en micro tubos 100 μl, 200 μl y 300 μl de cada muestra mas 1 ml de reactivo Bradford. Se dejó reposar durante 5 min a temperatura ambiente. Posteriormente se mide en un espectrofotómetro Uv-Vis a 595 nm.

2.4 Determinación del contenido de Nitrógeno

Se cuantificó el porcentaje de Nitrógeno por el método Kjeldahl, para poder estimar la cantidad y rendimientos de los métodos de extracción evaluados, así como la pureza de las proteínas obtenidas, en las muestras y extractos obtenidos por los dos métodos evaluados para el desgomado. El porcentaje de nitrógeno se calculó utilizando la Ecuación 1.

$$\%N = \frac{(vol. de la muestra - vol del blanco)(0.1)(0.014)}{g de muestra} \times 100$$

E
c. 1

Los porcentajes de N en la muestra fue multiplicado por un factor de conversión (6.25) para obtener el porcentaje de proteína presente en cada una de las muestras analizadas.

2.5 Caracterización estructural de las fibras de seda nativa y fibroina

Para evaluar físicamente la extracción de sericina y verificar la ausencia de este sobre las fibras de fibroina, se realizó microscopia electrónica de barrido (SEM). Las microfotografías se obtuvieron a 15 kV, a 15 mm de distancia y un rango de conteos de 50 a 600. También se tomaron espectros de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).

3. Resultados y Discusión

Evaluación de la separación de sericina y fibroina (Desgomado por ambos métodos).

La etapa de desgomado permite retirar el recubrimiento de sericina, proteína que representa alrededor del 30% del peso del capullo de seda y que consiste en 18 grupos de amino ácidos que contribuye con propiedades físicas, químicas y biológicas tales como adhesión y protección hidrófoba, inconveniente en la matriz de las partículas deseadas debido a su característica aglomerante, entre otros atributos de la sericina destacan la actividad antioxidante, supresión de la oxidación de lípidos e inhibición de la actividad de la tirosina (Silva et al., 2012).

La ausencia del recubrimiento de sericina en los filamentos de fibroina se comprobó mediante Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) donde las microfotografías se obtuvieron a 15 kV, a 15 mm de distancia y un rango de conteos de 50 a 600. En la Figura 1 se puede apreciar la diferencia entre las fibras de fibroina desgomada en sistema abierto (A) y la fibra desgomada en sistema cerrado (B). En (A) exhibe fibras con una superficie parcialmente irregular, además de una capa superficial de aspecto laminar, dando mayor grosor, lo que corrobora que la fibroina desgomada en sistema abierto aún tiene fibras adheridas por la sericina. Por otro lado, en (B) muestra fibras individuales, más angostas y de superficie más homogénea y regular.

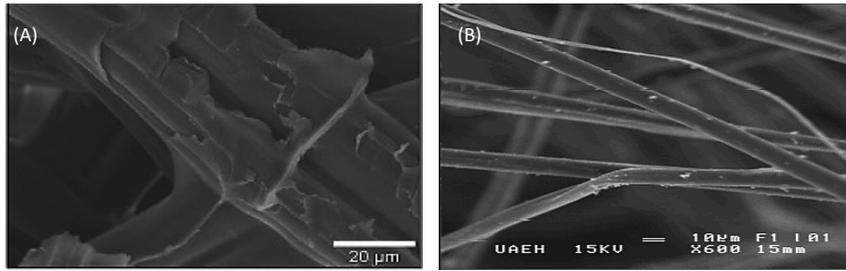


Figura 1. Microfotografías de las fibras de fibroína, (A) desgomadas en sistema abierto y, (B) fibroína desgomada en sistema cerrado.

Un espectro de FTIR mostrado en la Figura 2 exhibe la banda característica de los enlaces hidroxilo (-OH) que aparece en un rango que va desde los 3570-3200 cm^{-1} , dichos grupos se deben a su presencia en la treonina, serina y tirosina, aminoácidos estructurales de la fibroína. Cabe resaltar que la banda se presenta en una forma ancha pero definida. De igual forma se puede apreciar la banda característica del grupo funcional metileno que aparece en el rango que va de 2935-2865 cm^{-1} y se presenta de forma estrecha y definida. La aparición de dicha banda se debe a las ramificaciones tanto de la alanina como de la glicina, aminoácidos mayoritarios en la composición de la fibroína.

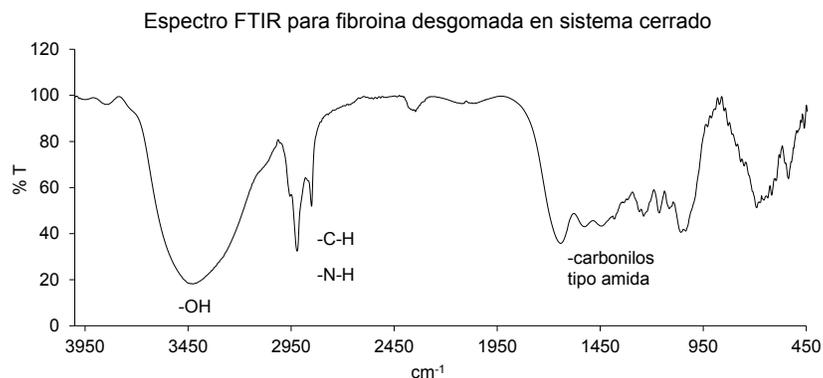


Figura 2. Espectro de FTIR para fibroína desgomada en sistema cerrado.

La determinación de la pureza de las dos fracciones proteicas, extraídas de la seda nativa mediante los dos métodos evaluados, permitirá establecer sus características, estabilidad, así como su funcionalidad en diversas aplicaciones alimenticias, que incluyen la fabricación de materiales para empaque, hidrólisis, actividad antioxidante y antimicrobiana, entre otras. Las determinaciones de nitrógeno total que se muestran en la Tabla 3, sugieren que la separación de sericina y la fibroína es más conveniente por el método de autoclave, ya que permite obtener un mayor porcentaje de N proteico en ambas fracciones obtenidas, así como eliminar la adición de sales, que posteriormente tendrían que eliminarse por microfiltración o diálisis.

Tabla 3. Porcentaje de N proteico, ligado a las fracciones de proteína obtenidas de seda nativa mediante dos métodos de desgomado diferentes.

Fracción	%N (DER, n=3)
SA	2.91 (3.89)
SMB	0.98 (10.10)
FA	12.25 (6.15)
FMB	13.00 (6.27)
SN	15.96 ()

SA: Sericina obtenida por autoclave, SMB: Sericina Obtenida en sistema abierto y medio básico, FA: Fibroína obtenida en autoclave, FMB: fibroína obtenida en medio básico y sistema abierto y SN: seda nativa.

Considerando el % de N total en SN, y los porcentajes calculados para las dos fracciones obtenidas por ambos métodos, se puede observar que el % de N para las fracciones obtenidas por autoclave se ajustan mejor si se considera que la sumatoria debe ajustar al % de N en SN. Por otro lado, un mayor % de N en la FMB confirma que la sericina no está siendo removida en su totalidad de la superficie de las fibras, lo cual fue observado mediante MEB y se muestra en las microfotografías de la Figura 1. Por otra parte, el método de alta presión no adiciona sales permitiendo la eliminación del paso de microfiltración de la sericina y mayores porcentajes de pureza en las proteínas obtenidas por este método.

Los métodos espectrofotométricos permitieron evaluar la concentración de proteína en las soluciones de sericina, así como estimar la cantidad de proteína en la fibroina disuelta en medio alcalino, y evidenciar la hidrólisis y pérdida de la proteína en medio fuertemente alcalino. La Figura 3, muestra la curva de calibración desarrollada para la determinación de proteína en solución utilizando el método Bradford, con una sensibilidad analítica de 0.0176 mg L^{-1} y un coeficiente de regresión de 0.9971.

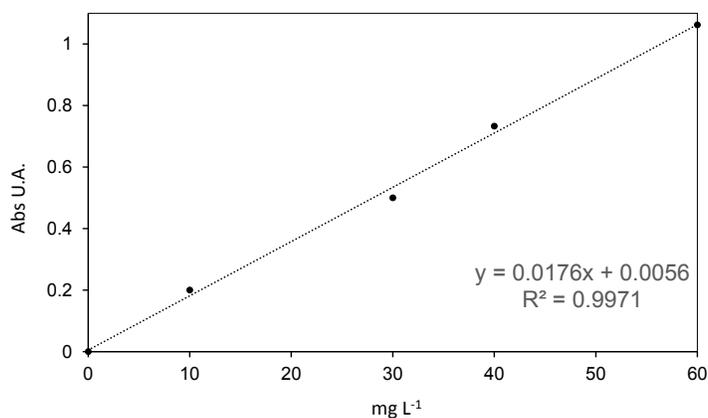


Figura 3. Curva de calibración obtenida para la cuantificación de proteína en solución mediante el método Bradford.

Utilizando el modelo lineal mostrado en la Figura 3, se calcularon las concentraciones de proteína en solución alcalina de NaOH 2 M y fibroina (después de su agitación durante 24 h) extraída con autoclave y la solución de sericina obtenida también por autoclave. Las concentraciones calculadas fueron de 46 mg L⁻¹ y 4 mg L⁻¹, respectivamente. En el primer caso la concentración encontrada muestra un deterioro de la proteína fibrosa, indicando que, aunque se logra su solubilización, en estas condiciones se hidroliza hasta sus componentes más básicos. Respecto al método Biuret mostro un coeficiente de regresión inferior al 0.96, por lo que se descartó para su aplicación en este proyecto.

4. Conclusiones

El método más apropiado para la separación de sericina y fibroina, en las condiciones evaluadas fue el método de autoclave, que contempla una temperatura de 120 °C a una atm durante 15 minutos, mostrando mejores porcentajes de N las fracciones proteicas obtenidas.

En medio altamente alcalino, se logra la solubilización de la fibroina; Sin embargo se deteriora significativamente. Por lo que se recomienda otras condiciones de solubilización e hidrolizado controlado.

La fibroina y sericina son proteínas con características apropiadas para su aplicación en la industria alimentaria y tecnología de alimentos.

Como perspectivas a este proyecto se buscará la solubilización y purificación de las fracciones proteicas, así como la hidrólisis enzimática de ambas proteínas, cuantificación de propiedades funcionales, texturales y fisicoquímicas en general.

5. Referencias

- Álvarez, C. (2013). Caracterización de sericina obtenida a partir de aguas de desengomado de seda natural. *Prospectiva*, 11 (2), 7-12.
- Duei, K. L., Cheng, Y., Peng, T. C., Win, K. Y., Jun, L. X., Yin, T. S., Low, M., Ye, E., Dong, Y. H., Wei, Z. Y., y Yong, H. M. (2015). Structures, mechanical properties and applications of silk fibroin materials. *Progress in Polymer Science*, 46, 86–110.
- Márquez, G. H. (2008). Aprovechamiento de los residuos sólidos orgánicos en Colombia. Tesis posgrado, Universidad de Antioquia, Medellín, 116.
- Ho, M., Wang, H. y Lau, K. (2012). Effect of degumming time on silk fibre for biodegradable polymer composites. *Applied Surface Science*, 258 (8), 3948-3955.
- Nand, P. y Viswanath K. (1994). Anaerobic digestion of silk industry wastes. *Bioresource Technology*, 49, 273-276.
- Pandamwar, M. N., y Pawar, A. P. (2004). Silk sericin and its applications. A review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 63 (1), 323-329.
- Rollandi, R. IC Latinoamérica. Disponible en: http://www.ic-latinoamerica.com/descargas/pdf/articulos_interes/2012-04_problematika_de_la_gestion.pdf. Consultado el 01 de Junio de 2016.
- Scheibel, J. H. (2010). Composite materials based on silk proteins. *Progress in Polymer Science*, 35 (9), 1093-1115.
- Silva, V. R. (2012). High Molecular Weight Sericin Obtained by High Temperature and Ultrafiltration Process. *Procedia Engineering*, 42, 833-841. doi: 10.1016/j.proeng.2012.07.476.
- Zhang, Y. Q. (2002). Applications of natural silk protein sericin in biomaterials. *Biotechnology Advances*, 20 (2), 91-100.

Comparación de la cinética de crecimiento de una levadura comercial con una cepa nativa, usando como sustrato melaza

Hernández, P. D A., Lázaro, C.C., Arroyo, F. P., Urrieta, S.J.M., Hernández, V.R.M., Morales, C.R.*

Instituto Tecnológico de Villahermosa. Depto. de Química, Bioquímica y Ambiental. Laboratorio de Microbiología. Carretera Villahermosa – Frontera kilómetro 3.5 Cd. Industrial, Villahermosa, Tabasco. C.P. 86016

e-mail: roberto_morales_cruz@hotmail.com

Resumen

La melaza es un residuo que se genera principalmente durante el procesamiento y la obtención de azúcar de caña, es utilizada para la elaboración de piloncillo, también conocido como panela, como aditivo en la alimentación de ganado y ampliamente utilizada en la industria de la fermentación. En este trabajo se evaluó la producción de biomasa de una levadura comercial y una cepa nativa aislada en una fermentación previa de granos de cacao en cajas. Las cinéticas de crecimiento se realizaron en matraces Erlenmeyer utilizando melaza como fuente de carbono y sustrato principal. Los medios se prepararon utilizando dos concentraciones de urea (U), 0.11 y 0.22 g L⁻¹ y dos diferentes valores iniciales de pH, 4.5 y 6.0, con el fin de determinar las condiciones más adecuadas para obtener la mayor concentración de biomasa. En cada tratamiento se determinaron: grados brix, volumen celular empacado, y cuenta de levaduras en placa. Los resultados obtenidos demuestran que ambas levaduras pueden crecer en melaza y que las condiciones de pH, y urea favorables para ambas fue de pH 4.5 y una concentración de urea de 0.11 g L⁻¹. En estas condiciones el comparativo del contenido de biomasa a las 16 h por el método de cuenta en placa, mostraron que la cepa comercial alcanzó una población de 3400 UFC ml⁻¹, en tanto que en el mismo tiempo la cepa nativa obtuvo 5400 UFC ml⁻¹. A las 24 h la concentración de levaduras continuó siendo mayor en la cepa nativa que en la cepa comercial. En esta última, se pudo observar crecimiento tipo diaúxico, no

observándose este crecimiento en la levadura nativa. Al comparar la velocidad de consumo de sustrato para las dos levaduras, mostró que el mayor valor lo presentó la levadura nativa.

Palabras clave: Levaduras, comercial, nativa, cinética, melaza.

1. Introducción

Las actividades humanas dedicadas a la transformación de las materias primas, tienden a generar residuos como parte de su producción, los cuales sin un tratamiento al ser desechados pueden generar un daño al medio ambiente debido a su cantidad y origen. En Tabasco estos residuos son generados principalmente durante el procesamiento de la leche para la elaboración de quesos y la elaboración de azúcar de caña (suero de leche y melaza), estos residuos al no tener un aprovechamiento posterior son vertidos a los desagües sin un tratamiento previo, generando un daño al medio ambiente.

El suero de leche es un líquido que deriva del proceso de producción del queso y de la caseína después de aplicar algunos procesos de separación, este fluido no tiene un tratamiento adecuado al ser desechado de una manera no controlada, con base a esto, este residuo es altamente contaminante en los mantos acuíferos en ciertas regiones del país. Y no hay suficientes tecnologías para la aplicación del procesamiento de este contaminante. Ya que, de cada 10 litros de leche que se procesan para la elaboración de queso alrededor de 7.2 y 8.5 litros se convierten en desecho como suero láctico. Tomando en cuenta que tan solo en el año 2017 se procesaron 164 mil 504 toneladas de productos lácticos, de los cuales el mayor residuo es suero de leche.

Por otra parte, la melaza es el residuo de cristalización final del azúcar, describiendo este como un jarabe o líquido denso y viscoso. Esta es comercializada en una escala pequeña como alimento de rumiantes, debido a los azúcares que esta contiene, también gracias a esto, puede ser aplicado a procesos fermentativos para obtener productos. En el país se produjeron 1.97 millones de toneladas de melaza tan solo en el año 2016. Esta no es aprovechada de una manera adecuada y por esta misma razón los productores han buscado la manera de disminuir su producción a un estimado de 500 toneladas al año.

Por ello se plantea el aprovechamiento de estos residuos orgánicos ricos en carbohidratos, como posible fuente de carbono para la obtención de biomasa como producto, a partir de una levadura comercial de *Saccharomyces cerevisiae* y una cepa nativa extraída de una fermentación de cacao. Con esto, se busca generar una disminución en el vertido de estos residuos a partir de un tratamiento que permita obtener un producto de valor económico y generar a su vez una contribución al medio ambiente.

2. Materiales y Métodos

2.1 Acondicionamiento de las materias primas

El jugo de cacao se preparó, batiendo las semillas del cacao en agua destilada, posteriormente se filtró y ajustó a 5 °Brix

2.2 Técnicas microscópicas

Tinción en fresco

Se realiza un frotis tomando una gota de la muestra, fijándolo al calor.

Tinción de Gram

1. Se realiza la tinción del frotis previamente fijado al calor con cristal violeta durante 1 minuto. Haciendo que las células se tiñan de color azul-violeta.
2. Se añade la solución de yodo lugol y se deja actuar durante 1 minuto. Para que el cristal violeta se fije a las células.
3. Posteriormente se decolora brevemente con alcohol- acetona alrededor de 15 segundos. Las células Gram positivas permanecen color azul-violeta mientras que las Gram negativas se decoloran.
4. Por último, se tiñe con safranina durante 1 minuto. Las células Gram negativas toman un color rosa o rojo.

2.3 Análisis fisicoquímicos

Determinación de grados Brix

Para ello se utilizó un refractómetro digital. Previo a su uso se calibró, con agua destilada, colocando unas gotas sobre el prisma para obtener una lectura de cero. Una vez verificada la lectura a cero °Brix. Se retiró el agua con ayuda de un paño suave.

Medición del pH

Para tomar las lecturas del pH se utilizó pH-metro digital, el cual se calibra en soluciones buffer a diferentes pH para lecturas más precisas.

2.4 Técnicas microbiológicas

Volumen empacado

Se toma una muestra concentrada con una pipeta Pasteur, y se añade a un tubo Wintrobe, este se introduce a la centrífuga, previamente programada a 30,000 rpm durante 10 minutos, una vez transcurrido el tiempo se observa la cantidad de sedimento obtenido.

Cuenta directa en cámara de Neubauer

A un tubo de dilución, se le añaden dos gotas de una dilución de azul de metileno, posteriormente se introduce el líquido por capilaridad entre la cámara y el cubreobjetos. Se observa la retícula al microscopio con el aumento apropiado y se cuentan las células.

Cuenta en placa

Se preparan tubos de ensayo con 9ml de agua estéril. Se toma 1 ml de muestra con una pipeta estéril, seguidamente se introduce en un tubo de ensayo con 9 ml de agua estéril para obtener diluciones decimales 1:10, se agita en un

vórtex alrededor de 3-5 segundos. Posteriormente se toma 1ml de nuestra dilución 1:10 y se coloca en otro tubo con 9 ml de agua estéril, para obtener nuestra dilución 1:100 y así sucesivamente hasta obtener todas las diluciones necesarias.

Se añade 1 ml de la muestra líquida diluida en las cajas Petri, utilizando una pipeta estéril. Se vierte 15 ml de agar papa dextrosa acidificado, fundido y manteniéndolo a 45 °C en un baño maría. El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución primaria y el momento en que es vertido el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos.

Se mezcla cuidadosamente el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis en el sentido de las manecillas del reloj, seis en el sentido contrario y seis de atrás hacia adelante, sobre una superficie lisa. Se deja la mezcla solidificar, dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría.

Las cajas son invertidas y colocadas en la incubadora a 25 °C durante 24 h. Posteriormente se cuenta el total de colonias, multiplicando el total por el inverso de la dilución y se reportan, unidades formadoras de colonias por gramo o mililitro (UFC g⁻¹ o ml⁻¹) de levaduras en agar papa-dextrosa acidificado.

3. Resultados y Discusión

Cinéticas de degradación y crecimiento con las condiciones y parámetros establecidos

En la Figura 1 se puede observar los efectos de los tratamientos pH1N1, pH1N2, pH2N1 en los °Brix a través del tiempo, en las cinéticas realizadas con melaza. Se especifica que se partió de una concentración de grados brix aproximadamente de 5, se logró registrar que a las condiciones con pH1 tuvieron disminuciones notables a partir de las 8 h.

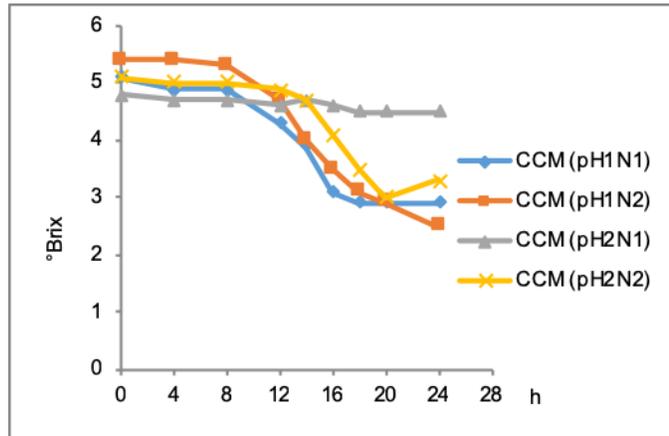


Figura 1. Medición de °Brix levadura comercial.

En la Figura 2 se observa que los tratamientos pH1N1, pH1N2 pH2N1, son las que presentaron una disminución de °Brix mayor en comparación con el tratamiento restante, siendo más evidente a partir de la 12 h.

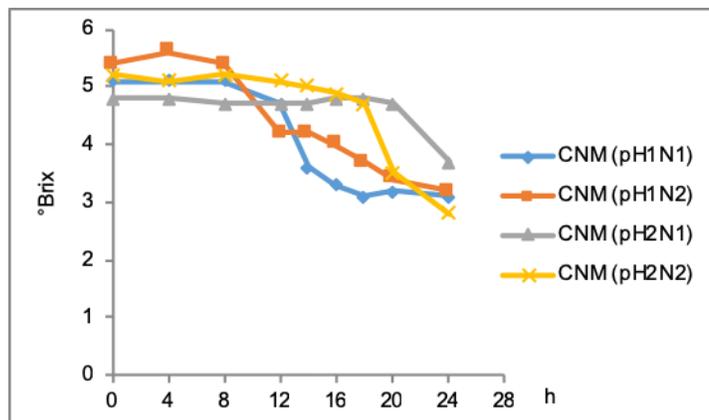


Figura 2. Medición de °Brix levadura nativa.

En la Figura 3 se observa que el tratamiento pH1N2 es la que presenta mayor incremento de biomasa celular, es importante mencionar que en el tratamiento pH1N1 hubo menos variación y presenta un incremento de biomasa considerable, no tan favorable como el tratamiento antes mencionado.

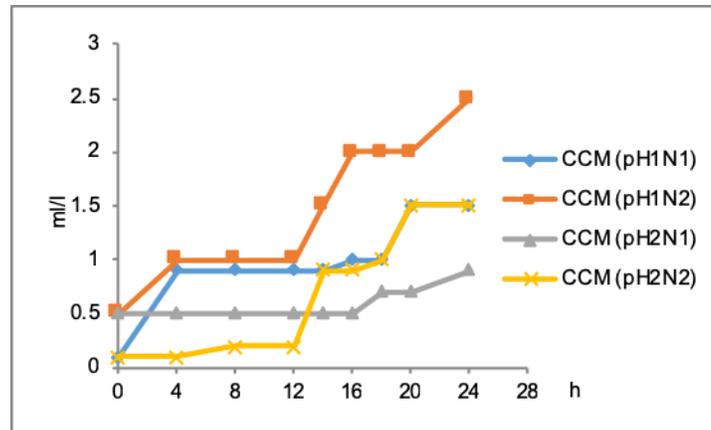


Figura 3. Volumen empacado levadura comercial.

En la Figura 4 se muestra que el tratamiento pH1N1 es la que presenta mayor incremento de la biomasa celular, seguida de la pH1N2 siendo esto evidente a partir de 4 h.

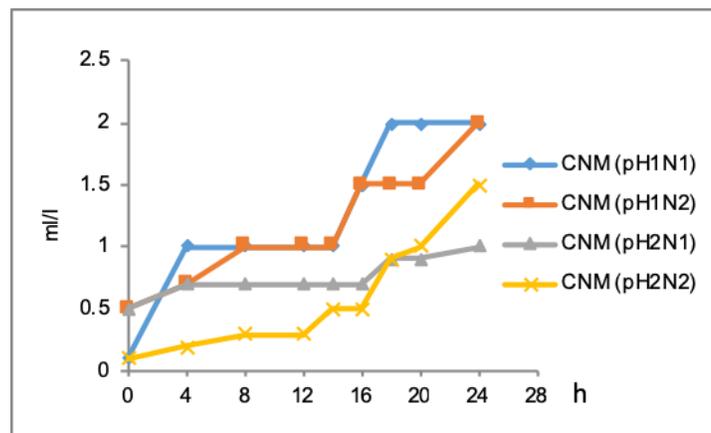


Figura 4. Volumen empacado levadura nativa.

En la Figura 5 se puede observar que el tratamiento pH1N2 es la que presenta mayor incremento de células ml^{-1} siendo esto evidente a partir de 4 h, seguida de la pH1N1 en la cual se observa el incremento de células ml^{-1} en la hora 8.

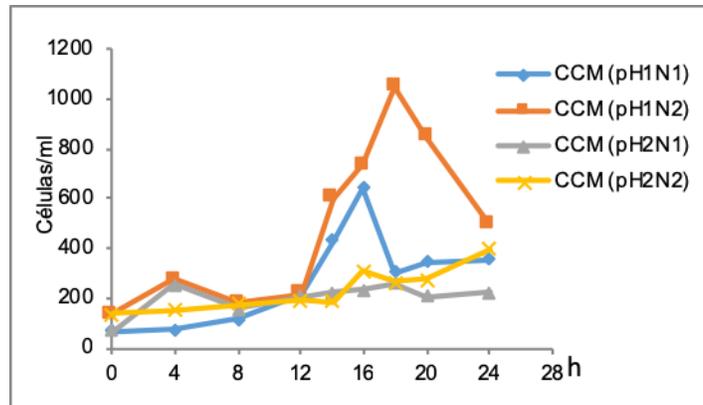


Figura 5. Cuenta directa levadura comercial.

La Figura 6 muestra que el tratamiento pH1N2 es la que presenta mayor incremento de células ml^{-1} evidente a partir de 12 h, seguida de la pH1N1 en la cual se observa el incremento de células ml^{-1} en la hora 8.

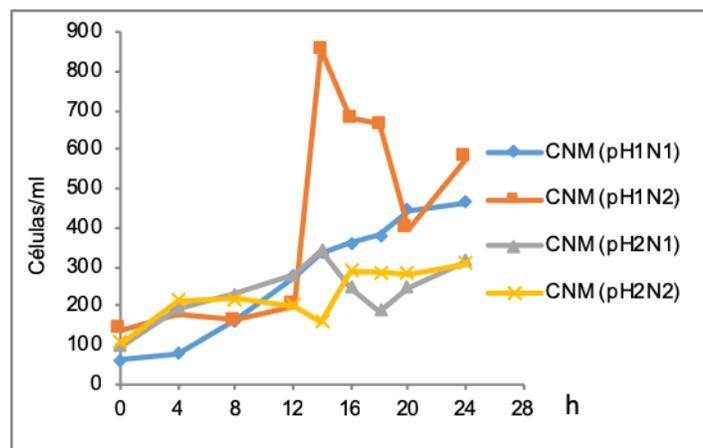


Figura 6. Cuenta directa levadura nativa.

En la Figura 7 se muestra que los tratamientos pH1N2, pH1N1 son las que presentan un mayor incremento en las UFC ml⁻¹ siendo esto evidente a partir de las 8 h, manteniéndose en fase exponencial hasta el final de la cinética.

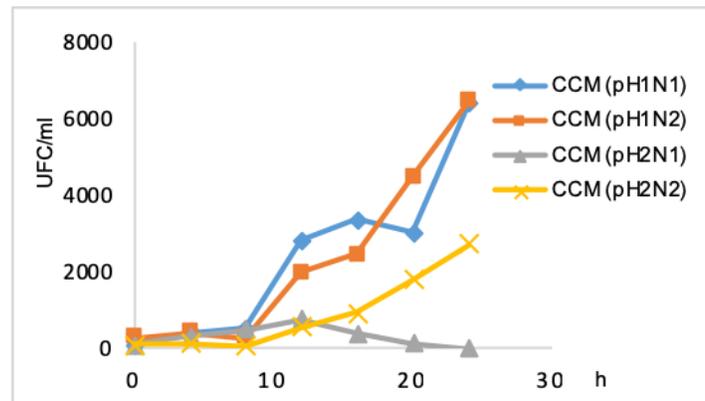


Figura 7. Cuenta en placa levadura comercial.

En la Figura 8 se presenta que el tratamiento pH1N1 es la que presenta un mayor incremento en las UFC ml⁻¹ a partir de las 8 h, manteniéndose en fase exponencial hasta las 24 h.

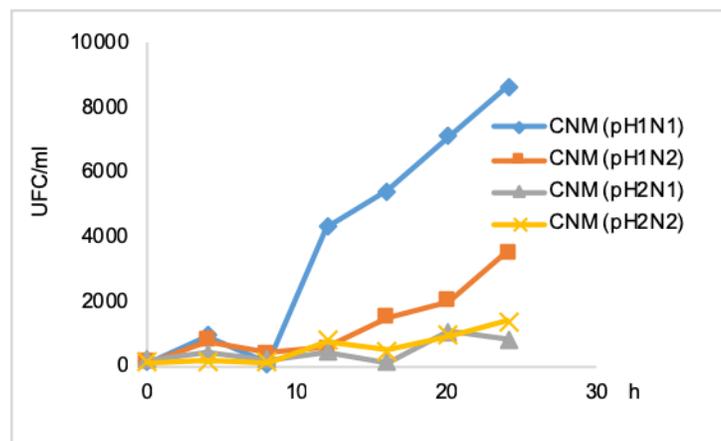


Figura 8. Cuenta en placa levadura nativa.

Análisis estadístico para la selección de sustrato

La Tabla 1 muestra el comportamiento con respecto a la degradación de azúcares de la levadura comercial y la levadura nativa en el medio de melaza.

Tabla 1. *Tasa máxima en degradación de azúcares en ambas cepas.*

Melaza	q_s
CCM	- 0.0233
CNM	- 0.058

La Tabla 2 representa la velocidad máxima de crecimiento durante la fase exponencial de volumen empacado de ambas cepas en el medio de melaza con respecto al tiempo.

Tabla 2. *Velocidad máxima de crecimiento por volumen empacado en ambas cepas.*

Melaza	μ máxima
CCM	0.0 88
CNM	0.0 752

Se puede observar en la Tabla 3 que el comportamiento de la levadura nativa es similar al de la levadura comercial en el mismo método, ya que su velocidad máxima de crecimiento celular es semejante.

Tabla 3. *Velocidad máxima en crecimiento células ml⁻¹ en ambas cepas.*

Melaza	μ máxima
CCM	0.0 605
CNM	0.0 459

De igual manera en la Tabla 4 encontramos la velocidad máxima de crecimiento por las UFC ml⁻¹ de levadura nativa y levadura comercial con respecto al tiempo de incubación en el medio de melaza.

Tabla 4. *Velocidad máxima en UFC/ml en ambas cepas*

Melaza	μ máxima
CCM	0.1 808
CNM	0.0 502

4. Conclusiones

Al hacer la selección de levaduras nativas extraídas de una fermentación de cacao, se observó que la cepa CL9 presento mejor rendimiento tanto en tubos como en pruebas de fermentación, es por eso que, esta cepa fue la que se utilizó para experimentos posteriores.

Después de la selección de levadura nativa, el sustrato necesario para la fermentación como fuente de carbono y a los resultados analizados, se puede determinar que la melaza es un residuo orgánico no aprovechado que favorece el crecimiento no solo de la levadura comercial de *Saccharomyces cerevisiae*, sino también de levaduras nativas. No obstante, cabe mencionar que se logró el crecimiento en el suero de leche, sin embargo, este crecimiento no fue mayor al obtenido con la melaza.

En cuanto a los valores de pH y concentración de urea agregados a la melaza como fuente de carbono, para encontrar condiciones óptimas que favorecieran el crecimiento de ambas cepas, se encontró que las condiciones favorables son pH 4.5 y concentraciones de urea de 0.11 g L^{-1} y 0.22 g L^{-1} (pH1N1 y pH1N2). Sin embargo, cabe destacar que la cepa de levadura comercial obtuvo mayor crecimiento aplicando ambas condiciones con pH1 obteniendo hasta $6000 \times 10^{10} \text{ UFC ml}^{-1}$ y ambas concentraciones de urea, y la cepa nativa $8000 \times 10^{10} \text{ UFC ml}^{-1}$.

5. Referencias

Hernández, R. (2012). Manual de Prácticas de Microbiología. pp. 20-21.

Manovacía, N. (2008). Evaluación del contenido de nutrientes y producción de biomasa en cepas de levadura colombianas y comerciales. Universidad Nacional de Colombia. Facultad Nacional de Agronomía. Medellín, Colombia.

- Peñuela, M. (2001). Evaluación de medios de cultivo preparados a partir de suero de leche enriquecido, para la producción de ácido láctico, con *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus casei*. Universidad de Antioquia. Departamento de Ingeniería Química. Medellín, Colombia. pp 37.
- Picado, C. (1942). El agua de coco como medio de cultivo. Oficina Sanitaria Panamericana. Laboratorios del Hospital de San José, Costa Rica. San José. pp 960 – 966.
- Zumbado, W. (2006). Selección de una levadura para la producción de biomasa: crecimiento en suero de queso. Universidad de Costa Rica. Agronomía mesoamericana. Alajuela, Costa Rica. pp 153 – 155.
- Hernández, E. (1979). Producción de proteína unicelular mediante cultivo continuo de levadura en suero de leche desproteinizado. Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía. Maracaibo, Venezuela. pp 470.
- Díaz, D. (2011). Desarrollo de un inóculo con diferentes sustratos mediante fermentación sólida sumergida. REDVET. Veterinaria Organización. Málaga, España. 4 – 6.
- Cruz, S. (2015). Estudio cinético a nivel de matraz para la obtención de levadura, utilizando residuos orgánicos de la región (Suero de leche, jugo de cacao y melaza). Instituto Tecnológico de Villahermosa. Ingeniería Bioquímica. Tabasco, México. pp 28 – 39.
- Madigan, M. (2009). Brock: Biología de los microorganismos. Duodécima edición. Editorial Pearson Educación, S.A., Madrid, España. pp 812 – 839.
- Pelczar, M. (1984). Microbiología. Cuarta edición. Editorial McGraw-Hill. México. pp 271 – 288.

Scragg, A. (1996). Biotecnología para ingenieros: sistemas biológicos en procesos tecnológicos. Primera edición. Editorial Limusa, México. pp 191 – 203.

López, N. (2013). Optimización de condiciones de cultivo de *S. cerevisiae* a nivel matraz utilizando el banano de rechazo como sustrato. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico de Villahermosa, México.

Sección 2.

Calidad de

Alimentos

Análisis de residuos de herbicidas en frutas y vegetales frescos por el método LSE-SPE-HPLC

¹Miranda-Cruz, E.,* ¹Rodríguez Alvarado, J.A., ¹Rodríguez Blanco, L., ¹Salinas, Hernández, R.Ma., ¹Ochoa, Flores, A.A.

¹División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Kilómetro 25, Carretera Villahermosa-Teapa; Centro, Tabasco. México. C.P. 86800.

e-mail correspondencia: emiranda_01@yahoo.com.mx

Resumen

El uso inadecuado de los plaguicidas con el fin incrementar la productividad de los cultivos favorece la presencia de sus residuos en las frutas y vegetales frescos, afectando de esta manera la salud de los consumidores. Por consiguiente, diversos países y organizaciones han establecido el Límite Máximo de Residuo (LMR) de un plaguicida con el fin de monitorear su contenido en las frutas y vegetales para su comercialización. Este monitoreo incluye la utilización de métodos analíticos para la identificación y/o cuantificación de plaguicidas. El objetivo del presente trabajo fue determinar los residuos de Az, Sz y Pz en 10 muestras de frutas y vegetales frescos procedentes de tres supermercados (S1, S2 y S3) en Tabasco, utilizando el método LSE-SPE-HPLC. Este método permitió cuantificar residuos de clorotriazinas a niveles de concentración superiores a 0.005 ppm. La Az se manifestó con mayor frecuencia en el total de muestras analizadas, prestándose los niveles más altos en caña de azúcar y elote (0.15 y 0.13 ppm, respectivamente), cuyos valores son menores al LMR establecidos a nivel nacional. El tomate, la cebolla y el pimiento fueron los vegetales que registraron un valor de frecuencia menor en residuos de clorotriazinas. Las muestras procedentes del S3 presentaron niveles trazas de las tres clorotriazinas. Las muestras de vegetales y frutas estudiados cumplen con los valores del LMR de Az, Sz y Pz, establecidos tanto por la CICLOPLAFEST como el Codex Alimentarius.

Palabras Clave: Clorotriazinas, Frutas, Vegetales Frescos, HPLC, SPE

Abstract

The improper use of pesticides in crops in order to increase their productivity favors the presence of their residues in fresh fruits and vegetables, thus affecting the health of consumers. Therefore, several countries and organizations have established the Maximum Residue Limit (MRL) of a pesticide in order to monitor its content in fruits and vegetables for commercialization. This monitoring includes the use of analytical methods for the identification and / or quantification of pesticides. The objective of the present work was to determine the residues of Az, Sz and Pz in 10 samples of fresh fruits and vegetables from three supermarkets (S1, S2 and S3) in Tabasco, using the LSE-SPE-HPLC method. This method allowed the quantification of chlorotriazine residues at concentration levels higher than 0.005 ppm. The Az occurred more frequently in the total samples analyzed, with the highest levels in sugar cane and corn (0.15 and 0.13 ppm, respectively), whose values are lower than the MRL established at the national level. The tomato, onion and pepper were the vegetables that registered a lower frequency value in chlorotriazine residues. Samples from S3 showed trace levels of the three chlorotriazines. The samples of vegetables and fruits studied comply with the MRL values of Az, Sz and Pz, established by both the CICLOPLAFEST and the Codex Alimentarius.

Keywords: Chlorotriazines, Fresh Fruits, Fresh Vegetables.

1. Introducción

Las frutas son una fuente natural de vitaminas y minerales. Una ración de 3 a 4 frutas aporta una gran cantidad y variedad de vitaminas y minerales principalmente vitamina C, la cual es esencial para el organismo ya que éste no la sintetiza. Las frutas hidratan el organismo rápidamente, así mismo, ayudan al correcto funcionamiento del aparato digestivo. El consumo de frutas facilita el drenaje de líquidos, además de que aportan fibras vegetales solubles. Las frutas no aportan grasas pero sí una gran cantidad de antioxidantes naturales. Por otra parte, las hortalizas son de gran importancia para la alimentación y buena nutrición de las personas. Sus hojas, frutos, raíces, tallos y flores son consumidos para satisfacer las necesidades del organismo, por su alto contenido de minerales, vitaminas y proteínas que contribuyen a mejorar y mantener una buena salud. Las hortalizas son muy importantes ya que proveen de energía al organismo, además de que proporcionan protección al cuerpo contra ciertas enfermedades (FAO, 2011).

Sin embargo, el uso de plaguicidas en los cultivos de frutas y verduras ha traído consigo un efecto adverso en la salud humana, debido a que su mal manejo propicia la presencia de sus residuos en los productos de la cosecha y afecta de una manera negativa la calidad de los mismos. Aunque el uso de plaguicidas ha generado muchos beneficios en la producción agrícola a nivel mundial, el mal uso de los mismos ha producido diferentes formas de contaminación ambiental que a su vez afectan a los productos agrícolas por la acumulación de sus residuos (Guerrero, 2003; Pierre y Betancourt, 2007). Este uso inadecuado, tiene relación con la acumulación de residuos en el producto cosechado, afectando negativamente su calidad alimenticia y su seguridad toxicológica, además de la salud de los consumidores (Pierre y Betancourt, 2007).

Un plaguicida “es cualquier sustancia o mezcla de sustancias que se destina a controlar cualquier plaga, incluidos los vectores que transmiten enfermedades humanas y de animales, las especies no deseadas que causen perjuicio o que

interfieran con la producción agropecuaria y forestal, por ejemplo; las que causan daño durante el almacenamiento o transporte de los alimentos u otros bienes materiales, así como las que interfieran con el bienestar del hombre y de los animales que ocasionan un daño duradero u otras que interfieren con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte y comercialización de los alimentos” (COFEPRIS 2015; FAO, 2002). Los plaguicidas usados en el sector agrícola para la producción de alimentos son un conjunto de sustancias con características variadas y se distinguen principalmente dos grupos: el primero definido por el organismo sobre el cual actúan (insecticidas, herbicidas, acaricidas, fungicidas, raticidas, etc.), y el segundo, se sustenta en la estructura química del plaguicida (organoclorados, organofosforados, carbamatos, ácidos carboxílicos, piretroides, amidas, anilinas, fenoles, imidas, aminas entre otros (Badii y Landeros, 2007).

Dentro de los plaguicidas mayormente utilizados por los agricultores de los Estados Unidos y México se encuentran los herbicidas, empleados para el control de malezas en los cultivos. Los herbicidas son una mezcla de sustancias destinadas a matar o inhibir el crecimiento de plantas que son consideradas indeseables, entre ellas las denominadas malezas o malas hierbas que afectan la calidad de los cultivos. Existen varios tipos de herbicidas: los residuales que persisten por mucho tiempo; los no residuales que actúan sobre las plantas expuestas y su efecto no es persistente; los sistémicos que se traslocan dentro de la planta; los de contacto que actúan en un punto de contacto donde ejercen su efecto y no se traslocan, los selectivos que atacan a grupos particulares de plantas y, por último, los no selectivos los cuales actúan sobre todo tipo de plantas (Mendoza, 2011; Miranda-Cruz, 2010).

Las triazinas son los herbicidas que se utilizan con mayor frecuencia en el control de malezas durante el cultivo de hortalizas, frutas, raíces y semillas; siendo las de mayor uso comercial las triazinas simétricas que se caracterizan por su baja solubilidad en agua. En condiciones normales de almacenamiento son estables; se hidrolizan en medio alcalino o ácido a temperaturas elevadas; por lo

general, son compuestos débilmente básicos, poco solubles y de baja polaridad, estables tanto en estado sólido como en disolución (Gutiérrez, 2015).

Los herbicidas triazinicos se emplean en las etapas de pre y postemergencia de los cultivos de caña de azúcar, maíz, piña, plátano, naranja, avena, cebada, espárrago, lenteja, papa, sorgo, zanahoria, chícharo, tomate y trigo, entre otros (Flores, 2000). Están considerados como productos fitosanitarios utilizados para controlar especies vegetales no deseadas por su impacto negativo en la producción y rendimiento. La actividad más importante de las triazinas es la destrucción de plantas en los primeros estados de desarrollo, de diez a quince días después de la germinación, y destruyen una amplia gama de hierbas, tanto anuales como perennes (EPA, 2015).

La contaminación de alimentos por plaguicidas, la mayoría de veces, es causada por un mal manejo en las etapas finales del desarrollo de los productos agrícolas, durante su almacenamiento, transporte y/o procesado (Idrovo, 1999; Guerrero, 2003). La presencia de sus residuos en los alimentos se debe principalmente al uso indiscriminado de éstos en la agricultura y, porque su eliminación depende de diversos factores como el crecimiento propio del vegetal, la acción de agentes atmosféricos como la lluvia y el viento, su grado de solubilidad y volatilidad, el tipo de degradación química que sufra y la naturaleza química del propio plaguicida, así como la importancia de considerar el cumplimiento del intervalo de seguridad recomendado (Ortiz *et al.*, 2003; Pérez *et al.*, 2013).

Los residuos de pesticidas son pequeñas cantidades de pesticidas o subproductos de su degradación que permanecen y se acumulan en los alimentos recolectados o almacenados, de tal forma que al ser ingeridos en grandes cantidades por el ser humano pueden afectar su salud. El 85% de los alimentos no contienen residuos de pesticidas y los que si contienen, se presentan en cantidades muy bajas y supuestamente seguras para los consumidores. Por consiguiente, dado que el consumo de alimentos con residuos de plaguicidas constituye un peligro para la salud humana, la Comisión del Codex Alimentarius

(a través del Comité de Residuos de Plaguicidas), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO) han estudiado la toxicidad de los plaguicidas en los alimentos y han establecido el Límite Máximo de Residuos (LMR) de plaguicidas en ellos a través de un programa conjunto de normas alimenticias. El LMR es la concentración máxima de residuos de plaguicidas expresada en miligramos de sustancia química por kilogramo de producto (mg/kg) o partes por millón (ppm) para que se permita legalmente su uso en la superficie o la parte interna de los productos alimenticios para consumo humano y piensos.

De igual forma, diversos países realizan sus propios estudios toxicológicos para establecer los LMR que deberán cumplir los productos agrícolas que ingresen a sus mercados (Codex Alimentarius, 2016; Miranda; 2006). Los alimentos que cumplen los LMR se consideran toxicológicamente aceptables (Badii y Landeros, 2007). Para conocer el contenido de un plaguicida o sus residuos en un alimento es necesaria la implementación de métodos y técnicas analíticas que permitan cuantificar los residuos de estas sustancias y compararlos con los valores de LMR establecidos por la legislación correspondiente. La mayoría de los métodos para la determinación de residuos de plaguicidas en alimentos constan de tres etapas principales: la primera que consiste en la preparación de la muestra, la cual es crucial para obtener resultados precisos; la segunda etapa que corresponde a la extracción y concentración del analito de interés. Ambas etapas ocupan aproximadamente el 60% del tiempo de análisis; y la tercera etapa referida a la detección y/o cuantificación del analito por la técnica analítica seleccionada. Para realizar la selección de una metodología es necesario considerar como principales criterios que el método sea fácil, rápido, de bajo costo y muy eficaz y sobre todo para una amplia aplicación de matrices (Pérez *et al.*, 2013).

Los métodos comúnmente empleados en la extracción de analitos corresponden a extracción sólido-líquido (LSE) mediante el empleo de solventes orgánicos auxiliado de agitación o ultrasonido, donde se trabaja tanto con la fase acuosa como con la orgánica; esta etapa puede repetirse de una a tres veces

juntando las fases correspondientes; extracción en fase sólida (SPE) y microextracción en fase sólida (SPME). Con relación a la limpieza de la muestra en muchas ocasiones se realiza extracción líquido-líquido (LLE) seleccionando cuidadosamente el solvente a emplear, o bien fases sólidas con distintos polímeros, y con menor frecuencia extracción líquida con membranas (MLE) y microextracción en fase sólida (SPME). Finalmente, para el proceso de preconcentración de la muestra, la mayoría de las veces se recurre la SPE o bien por evaporación a sequedad (Miranda-Cruz *et al.*, 2010).

Actualmente, existe una amplia gama de técnicas analíticas que permiten la identificación y cuantificación de los principios activos de los plaguicidas utilizados comúnmente en diversos cultivos, sin embargo, la mayoría de ellas son costosas o requieren de equipos costosos y sofisticados. En diversos casos, la identificación y cuantificación de los analitos (triazinas) se ha realizado mediante el empleo de patrón interno y/o mediante curvas de calibración, respectivamente (Rodríguez-Gonzalo *et al.*, 2009). En particular, para el análisis de triazinas en muestras alimentarias, se han descrito métodos basados en cromatografía líquida con dos sistemas de detección: ultravioleta/visible HPLC-UV/VIS y espectrometría de masas LC-MS. También se han utilizado distintos métodos basados en reacciones heterogéneas antígeno-anticuerpo con anticuerpos unidos a una enzima (ELISA). Otras técnicas también descritas son las de cromatografía de gases con analizadores de masas o detectores de fotometría de llama (GC-FTD) y las de cromatografía en capa fina (TLC).

En México, aún no existen metodologías establecidas o reguladas para la determinación de plaguicidas triazínicos en hortalizas, por lo que en muchas ocasiones se siguen las establecidas por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos. Cualquiera que sea la técnica analítica utilizada, se necesita de una etapa de “acondicionamiento de la muestra”, que incluye extracción, eliminación de interferentes (limpieza) y preconcentración. Para desarrollar esta etapa es necesario conocer las características fisicoquímicas del analito (Miranda-Cruz *et al.*, 2010).

2. Materiales y Métodos

2.1 Selección de supermercados y frutas y vegetales frescos.

Los tres supermercados comerciales (S1, S2 y S3) seleccionados son representantes en la venta de frutas y vegetales frescos, en el municipio de Centro, Villahermosa, Tabasco. La selección de frutas y vegetales frescos se realizó con base en la demanda del producto, el uso autorizado del grupo de herbicidas de las clorotriazinas utilizadas en los distintos cultivos (CICOPLAFEST, 2016) y lo reportado en investigaciones previas. Las frutas y vegetales frescos seleccionados fueron: caña de azúcar, maíz, naranja, papa, apio, tomate, cebolla y pimiento (estos tres últimos se incluyeron por su alto consumo per cápita).

2.2 Herbicidas estudiados

Atrazina (Az), propazina (Pz) y simazina (Sz).

2.3 Reactivos y materiales

Los solventes orgánicos utilizados fueron: acetonitrilo (ACN) y metanol (MeOH) de grado HPLC, marca comercial Merck (Darmstadt, Alemania) y agua UHQ (ultra high quality) adquirida en Merck. La Az, Sz y Pz se adquirieron en Sigma-Aldrich, marca Riedel de Han (Hannover, Alemania), con un porcentaje mínimo de pureza superior al 98%. Las soluciones madre de cada herbicida se prepararon en metanol (MeOH) a una concentración de 100-500 mg/L y se almacenaron a 4 °C en frascos ámbar herméticamente cerrados. Como material de SPE se utilizó una fase sólida de una mezcla de polímeros denominado Oasis MCX®, marca Waters (Milford, EEUU). Se utilizó como patrón estándar interno a la Ametrina (Am), cuya solución madre se preparó en metanol (MeOH) a una concentración de 100 mg L⁻¹ y se almacenó 4 °C en un frasco ámbar herméticamente cerrado.

2.4 Toma de muestras y almacenamiento:

Se obtuvo una muestra representativa con un muestreo aleatorio simple, y el número de unidades correspondió a lo indicado en el método de muestreo para la determinación de residuos de plaguicidas del CAC/GL 33-1999 y en el Manual Técnico de Muestreo de Productos Agrícolas para Determinación de Residuos de Plaguicidas (2014). El etiquetado de muestras se realizó con base en los elementos necesarios indicados en el Manual Técnico de Muestreo de Productos Agrícolas para la Determinación de Residuos de Plaguicidas de SAGARPA-SENASICA (2014). Después de recolectar las frutas y vegetales frescos y etiquetarlas, éstas se colocaron en una nevera y fueron trasladadas al Laboratorio para su almacenamiento a 4 °C y posterior análisis.

2.5 Tratamiento de muestras para la extracción de analitos

Cada muestra se procedió a su trituración mediante el empleo de una licuadora, marca comercial Moulinex Classic Metallic, a una velocidad media indicada con el número 2. Esta muestra molida se dividió en 10 submuestras, a partir de las cuales se constituyó una muestra de 100-200 g, y a partir de esta última submuestra se pesaron 5 g para proceder al proceso extracción-limpieza-preconcentración.

2.6 Extracción sólido-líquido (LSE) asistida por ultrasonido

Se utilizó el método propuesto por Rodríguez-Gonzalo *et al.* (2009); y por cada muestra se realizaron tres repeticiones. Cada muestra se colocó en un tubo de centrífuga con tapa de 45 ml de capacidad y se le adicionaron 15 ml de agua ultrapura, colocándose la tapa para proceder a la extracción en el baño de ultrasonido (Branson, Serie MH, Mod. 3800) por 10 minutos a una temperatura entre 25-30 °C. Transcurrido el tiempo, a cada muestra se le adicionó 10 ml de solución extractante diclorometano/acetona/n-hexano (1:1:1 v/v) y se colocaron nuevamente en el ultrasonido por otros 10 minutos. Una vez concluido el tiempo

de extracción en ultrasonido se procedió a la separación de las fases líquidas (orgánica y acuosa), y la fase sólida mediante la centrifugación a 17776 g por 10 minutos en una Centrífuga Multiuso 5810/R de Eppendorf; el sobrenadante de la fase acuosa se colectó con la ayuda de una pipeta pasteur en un recipiente para su desecho. La reproducibilidad y precisión del método de extracción se realizó mediante el enriquecimiento de las muestras de frutas y vegetales frescos con una solución estándar de las clorotriazinas a una concentración de 0.05 ppm.

2.7 Extracción en fase sólida (SPE)

La fase orgánica se adicionó por gravedad a los cartuchos Oasis MCX, colocados sobre un colector Vac Elut 20 bajo vacío durante 10 min a 20 mm Hg (1 mm Hg = 133.322 Pa). La elución de los componentes retenidos se realizó con 4 ml de una mezcla de hidróxido de amonio/MeOH (15:85 v/v) y se colectó en un vial de vidrio de 4.5 ml con tapa. Los extractos se llevaron a sequedad bajo una corriente de nitrógeno y baño maría a temperatura de 40-50 °C. se empleó como fase sólida un Oasis MCX de Waters previamente acondicionado, a través del cual se pasó la fase orgánica obtenida y el extracto resultante se evaporó a sequedad.

2.8 Detección por HPLC

El extracto seco se reconstituyó con 2 ml de ACN/MeOH (50:50 v/v), y una alícuota de 20 μ L se utilizó para su inyección en el equipo de HPLC SpectraSYSTEM P4000 (Florida, USA), equipado con un detector UV-DAD-6000LP, una bomba de vacío para desgasificar SpectraSYSTEM y un sistema de inyección manual. Se registraron las señales de absorbancia de 200 a 300 nm. La fase móvil empleada fue acetonitrilo (ACN)-0.005 M de tampón fosfato (pH 7.2), el gradiente de elución inicio con 2.0% de ACN que aumento linealmente en 15 minutos a 45%, en 30 minutos a 50%, después en 2 minutos regreso a las condiciones iniciales. La columna se equilibró durante 5 minutos y el caudal empleado fue de

1.0 ml/min. La columna empleada fue una Spherisorb S5 ODS2 de 4.0 mm X 250 mm empaquetada con partículas de 5 µm de octadecil-silano, adquirida a Waters (Milford, MA, USA). La temperatura de la columna fue la temperatura ambiente. La señal analítica empleada fue el área del pico (PA) normalizado contra un patrón interno.

3. Resultados y Discusión

Los supermercados donde se llevó a cabo el muestreo fueron seleccionados de acuerdo a la afluencia de personas que acuden a ellos; se omite el nombre de los mismos a petición de los involucrados (Supermercado 1, S1, Supermercado 2, S2 y Supermercado 3, S3). Las frutas y vegetales frescos de estudio seleccionados fueron: caña de azúcar, maíz (elote), naranja, papa, apio, tomate, cebolla y pimienta, con base en el uso de triazinas en la producción de dichos cultivos (CICLOPPLAFEST, 2016), su consumo per cápita (SIAP, 2016) y los residuos de estos herbicidas reportados por otros autores. Se realizaron dos muestreos con base en los meses indicados en la Tabla 1 y Tabla 2; asimismo se indica la nomenclatura empleada en la identificación de muestras.

Tabla 1. *Identificación de muestras para el primer muestreo.*

Fruta y/o vegetal fresco	Mes	S1	S2	S3
Caña de azúcar	Enero	CA- M1-S1	CA- M1-S2	CA- M1-S3
Maíz (elote)	Mayo	MA- M1-S1	MA- M1-S2	MA- M1-S3
Naranja	Marzo	NA- M1-S1	NA- M1-S2	NA- M1-S3

Papa	Enero	PA- M1-S1	PA- M1-S2	PA- M1-S3
Papa	Marzo	PA- M2-S1	PA- M2-S2	PA- M2-S3
Apio	Enero	AP- M1-S1	AP- M1-S2	AP- M1-S3
Tomate*	Enero	TO- M1-S1	TO- M1-S2	TO- M1-S3
Cebolla*	Enero	CE- M1-S1	CE- M1-S2	CE- M1-S3
Pimiento*	Enero	PI- M1-S1	PI- M1-S2	PI- M1-S3

Supermercado 1, S1, Supermercado 2, S2 y Supermercado 3, S3.

Tabla 2. *Identificación de muestras para el segundo muestreo.*

Fruta y/o vegetal fresco	Mes	S1	S2	S3
Caña de azúcar	Julio	CA- M2-S1	CA- M2-S2	CA- M2-S3
Maíz (elote)	Octu- bre	MA- M2-S1	MA- M2-S2	MA- M2-S3
Naranja	Novi- embre	NA- M2-S1	NA- M2-S2	NA- M2-S3

Papa	Julio	PA-M3- S1	PA- M3-S2	PA- M3-S3
Apio	Julio	AP-M2- S1	AP- M2-S2	AP- M2-S3
Tomate	Julio	TO- M2-S1	TO- M2-S2	TO- M2-S3
Cebolla	Julio	CE-M2- S1	CE- M2-S2	CE- M2-S3
Pimiento	Julio	PI-M2- S1	PI-M2- S2	PI- M2-S3

Supermercado 1, S1, Supermercado 2, S2 y Supermercado 3, S3.

Para verificar la reproducibilidad y precisión del método se doparon las muestras en estudio con Az, Sz y Pz (0.01 ppm) y se procedió a aplicar el método LSE-SPE-HPLC. Con base en los cromatogramas obtenidos no se presentaron interferentes, mostrándose muestras limpias durante su análisis por HPLC; por lo tanto la metodología no requirió de modificación alguna en sus distintas etapas para la obtención de los analitos en estudio. Los porcentajes de recuperación de Az, Pz, y Sz en las muestras dopadas fueron superiores al 95%, con coeficientes de variación inferiores al 15 o 20% para la mayoría de las analitos y %RSD inferiores al de rechazo (%RDS=2.5).

En la Tabla 3 y 4 se muestran los resultados de la cuantificación y/o detección de Az, Pz y Sz en las frutas y vegetales frescos estudiados para los dos muestreos y tres supermercados. Con base en los datos reportados se observa que las muestras correspondientes al primer muestreo y para los tres

supermercados (Tabla 3) presentaron los valores más altos de residuos de Az con respecto al segundo muestreo (Tabla 4), con oscilaciones entre 0.01 mg L⁻¹ a 0.15 mg L⁻¹, seguida de la Sz y Pz. También en el primer muestreo se manifiesta un mayor número de muestras con detección de clorotriazinas, incluyendo las muestras con presencia de trazas de estos herbicidas. Con base en el total de muestras procedentes de los tres supermercados, el S3 presentó un mayor número de muestras con residuos de clorotriazinas, incluyendo las muestras con niveles de trazas; mientras que las muestras del S1, mostraron una menor detección de residuos de clorotriazinas.

Tabla 3. Contenido de clorotriazinas en frutas y vegetales frescos estudiados en el primer mes de muestreo.

Muestra	Supermercado 1			Supermercado 2			Supermercado 3		
	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
	←----- ppm -----→								
C									
A-M1-S1	.15	d	.01	d	d	.01	.11	d	.05
M									
A-M1-S1	C	d	C	.13	d	d	C	d	C
N									
A-M1-S1	.02	d	d	C	d	C	.01	d	d
P									
A-M1-S1	d	d	d	d	d	d	d	d	d
P									
A-M2-S1	.01	d	d	.02	d	d	C	d	d
A									

P-M1-S1	d	d	d	d	C	d	d	d	C
T									
O-M1-S1	d	d	d	d	d	d	C	d	d
C									
E-M1-S1	d	d	C	C	C	d	C	d	d
PI									
-M1-S1	C	d	d	d	d	C	d	C	d

NC= No cuantificable por el método; nd=No detectado. (n=3 por cada muestra).

Tabla 4. Contenido de clorotriazinas en frutas y vegetales frescos estudiados en el segundo mes de muestreo.

Muestra	Super mercado 1		Supermercado 2		Supermercado 3				
	z	z	z	z	z	z			
←----- ppm -----→									
C									
A-M2-S1	d	d	.01	.12	d	d	.05	d	d
M									
A-M2-S1	d	d	d	d	d	.01	C	d	C
N									
A-M2-S1	d	d	C	d	d	d	C	d	d

	P									
A-M3-	d	C	d	C	d	d	d	.01	d	
S1										
	A									
P-M2-	C	d	d	d	C	d	C	d	d	
S1										
	T									
O-M2-	d	d	d	.01	d	d	d	d	d	
S1										
	C									
E-M2-	C	C	d	d	d	.01	d	d	C	
S1										
	P									
I-M2-	d	d	d	d	C	d	C	d	.01	
S1										

NC= No cuantificable por el método, es decir trazas; nd=No detectado. (n=3 por cada muestra).

En la Figura 1 se muestra el contenido máximo (ppm) de clorotriazinas encontrado para cada fruta y vegetal fresco estudiado, considerando los tres supermercados y los dos meses de muestreo, con el fin de indicar los valores máximos que se registraron de estos herbicidas en el presente estudio. Como se puede observar la caña de azúcar y el maíz fueron las muestras que presentaron mayor cantidad de residuos de clorotriazinas (0.15 ppm y 0.13 ppm, respectivamente); la naranja y la papa presentaron la misma cantidad de residuos de clorotriazinas (0.02 ppm) y, por último, el tomate, la cebolla y el pimiento fueron los vegetales que menor cantidad de residuos de clorotriazinas

presentaron (0.01 ppm cada uno); mientras que en el caso del apio no se detectó la presencia de estos herbicidas.

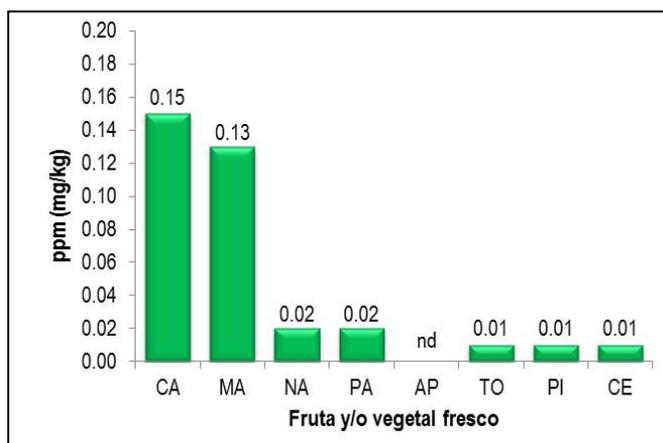


Figura 1. Contenido máximo (ppm) de clorotriazinas encontrados en las frutas y vegetales frescos estudiados. [Para N= 18 por cada muestra considerando los tres supermercados y los dos muestreos. (CA = caña de azúcar, MA = maíz (elote), NA = naranja, PA = papa; AP = apio; TO = tomate, CE = cebolla, PI = pimienta). NC: No cuantificable.

En la Figura 2 se muestra la frecuencia porcentual de la presencia de residuos de clorotriazinas en las muestras estudiadas procedentes de los tres supermercados. El 51.0% de las muestras estudiadas presentaron residuos cuantificables de Az, el 29.4% presentó trazas de este herbicida y el 19.6% de las muestras no se detectó. El contenido de residuos de Az en las frutas y hortalizas estudiadas puede ser debido a diversas causas, entre ellas el uso inadecuado de esta clorotriazina en las prácticas agrícolas durante el establecimiento, desarrollo y producción de los cultivos, en particular durante la producción de caña de azúcar y maíz. Con relación a la Pz, el 13.7% de las muestras procedentes de los tres supermercados manifestaron la presencia de residuos de esta clorotriazina, el 13.7.0% trazas y 2.0% valores entre el 0.005 al 0.15%, mientras que en el 84.3% no se encontraron residuos de Pz. En cuanto a la Sz, el

13.7% de las muestras analizadas presentaron residuos de simazina, el 17.6% trazas y en el 68.6% de las muestras estudiadas no se detectó.

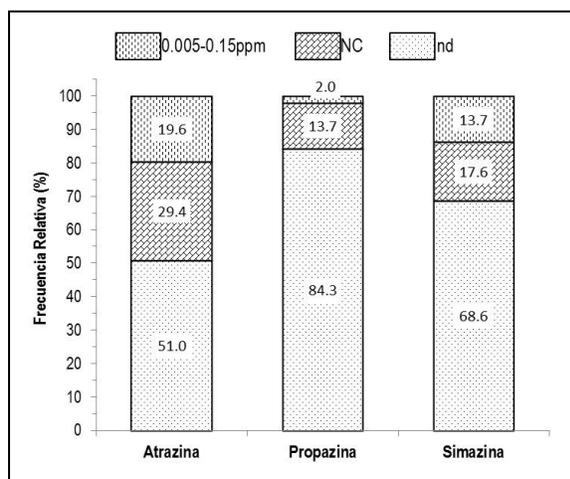


Figura 2. Frecuencia relativa porcentual del contenido de Az, Sz y Pz que presentan las muestras de frutas y vegetales frescos estudiados. N= 51 por cada muestra considerando los tres supermercados y los dos muestreos. (NC=trazas, nd=no detectada).

De acuerdo con García y Percy (2011), las clorotriazinas fueron desarrolladas para su aplicación en la etapa de pre-emergencia y/o post-emergencia, y la causa principal de la presencia de residuos de Az y Sz en las frutas y vegetales frescos se debe a que la mayor aplicación de clorotriazinas se realiza en la etapa de post-emergencia.

En la Figura 3 se muestra un análisis de la frecuencia relativa porcentual de la presencia de las clorotriazinas estudiadas por cada supermercado; en esta Figura se observa que el 58.8% de las muestras procedentes del S1 no presentaron residuos de Az, el 23.5% de las muestras registró trazas y el resto no se detectó este analito. El 88.2% de muestras no presentaron residuos de Pz, y el

11.8 de las muestras registró solo trazas; y por último el 70.6% de las muestras no presentaron residuos de Sz, el 17.6% manifestó solo trazas y 11.8% presentó valores entre el 0.005 al 0.15 ppm de residuos de este analito. En el caso del S2, el 23.5% de las muestras presentaron residuos de Az a niveles de concentración de 0.005 a 13 ppm, el 17.7% trazas de este analito y en el 58.8% de las muestras no se detectó; el 76.5% y 70.6% de muestras no presentaron residuos de Pz y Sz, respectivamente, y sólo el 17.6% de las muestras presentaron Sz con niveles de concentración que oscilaron entre el 0.005 al 0.13%. Con relación al S3, los valores de frecuencia correspondieron al 17.6%, 5.9%, y 11.8% de residuos de Az, Pz y Sz respectivamente, cuyos valores oscilaron entre el 0.005 al 0.11 ppm. El 35.3% de muestras no registro residuos de Az, el 88.2% de Pz y el 64.7% de Sz.

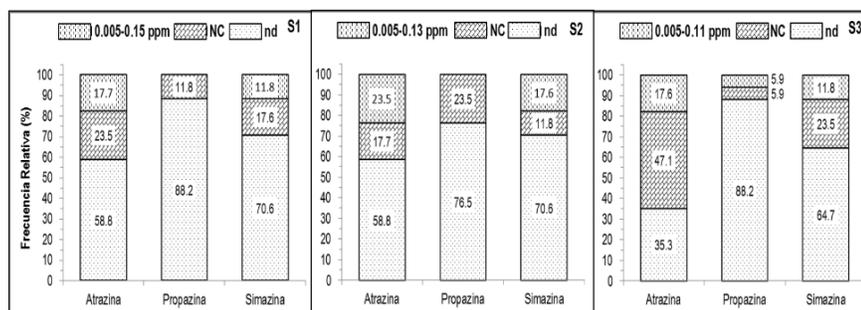


Figura 3. Frecuencia relativa del contenido de Az, Pz y Sz en las muestras de frutas y vegetales frescos procedentes de los tres supermercados (S1, S2 y S3). N=17 (NC=trazas, nd=no detectada).

Es importante señalar que en los tres supermercados, predominó la presencia de Az seguida de la Sz y Pz; mientras que en las muestras procedentes del S3 manifestaron la presencia de residuos de las tres clorotriazinas, con niveles de concentración que oscilaron entre el 0.005 al 0.11ppm, con una frecuencia relativa de 17.6%, 5.9% y 11.8% para Az, Pz y Sz, respectivamente. Aunque cabe mencionar que estos valores se encuentran por debajo de los LMR establecidos por CICLOPLAFEST para este tipo de muestras. Algunos autores reportan que la presencia de niveles traza de estos herbicidas en las muestras

estudiadas se debe probablemente a una contaminación cruzada, durante su cosecha, transporte y distribución.

Es importante destacar que la topografía del suelo, donde se establecen los cultivos de frutas y vegetales frescos, es uno de los factores que influye en la gran variabilidad de datos obtenidos en el contenido de clorotriazinas, dado que la pendiente de los terrenos influye significativamente sobre la dinámica de los plaguicidas en el suelo y, por ende, en su adsorción y absorción por los cultivos. Además, la topografía del suelo afecta los procesos de lixiviación y arrastre del propio plaguicida, los cuales, a su vez, dependen de las características fisicoquímicas, tanto del plaguicida como del suelo y de la cantidad de agua contenida en el suelo, ya sea por lluvia o por riego (Duffiner *et al.*, 2012; Leistra y Boesten, 2010).

Por otro lado, la aplicación de plaguicidas en una etapa tardía impide su eliminación durante el ciclo biológico de la planta (Pérez *et al.*, 2013). Por ejemplo, a la cebolla su naturaleza biológica la hace un vegetal fácil de acumular residuos (Cejudo–Espinosa *et al.*, 2009). En el caso de la papa por su naturaleza vegetal y nutricional es vulnerable a la acumulación de residuos de clorotriazinas, y es propensa a la acumulación específica de atrazina (García y Percy, 2011); además como es un tubérculo; la atrazina es absorbida por la parte lipídica de la raíz, debido a su afinidad con la parte hidrofílica de la atrazina (Cejudo – Espinosa *et al.*, 2009). Por otra parte, la vida media de la atrazina contribuye considerablemente a la acumulación de sus residuos (Hansen *et al.*, 2013).

4. Conclusión

La atrazina se manifestó con mayor frecuencia en el total de muestras analizadas, considerando los dos muestreos y los tres supermercados. La caña de azúcar y el elote (maíz) presentaron los niveles de Az más altos (0.15 y 0.13 ppm, respectivamente), pero con valores menores al LMR establecidos a nivel nacional. Estas muestras correspondieron al primer muestreo, en cuyos meses se

encuentra la mayor producción de estos cultivos. El tomate, la cebolla y el pimiento registraron la menor frecuencia porcentual de residuos de clorotriazinas, tanto cuantificable como de trazas.

Las muestras procedentes del S3 presentaron el mayor porcentaje de frecuencia de residuos de clorotriazinas a niveles de trazas; no obstante cumplen con los LMR establecidos a nivel nacional.

Las muestras de vegetales y frutas estudiados (caña de azúcar, elote (maíz), naranja, papa, apio, tomate, cebolla y pimiento) cumplen con los valores del LMR de Az, Sz, y Pz establecidos tanto por la CICLOPLAFEST como por el Codex Alimentarius.

El método propuesto LSE-SPE-HPLC es recomendable para el análisis cuantitativo de residuos de clorotriazinas en muestras de caña de azúcar, elote (maíz), naranja, papa, apio, tomate, cebolla y pimiento en fresco, debido a su simplicidad y bajo costo, alta recuperación de analitos (valores superiores al 95%), con coeficientes de variación inferiores al 15 o 20% para la mayoría de las analitos y los valores del %RSD fueron inferiores al de rechazo (%RDS=2.5).

5. Referencias

- Badii H. M. y Landeros J. (2007) Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *Revista CULCyT. Toxicología de plaguicidas*. 19 (4), 21–34.
- Cejudo–Espinosa, E., Velásquez-Zepeda, A. y Rodríguez–Vásquez, R. (2009). Adsorción de atrazina en secciones circulares de raíces de tres plantas de humedales. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 8 (1), 35–39.
- COFEPRIS (2015). *Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios*. Disponible en: <http://www.cofepris.gob.mx/wb/cfp/plaguicidasyfertilizantes> Consultado el 13 de febrero del 2016.

- Duffiner, A., Ingwersen, J., Hugenschmidt, C. y Streck, T. (2012). Pesticide transport pathways from a sloped Litchi orchard to an adjacent tropical stream as identified by hydrograph separation. *Revista Science Engineer*. 41 (4), 1315-1323.
- EPA (2015). *Agencia de Protección Ambiental*. Disponible en: <http://www.epa.gov/>. Consultado el 06 de octubre del 2015.
- FAO (2002) Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de plaguicidas. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-a0220s.pdf>. Consultado el 10 de octubre de 2017.
- García P. G. y Percy S. P. (2011). Eficiencia de la dosis de diferentes formulaciones del herbicida atrazina + simazina en el control de malezas en el cultivo de maíz. *Revista Investigación Agraria*. 13 (2), 81–86.
- Guerrero, J. (2003). Residuos de plaguicidas en frutas y vegetales frescos en áreas específicas de Colombia. *Revista de Agronomía Colombiana*. 21 (3), 198–209.
- Gutiérrez, D.M. (2015). Triazinas en urgencias toxicológicas. Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: <http://encolombia.com/medicina/guiasmed/utoxicologicas/triazinas/> Consultado el 7 de marzo del 2016.
- Hansen, A. M., Treviño–Quintanilla, L.G., Márquez–Pacheco, H., Villada– Canela, M., González–Márquez, L.C., Guillen–Garcés, R.A. y Hernández–Antonio, A. (2013). Atrazina: un plaguicida polémico. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 29 (2), 65–84.
- Idrovo, A. J. (1999). Intoxicaciones masivas con plaguicidas en Colombia. *Revista Biomédica*, 19 (3), 67-76.

- Leistra, M. y Boesten, J. (2010). Pesticide leaching from agricultural fields with ridges and furrows. *Water Air Soil Pollut.* 4 (2), 147–152.
- Mendoza, C. A. (2011). Información general sobre los herbicidas. Disponible en: http://www.inecc.gob.mx/descargas/biosecuridad/2011_simp_ogm_tolerancia_pres1.pdf. Consultado el 14 de agosto del 2016.
- Miranda-Cruz, E., Carabias-Martínez, R., Rodríguez-Gonzalo, E., Domínguez-Álvarez, J. y Hernández-Méndez, J. (2010). Determinación preliminar de residuos de herbicidas en productos agroalimentarios frescos mediante PLE – SPE – NACE. V *Simposio Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Dr. Mario Yanes García., Tabasco, México.
- Pérez, M. A., Navarro, H. y Miranda, E. (2013). Residuos de plaguicidas en hortalizas: Problemática y riesgo en México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental.* 29 (2), 45–64.
- Pierre, F. y Betancourt, P. (2007). Residuos de plaguicidas organoclorados y organofosforados en el cultivo de cebolla en la depresión de Quíbor, Venezuela. *Bioagro.* 19 (2), 69-78.
- Rodríguez-Gonzalo, E., Martínez-Carabias, R., Miranda-Cruz, E., Álvarez-Domínguez, J. y Méndez-Hernández, J. (2009). Ultrasonic solvent extraction and nonaqueous CE for the determination of herbicide residues in potatoes. *Journal of Separation Science.* 32 (2), 575–584.

Sección 3. Desarrollo e Innovación de Alimentos

Desarrollo de una formulación para elaborar un super alimento “Barra nutritiva” de chía y amaranto

Flores Pérez, I.V., Jiménez-Vera V. y Martínez-Manrique, E.*

Laboratorio de Bioquímica y Fisiología de Granos, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, FES-Cuautitlán, C-4, UNAM. Km 2.5 Carretera Cuautitlán-Teoloyucan 54700, Cuautitlán Izcalli, México. Teléfono 56231999 ext. 39428.

*e-mail: tallerdecereales.fesc@yahoo.com.mx.

Resumen

México tiene una diversidad de productos agroalimentarios tradicionales, con importantes virtudes nutricionales y que han sido utilizados durante cientos de años por los pueblos indígenas. Muchos de esos productos hoy en día son considerados superalimentos porque tienen un alto valor nutrimental, ejemplos de ellos son la chía y el amaranto, pero poco se consumen de manera directa y mucho menos en alimentos procesados, por lo que incluir estos granos en productos con alto consumo como una barra nutritiva mejoraría la calidad nutrimental del alimento y en consecuencia la nutrición de quien lo consume. Con base en lo anterior, en este proyecto se planteó elaborar una barra nutritiva incorporando harinas de chía y amaranto, para mejorar su calidad nutrimental. Se evaluaron diferentes formulaciones mediante una prueba sensorial de preferencia para seleccionar la mejor. La barra seleccionada se evaluó en su composición química y sus propiedades nutricionales, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos; así como una prueba sensorial de nivel de agrado. Los resultados mostraron que la formulación seleccionada fue 20-20-60% harinas de amaranto-chía-trigo respectivamente, la cual tuvo una mejor calidad nutrimental que las barras comerciales, control y tuvo una aceptación sensorial del 71% y una calificación de 7.25.

Palabras clave: Amaranto, Chía, Barra nutritiva, Superalimento, Calidad nutrimental.

Abstract

Mexico has a variety of traditional food products, with important nutritional virtues and that have been used for hundreds of years by indigenous peoples. Many of these products are today considered superfoods because they have a high nutritional value, examples of these are the chía and amaranth, but little is consumed directly and much less processed foods, so include these grains in products with high consumption as a nutritious bar would improve the nutritional quality of food and consequently the nutrition of those who consume it. Based on the above, in this project it was raised to prepare a nutritious bar incorporating Chia and amaranth, to improve their nutritional quality. Different formulations using the sensory preference test were evaluated to select the best. To the selected bar its chemical composition and its nutritional properties, antioxidant capacity and phenolic compounds; assessed you as well as a sensory test of pleasure. The results showed that the selected formulation was 20-20-60% of Amaranth-chia flour - wheat respectively, which had better nutrient quality than commercial bars and control and sensory acceptance of 71% and a score of 7.25.

Keywords: Amaranth, Chia, Nutritious bar, Superfood, Nutritional quality.

1. Introducción

En la historia de la humanidad, puede ser que la actual, sea la generación más sobrealimentada, pero al mismo tiempo la más malnutrida y con más enfermedades crónicas. La dieta está llena de alimentos refinados e industrializados, que han eliminado de la dieta diaria minerales, vitaminas y nutrientes fundamentales para una buena salud (Superalimentos, 2018). La dieta de los antepasados era más completa, pues tenían dentro de sus alimentos semillas con alto valor nutrimental como la chía y el amaranto. La chía tiene muy diversas cualidades y se destaca por ser una semilla con una buena fuente de fibra, grasa, proteínas, minerales y vitaminas del complejo B y por sus antioxidantes que la hace ser considerada como un superalimento. La chía es la fuente vegetal con más alta concentración del ácido graso omega 3, posee entre un 28–38% de aceite, donde el omega 3 representa aproximadamente el 60% y el omega 6 el 20%. Como es sabido el consumo de estos ácidos grasos ayuda a prevenir enfermedades cardiovasculares, hipertensión, también reduce el nivel de colesterol, entre otros beneficios (Di Sapio *et al.*, 2017). Por eso, la chía puede ser considerada como un “alimento funcional”, porque además de contribuir a la nutrición humana, tiene efectos benéficos para la salud como los que ya se mencionaron y también previene enfermedades inflamatorias y desordenes del sistema nervioso central. Hoy en día la semilla de chía ofrece un gran potencial en las industrias de la salud, alimenticia y farmacéutica entre otras, debido a sus componentes funcionales (Muñoz, 2013).

También, el amaranto es un alimento que se ha utilizado a lo largo del tiempo en México, es uno de los más antiguos de Mesoamérica, siendo parte de la dieta de mayas, incas y aztecas, tiene muchas preparaciones y usos, así como diferentes cualidades nutricionales (Algara *et al.*, 2013). El amaranto, a diferencia de otros granos tiene proteínas con un alto contenido de aminoácidos esenciales, el valor nutritivo de las proteínas del amaranto se acerca mucho al de la leche. De acuerdo a la FAO y la OMS, sobre el valor proteico de 100, este contiene 75, la

leche 84.5 y es superior al presentado por el maíz 44, trigo 57 y cebada 62. En cuanto a vitaminas el amaranto posee riboflavina, niacina, ácido ascórbico, ácido fólico, tiamina, biotina y beta-caroteno, además de minerales como el calcio y el hierro, todos ellos básicos para una alimentación equilibrada (Paredes, 2001). Además, tiene una alta cantidad de fibra y compuestos fenólicos, comparados con los cereales, que posicionan al amaranto como alimento o ingrediente funcional con beneficios para la salud científicamente comprobados (Orsini, 2015).

Por otra parte, actualmente cada vez más personas se preocupan en informarse sobre los nutrimentos que contienen los alimentos presentes en su dieta, mostrando una tendencia hacia el consumo de productos saludables. Además, están los consumidores que no tienen tiempo o interés en informarse sobre la calidad nutrimental de los alimentos que consumen, y su elección se basa en lo fácil y rápido de preparar y barato que sea el alimento. Dicho lo anterior, este proyecto, está dirigido para estos tipos de consumidores, ya que, se pretende desarrollar una barra “nutritiva” que contengan chía y amaranto, con la finalidad de mejorar su calidad nutrimental sabiendo que tanto el amaranto como la chía tienen características nutricionales excelentes y son una buena fuente de fibra dietética y compuestos antioxidantes que apoyan el sistema inmune, ayudan a desintoxicar y reducen el riesgo de enfermedades crónicas, mejorando la salud física (Superalimentos, 2013).

2. Materiales y Métodos

Para el desarrollo de este proyecto se utilizaron granos de amaranto de la especie *Amaranthus hypochondriacus* L., variedad Tulyehualco cosecha 2016, granos de Chía de la especie *Salvia hispanica* L., obtenida en el Estado de Puebla cosecha 2016 y harina de trigo marca Tres estrellas®.

Se llevó a cabo la molienda de los granos (amaranto y chía), utilizando un molino para café KRUPS GX4100; y el producto obtenido se tamizó con una malla

#40 USA serie Tyler, está harina fue utilizada para su análisis y la elaboración del producto por lo que se mantuvieron guardadas en frascos de vidrio bien tapados a 4 °C hasta su uso.

Se realizó el análisis químico proximal de la materia prima: harina integral de amaranto y chía, así como a la harina de trigo marca Tres estrellas®; las pruebas fueron; humedad, extracto etéreo, proteína, cenizas, fibra y carbohidratos, de acuerdo a los métodos propuestos por el A.O.A.C. (2002).

Se probaron cuatro formulaciones en la elaboración de la barra nutritiva en las que solo se variaron los porcentajes de harinas; integral de amaranto, integral de chía y de trigo (15-15-70; 20-20-60; 25-25-50; 30-30-40) respectivamente y los demás ingredientes de la formulación se mantuvieron constantes, además se incluyó un control elaborado con 100% trigo. Se evaluaron las barras elaboradas con amaranto y chía mediante una prueba sensorial de preferencia para elegir la mejor formulación (Ramírez, 2012). A la formulación seleccionada se le evaluó su composición química, así como al control y a una barra de marca comercial (de trigo con semillas de amaranto y chía enteras) para hacer un comparativo (AOAC, 2002).

Calidad nutrimental se evaluó realizando digestibilidad in vitro; la cual se llevó a cabo utilizando un sistema multienzimático compuesto por tripsina, quimotripsina y peptidasa (solución A) (Sigma), el cual es añadido a la muestra que debe tener un pH= 8.0, se dejó en agitación por 10 minutos a 37 °C, exactamente a los 10 minutos se adicionó proteasa (solución B) (Sigma) y al mismo tiempo se transfiere el vial a un baño con agua a 55 °C. Exactamente a los 19 minutos después de añadida la solución A, se transfirió el vial a un baño de 37 °C. A los 20 minutos después de añadida la solución A medir el pH (Hsu et al., 1977).

También se cuantificó triptófano; en este caso se hizo una hidrólisis enzimática agregando pepsina (Sigma) a la muestra dejándola incubar a

temperatura ambiente por tres horas después se adicionó pancreatina (Sigma) y se dejó incubar por 24 hrs. a temperatura ambiente. Después del tiempo de incubación se filtró la muestra y se desarrolló color con p-dimetilamino benzaldehído (Sigma) dejándose incubar por 15 minutos en la oscuridad, y al final se adicionó nitrato de sodio y se realizó la lectura de la muestra en un espectrofotómetro a 590 nm (Rama *et al.*, 1974). Se hizo una extracción para la determinación de: capacidad antioxidantes (Londoño, 2012); y la determinación de compuestos Fenólicos (García *et al.*, 2015).

Para la extracción se pesa 0.1 g de muestra se diluye con 1 ml de metanol-HCl. Hervir 10 minutos a baño maría, se dejan enfriar y se centrifugan, obteniendo un sobrenadante, el cual se coloca a 65 °C hasta su total evaporación. Una vez evaporados redissolver en 1 ml de agua desionizada y agitar. Centrifugar y obtener el extracto con el que se trabajará.

Para la Capacidad Antioxidante por el método de DPPH: del extracto obtenido tomar 500 µl, agregar 500 µl de solución DPPH 120 µM, dejar reposar 30 minutos en oscuridad absoluta. Leer a 518 nm en espectrofotómetro.

Para la Determinación de Compuestos Fenólicos: del extracto obtenido tomar 400 µl, agregar 3750 µl de agua destilada, agregar 250 µl de Folin, agitar y reposar por 5 minutos, agregar 500 µl de Na₂CO₃, agitar y reposar por 15 minutos. Leer absorbancia a 760 nm. Finalmente se evaluó la formulación elegida mediante una prueba sensorial de nivel de agrado (Ramírez, 2012).

3. Resultados y Discusión

Se observó (Tabla 1) que cada uno de los componentes químicos de la harina refinada de trigo marca Tres estrellas®, presentaron diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) con respecto al contenido de la harina integral de amaranto y chíá. La harina integral de amaranto y la de chíá tuvieron casi el doble de proteínas que el trigo, seis y treinta veces más grasa

respectivamente, más de ocho veces el contenido de fibra y dos veces más de cenizas. Estos resultados confirmaron que la harina de amaranto y la de chía tienen mayor calidad química que la harina de trigo.

Tabla 1. Análisis químico proximal de harina de trigo tres estrellas® y harina de amaranto y harina de chía.

Muestra de harina	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra	CHOS
Trigo	12.06 ±0.1 ^{a*}	8.94 ±0.0 15 ^a	1.1 ± 0.01 ^a	0.5 ±0. 02 ^a	0.7 ±0. 014 ^a	76.68 ^a
Amaranto	10.94 ±0.24 ^b	13.8 4 ±0.0 9 ^b	6.3 1 ±0. 06 ^b	2.5 8 ±0. 07 ^b	6.6 ±0. 42 ^b	59.73 ^b
Chía	6.1 ±0.11 ^c	18.8 ±0.5 ^c	31. 89 ±0. 76 ^c	3.8 1 ±0. 09 ^c	38. 28 ±0. 66 ^c	1.12 ^c

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

Los resultados de la prueba sensorial de preferencia se muestran en la Tabla 2 y se observó que la formulación que obtuvo el mayor puntaje fue la que contenía 20 g de amaranto y 20 g de chía por 100 g de harina y tuvo una

diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) con las otras tres formulaciones, por lo tanto, esta fue la formulación seleccionada como la mejor.

Tabla 2. Resultados de la prueba sensorial de preferencia de la barra nutritiva con diferentes porcentajes de harina integral de amaranto y chíá.

Formulaciones	1 5:15:70	2 0:20:60	2 5:25:50	30: 30:40
	*			
Puntaje	2	2	2	257 ^a
e	34 ^a	76 ^b	33 ^a	

* Letras diferentes entre columnas indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

A la muestra seleccionada se le realizó el análisis químico proximal (Tabla 3) y se comparó con una barra comercial y una control elaborada con 100% harina de trigo. Se observó que el contenido de proteínas aumento aproximadamente 50% y la fibra un 40% en la barra 20:20:60 comparada con la comercial; mientras que en la grasa no hubo diferencia estadísticamente significativa $P \leq 0.05$, pero comparada con el control si hubo diferencia significativa y fue 30% mayor.

Tabla 3. Análisis químico proximal de las barras comercial, control y seleccionada.

Muestra	Humedad	Proteína	Grasa	Carbohidratos	Fibra	Carbón
Comercial	5.32 ± 0.0 2 ^a	5.83 $\pm 0.01^a$	22.0 1 ± 0.0 7 ^a	1.02 ± 0 .02 ^a	7.64 ± 0 .07 ^a	5 8.18 ^a
Cont	6.23	6.47 \pm	13.5	0.	5.	6

rol	± 0.0	0.015^b	3 ± 0.12^b	94	54	7.29^b
	8^b			± 0	± 0	
				$.01^b$	$.31^b$	
20-	8.82	$10.0 \pm$	19.9	1.	11	4
20-60	± 0.1	0.02^c	9 ± 0.41^c	98	.48	7.73^c
	4^c			± 0	± 0	
				$.017^c$	$.53^c$	

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

También se evaluó el contenido de triptófano y la digestibilidad in vitro de las muestras (Tabla 4). Los resultados mostraron que la barra 20-20-60 no tuvo diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) con la comercial pero sí con el control, esto se debe a que las harinas de chíá y amaranto contienen cantidades mayores de triptófano y se mantienen en la barra nutritiva.

Mientras que en los resultados de la digestibilidad in vitro (Tabla 4) no existe diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) entre las tres diferentes barras, todas tienen una buena digestibilidad.

Tabla 4. Resultados de triptófano y digestibilidad de la barra comercial, control y seleccionada.

	Triptófano (g de Trp/100g de proteína)	Digesti bilidad %
Com	0.79 ± 0.038^a	91.43 ± 0
ercial		$.25^a$
Contr	0.69 ± 0.012^b	90.36 ± 0
		$.34^a$

ol		
20-	0.74±0.003 ^{ab}	90.66±0
20-60		.13 ^a

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

También se evaluó la capacidad antioxidante a las tres muestras (Tabla 5), observando que hay una diferencia estadísticamente significativa (P≤0.05) entre ellas, ya que la formulación 20-20-60 tiene mayor capacidad antioxidante esto es debido a que la chía contienen una muy buena cantidad de compuestos con potente actividad antioxidante (principalmente flavonoides) siendo los más abundantes el ácido rosmárico, ácido protocatéquico, ácido cafeico y ácido gálico. Estos antioxidantes protegen de tumores, afecciones cardiovasculares, inflamaciones, virus y radicales libres (Martínez-Cruz y Paredes López, 2014). Por otra parte, se ha demostrado actividad relacionada con polifenoles en el grano de amaranto, entre ellos el ácido protocatéquico, que han resultado beneficiosos para aquellas personas con elevado riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y con elevada presión sanguínea (Orsini, 2015 y Álvarez-Jubete et al., 2010).

Tabla 5. Resultados de capacidad antioxidante y contenido de fenoles de la barra comercial, control y seleccionada.

	Capacidad antioxidante	Fenoles
	%	(mg EAG/g muestra)
Co	65.29±1.10 ^a	0.69±0.02
mercial		2 ^a

Con	7.03±0.2 ^b	0.31±0.00
trol		5 ^b
20-	79.57±1.10 ^c	1.19±0.00
20-60		3 ^c

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

También se observó un mayor contenido de compuestos fenólicos en la barra nutritiva que contiene harinas de chía y amaranto y esta diferencia es estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$), lo cual tiene una relación directa con la mayor capacidad antioxidante, pues como se mencionó anteriormente, son compuestos fenólicos presentes en la chía y el amaranto los que le confieren a estos dos granos esta propiedad.

Por último, al realizarse una prueba sensorial de nivel de agrado a la barra seleccionada, los resultados mostraron un 71% de aceptación por parte del consumidor y le otorgaron una calificación de 7,25 en una escala del 1 al 10, siendo estos valores aceptables en un producto de nuevo desarrollo (Ramírez, 2012).

4. Conclusiones

Se pudo elaborar una barra nutritiva con harina integral de amaranto y chía en proporciones de hasta 20 g 100 g⁻¹ de cada una, teniendo buenas características físicas y sensoriales. La formulación seleccionada en este estudio que contenía 20 g harina integral de amaranto, 20 g harina integral de chía, 60 g harina refinada de trigo, presentó mejor calidad nutrimental con respecto a una barra comercial y a una control. La barra nutritiva seleccionada en este trabajo presentó una mayor Capacidad antioxidante y un mayor contenido de fenoles que la barra comercial y la control. Estos resultados nos permiten concluir que se obtuvo una barra nutritiva que podría considerarse como un superalimento y

como un alimento funcional. Además, el producto tuvo una buena aceptación por parte del consumidor en una prueba de nivel de agrado.

Agradecimientos

Trabajo realizado con el apoyo del programa PAPIME-200217 de la DGPA y PIAPI-1841 de la FES-CUAUTITLÁN, UNAM

5. Referencias

Algara, S. P., Gallegos, M. J. y Reyes, H. J. (2013). Amarantho: efectos en la nutrición y la salud. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Enfermería. TLATEMOANI. *Revista Académica de Investigación*. Eumed.net, No. 12. España.

Álvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E. K. y Gallagher, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. Elsevier. *Food Chemistry*.

AOAC. (2002). *Official Methods of Analysis*. 16^a edition. Ed Association of Official Analytical Chemists, International Gaithersburg, E.U.A.

Di Sapio, O., Bueno, M., Busilacchi, H. y Severin, C. (2017). Chía: Importante antioxidante vegetal. *Agromensajes de la Facultad*. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Rosario.

García, M. E., Fernández, S. I. y Fuentes, L. A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin Ciocalteu. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia, España.

Hsu, H. W., Vavak, D. L., Satterlee, I. D. y Miller, G. A. (1977). A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *Journal Food Science*. 42 (5),1269-1273.

- Londoño, L. J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Corporación Universitaria Lasallista. Capítulo 9. Parte III. Antioquia – Colombia.
- Muñoz Loreto, A., Cobos, A., Diaz, O. y Aguilera, J. M. (2013). Chía Seed (*Salvia hispanica*): An Ancient Grain and a New Functional Food. *Food Reviews International*. 29 (4), 394-408.
- Orsini Delgado, M. C. (2015). Amaranto como ingrediente funcional: propiedades antioxidantes de proteínas y péptidos. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Exactas. Departamento de Ciencias Biológicas.
- Paredes López, O., Barba de la Rosa, A. P., Hernández, D. y Carabez, A. (2001). Amaranto. Características alimentarias y aprovechamiento agroindustrial. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, D.C.
- Rama Rao, M. V., Tara, M. R. y Krishnan, C. K. (1974). Colorimetric estimation of tryptophan content of pulses. *Journal Food Science and Technology*. 11, 213-216.
- Ramírez, J. (2012). Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. *Revista ReCiTeIA*.
- Superalimentos (2013). ¿Qué son los superalimentos?. Disponible en: <https://www.superalimentos.es/superalimentos/>. Consultado el 13 de Abril 2018.

**Evaluación sensorial de queso panela elaborado con leche de vaca (*Bos taurus*)
y búfala (*Bubalus bubalis*)**

Ruiz Santiago Franco L*, García Jiménez Rafael, Hernández Becerra Josafat,
Hernández Muñoz Ana L., Valadez Villarreal Antonio, Rocher Córdova Roberto

*División de Procesos Industriales de la Universidad Tecnológica de Tabasco. Km
14.6 Carret. Villahermosa- Teapa, Parrilla, Centro, Tabasco.

Correo electrónico: francolucioruiz@hotmail.com

Resumen

La leche de búfala tiene diferencias marcadas con relación a la leche de vaca que lo hace un alimento altamente nutritivo y recomendable para un buen crecimiento. Con esta leche se elaboran diversos productos, aunque su consumo es muy limitado por falta de conocimientos acerca de los beneficios que aporta y por la creencia de poseer características sensoriales desagradables. Con el objetivo de determinar si las muestras de queso tipo panela de leche entera vaca y búfala son perceptiblemente diferentes, se realizó la prueba de diferenciación dúo-trío y para definir el grado de aceptación de cada muestra, se realizó la prueba afectiva de preferencia. Las muestras de leche fueron analizadas fisicoquímicamente antes del proceso de elaboración, así como su rendimiento posterior. Se obtuvieron valores de grasa, proteínas, sólidos totales y rendimientos mayores en la leche entera de búfala. El análisis sensorial mostró que los jueces determinaron correctamente las diferencias en el sabor, color y olor, pero no así en la textura y de acuerdo a la prueba de preferencia la mayoría de los jueces eligieron el queso panela elaborado con leche entera de búfala.

Palabras clave: Leche de búfala, queso panela, evaluación sensorial.

Abstract

Buffalo milk has marked differences in relation to cow's milk which makes it a highly nutritious food and recommended for good growth. With this milk various products are made, although its consumption is very limited due to lack of knowledge about the benefits it provides and the belief of having unpleasant sensory characteristics. In order to determine if samples of panela cheese of cow and buffalo whole milk are significantly different, the duo-trio differentiation test was carried out and to define the degree of acceptance of each sample, the preferred affective test was carried out. The milk samples were analyzed physicochemically before the elaboration process, as well as their subsequent performance. Fat, protein, total solids and higher yields were obtained in whole buffalo milk. The sensory analysis showed that the judges correctly determined the differences in taste, color and smell, but not in the texture and according to the preference test most judges chose panela cheese made with whole buffalo milk.

Keywords: Buffalo, panela cheese, sensory analysis

1. Introducción

Uno de los grupos de alimentos más consumidos por las personas son los lácteos, ya que, desde la infancia se le proporciona a todo ser vivo para que se desarrollen correctamente. En la actualidad el mercado de estos alimentos se ha expandido considerablemente, debido a las necesidades de las personas al buscar consumir productos altamente nutritivos y que ayuden a mantener la salud del consumidor (Alais, 2014). Se estima que la población mundial consume anualmente cerca de 500 millones de toneladas en equivalente en leche en diversas presentaciones para alimento humano. El 85% corresponde a leche de vaca y el resto a otras especies como búfala 11%, cabra 2% y otras 2% (FAO, 2018).

Dentro de esta diversificación de productos lácteos, en nuestro país se están elaborando productos de otras fuentes como lo es la leche de búfala, esto porque contiene un gran valor nutricional. Esta leche posee un delicioso sabor característico que se inclina hacia el dulzor. No posee caroteno en su grasa, por lo que resulta ser un suplemento ideal para cualquier dieta alimentaria. Cuando se compara con la leche de vaca o la leche materna, esta resalta por el alto contenido energético. (Patiño y Guanziroli, 2005).

Hurtado *et al.* (2005) destacan en esta leche su contenido de proteínas que es un 10% más que la proveniente de la leche de vaca, respecto a la grasa, se eleva en un 30% en comparación con la de la leche de la vaca, la Vitamina A igual hace una presencia abundante en este producto, y es por ello que su coloración es muy blanca y cremosa, posee una fuente natural de B2 que permite la oxigenación de las células. Esto mejora el estado de las células del sistema nervioso, así como los tejidos de todo el cuerpo. La FAO (2018) recomienda su consumo ya que contiene altos valores de fósforo y calcio que son esenciales para la formación de los huesos, dientes y encías. Su alto contenido de zinc lo convierte en un antioxidante que resulta ser fabuloso. Favorece al crecimiento

del cabello y las uñas, también la renovación celular de la piel, así como el revestimiento ocular. Esta leche también tiene una mayor relación caseína-proteína. El alto contenido de calcio de la caseína facilita la fabricación de quesos.

La leche de búfala solo tiene importancia en el comercio local de países del sur de Asia como India y Paquistán. En México la producción de este tipo de leche ha crecido en 30.5%. En comparación con la leche de vaca que sigue estando en un porcentaje de 59.3%. Esto muestra como se ha ido incorporando cada vez más en el mercado la leche de búfala respecto a su principal competidor (Secretaría de Economía, 2012).

El estado de Tabasco se cuenta con alrededor de 10 mil cabezas de búfalo, distribuidos en los municipios de Huimanguillo, Comalcalco, Cárdenas, Cunduacán, Macuspana, Jalapa, Teapa, Emiliano Zapata, Tenosique, Balancan y Jonuta. Lo que da una producción considerable de leche fresca que, debido a su poco uso, se está utilizando para elaborar productos lácteos como quesos de tipo provolone, mozzarella, scamorza, aunque también pueden obtenerse, mantequilla, leche en polvo, yogurt, crema de leche, leche condensada y leche evaporada, dulces, helados, entre otras (Osorio, 2016). Muchas de las personas no consumen estos productos porque argumentan que su sabor y su aroma es diferente a la de la vaca tradicional, por lo que se hace importante realizar una comparación sensorial de un queso elaborado con estos dos tipos de leche y determinar las diferencias sensoriales entre ellas.

Aunque esta leche aporta beneficios a la salud su consumo aún no se ha extendido ya que se argumentan diferencias sensoriales entre esta leche y la de vaca. Por ello para este trabajo se realizó un análisis sensorial a un queso fresco tipo panela elaborados de leche de búfala y de vaca para determinar diferencias sensoriales.

2. Materiales y métodos

2.1 Toma de muestras

Las muestras de leche fresca de búfala (*Bubalus bubalis*) utilizados para este trabajo fueron adquiridas en el rancho Las Carolinas, ubicado en Huimanguillo, Tabasco. La leche fresca de vaca (*Bos taurus*) fue adquirida en el rancho la Trinidad ubicado en el Km 1.5 de la carretera Teapa – San Antonio, en la ciudad de Teapa, Tabasco.

Todas las muestras fueron transportadas a 25 °C a la planta piloto de Tecnología de alimentos de la Universidad Tecnológica de Tabasco y almacenadas a 4 ± 2 °C en la cámara de refrigeración, previo a su procesamiento.

2.2 Análisis fisicoquímicos preliminares

Se realizaron las pruebas fisicoquímicas preliminares a la leche de vaca y búfala por triplicado *para* conocer su calidad y determinar su uso en la elaboración de quesos, las determinaciones realizadas fueron: grasa, proteína, sólidos totales, densidad y acidez, esto de acuerdo a la NOM-155-SCFI-2012 “Leche-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba” (Secretaría de Salud, 2013).

2.3 Elaboración de quesos

Se elaboraron los productos en base a la metodología descrita por Isique (2014), se emplearon para ello leche entera sin ningún proceso de descremado. Se determinaron los rendimientos expresados en litro de leche utilizados por kilogramo de queso.

2.4 Análisis sensorial

Se realizó la prueba discriminativa de Dúo-Trio con un grupo de 20 jueces consumidores en el laboratorio de evaluación sensorial de la Universidad

Tecnológica de Tabasco, aplicando la metodología descrita por Pangborn y Pedrero (1996) con la finalidad de establecer diferencias en los atributos sensoriales de sabor, color, olor de las muestras de queso panela. Para esta prueba se presentó a los panelistas tres muestras simultáneas, de las cuales una de ellas fue marcada como muestra de referencia con la letra “R” (queso panela con leche de vaca) y dos muestras codificadas, con números aleatorios de las cuales una de ellas es igual a la muestra patrón y la otra es diferente (queso panela con leche de búfala). Las preguntas realizadas fueron: En cuanto a olor, color, sabor o textura ¿Cuál de las otras dos es igual a la de la referencia “R”?

Se efectuó además una prueba de preferencia de cada una de las muestras y determinar su predilección hacia una formulación en específico, utilizando la metodología descrita por Anzaldúa (1994).

2.5 Análisis de datos

Para la prueba dúo-trío, los datos se analizaron a través de un ordenamiento de respuestas correctas y los resultados, tomados como número de aciertos, se evaluó manejando el método estadístico de Ji cuadrada utilizada para pruebas de diferenciación.

Para la prueba de preferencia los datos se analizaron a través del método estadístico de ordenamiento por rangos.

Para el análisis estadístico se empleó el programa estadístico Minitab 18 (Minitab Inc).

3. Resultados y discusión

En la Tabla 1 se muestran los resultados de las determinaciones fisicoquímicas realizadas a la leche recepcionada para ser utilizada en la elaboración del queso panela.

Tabla 1. Resultados de determinaciones fisicoquímicas en leche entera de vaca y búfala.

Determinación	NOM-155-SCFI-2012	Leche de vaca*	Leche de búfala*
Densidad (g/ml)	1.029 min	1.029	1.032
Acidez (g/l)	1.3 min 1.7 max	1.4	1.4
pH	6.7 min 6.9 max	6.7	6.7
Sólidos totales	83 min	83	99
Grasa (g/l)	30 min	15.7	28.5
Proteína (g/l)	30 min	38.5	44.5

* Valor promedio de las tres repeticiones

De acuerdo a los resultados obtenidos la leche de vaca entera cumplió con lo establecido en la normatividad, salvo en el contenido de grasa que fue menor a lo especificado en dicha norma ya que la leche entera de vaca presentó solo 15.7 g L⁻¹ mientras que la normatividad indica que mínimo debe cumplir 30 g L⁻¹, esta variación puede deberse a la estación del año, la alimentación o raza del animal como lo menciona Walstra *et al.* (2001).

Los valores obtenidos en la leche de búfala muestran que presenta valores similares a la leche de vaca en cuanto a la acidez y al pH, pero se observan valores más altos en la densidad, contenido de sólidos totales, grasa y proteínas, coincidiendo con lo mencionado por Hurtado *et al.* (2005) y Patiño y Guanzioli (2005). Así mismo estos autores señalan que, aunque el contenido de grasa es mayor, su contenido de colesterol es menor que la de la leche de vaca, por lo que es menos perjudicial. Su alto contenido de proteínas y sólidos totales lo hacen una materia prima para elaborar productos más nutritivos, energéticos y con mayor rendimiento.

Respecto al rendimiento observado en la elaboración del queso panela, este fue de 8.2 L de leche entera de vaca para elaborar 1 Kg de queso, mientras que con la leche de búfala solo fueron necesarios 5.4 L, es decir se obtuvo un rendimiento 52% mayor utilizando leche entera de búfala, estos resultados superan lo mencionado por Patiño (2009) donde señala que los rendimientos de los productos lácteos de búfala son mayores entre 20 y 40%.

Después de haber realizado la evaluación sensorial se observa que los jueces pudieron determinar correctamente las diferencias en cuanto a sabor (75%), olor (85%) y color (95%) de cada muestra presentada, mientras que para textura solo el 10% pudo determinar correctamente diferencias entre las muestras, esto se muestra en la Figura 1.

Los resultados obtenidos con respecto al olor muestran que los jueces determinaron diferencias entre las muestras de quesos e indicaron que los productos elaborados con leche de vaca tienen un olor más pronunciado y fuerte que la de búfala debido especialmente al tipo de grasa que contiene, por lo que se puede distinguir la diferencia como lo mencionan Andrade *et al.* (2009).

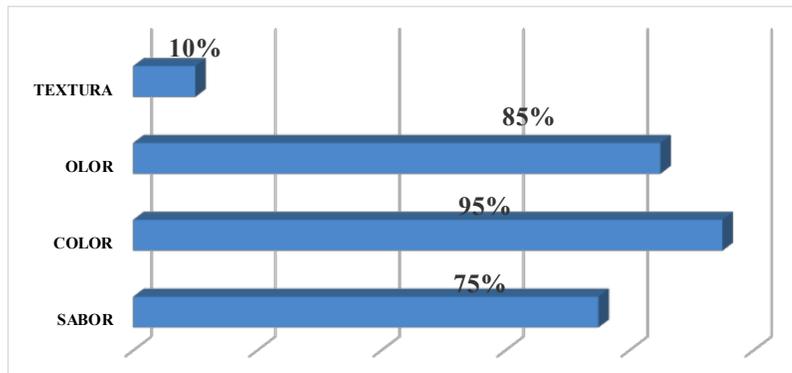


Figura 1. Porcentaje de respuestas correctas determinadas por atributo.

En relación al sabor, los jueces confirmaron las diferencias establecidas por Hurtado *et al.* (2005) donde se menciona que en productos lácteos elaborados con leche de vaca el sabor es más fuerte, mientras que para la leche de búfala este atributo es más suave con tendencia a ser más dulce por lo que muchas veces se recomienda su consumo para niños.

Respecto al color, la diferencia fue notoria tanto que el 95% de los jueces acertaron, esto debido a que el queso elaborado con leche de vaca presentó un color amarillento mientras que el elaborado con leche de búfala el color fue más blanco y opaco, debido a esto como menciona Hurtado *et al.* (2005) a que la leche de búfala no posee beta-caroteno, porque este animal es capaz de metabolizar este pigmento en vitamina A. Lo que le permite tener el color más blanco y cremoso que de otros animales. Los resultados muestran en cuanto a la textura, solo el 10% de los jueces acertaron en determinar las diferencias, indicando que fue el atributo afín entre las muestras y donde los jueces dudaron para tomar una decisión ya que ambas muestras presentaron una textura suave y sin arenosidad.

El análisis estadístico mostró a través de la prueba de Ji cuadrada los jueces detectaron de manera significativa ($p < 0.05$) las diferencias existentes

entre el sabor, olor, color, de las muestras, con un nivel de seguridad de fallar en esta aseveración menos de 5 veces en 100.

En la Figura 2, se muestra que el queso elaborado con leche de búfala presentó 70% de aceptación que el elaborado con leche de vaca, esto debido principalmente a su sabor, pero más aún por su color, ya que, al ser elaborado con leche entera, el color es amarillento en el producto lo hace poco agradable a la vista. De acuerdo al análisis estadístico con una significancia del 5%, utilizando la metodología propuesta por Anzaldúa (1994), se observó una mayor preferencia para el queso elaborado con leche de búfala con respecto al queso elaborado con leche de vaca.

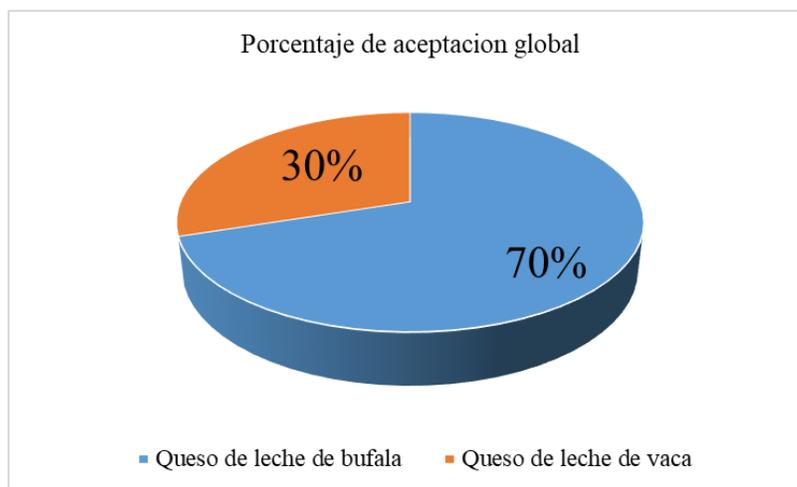


Figura 2. Porcentaje de aceptación global de cada muestra

4. Conclusiones

Los valores encontrados en la composición fisicoquímica de las leches utilizadas confirman su variabilidad, se observaron mayores cantidades en el contenido de grasas, proteínas y sólidos totales en la leche de búfala que se tradujo en mayores rendimientos al elaborar los productos lácteos como en este caso el queso panela donde se obtuvo un rendimiento mayor de 50%.

Para la prueba dúo-trío, los panelistas pudieron identificar las diferencias entre las muestras presentadas y estas se basan especialmente en el sabor, color y olor, esto debido a las características propias de cada leche utilizada. El análisis estadístico a través de la prueba de Ji cuadrada muestra que los jueces detectaron de manera significativa dichas diferencias ($p < 0.05$).

Respecto a las observaciones realizadas por los panelistas predominó la percepción de menor intensidad en el sabor y olor del queso de leche de búfala, mientras que en el color las diferencias se hicieron notar al presentar el queso de la leche de vaca tintes amarillentos que no presentó la de búfala.

La prueba sensorial de preferencia indica que el queso de leche de búfala presentó mejor aceptación, al tener un sabor suave hasta dulzón, mientras que el queso elaborado con leche de vaca el color presentó tintes amarillentos y un sabor y olor muy acentuado.

5. Referencias

- Alais, Ch. (2014). Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. Editorial Reverté S.A., Barcelona, España. pp. 7-9.
- FAO. (2018). Búfalo de agua. Disponible en: <http://www.fao.org/dairy-production-products/production/productiondairy-animals/productiondairy-animalswater-buffaloes/es/>. Consultado el 22 de marzo de 2018.
- Patiño, E. M., y Guanziroli, S. M. C. (2005). Composición de leche de búfala (*Bubalus bubalis*) de raza Jafarabadi en Corrientes, Argentina. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*. VI (5),1-4.
- Hurtado, L. N. A., Cerón-Muñoz, M. F., Lopera, M. I, Bernal, A., Cifuentes, T. (2005). Determinación de parámetros físico-químicos de leche Bufalina en un sistema de producción orgánica. *Livestock Research for Rural Development*, 17(1).

FAO. (2018). Portal lácteo. Disponible en: <http://www.fao.org/dairy-production-products/es/>. Consultado el 22 de marzo de 2018.

Secretaría de Economía. (2012). Análisis del sector lácteo en México. Disponible en: http://economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSectorial/analisis_sector_lacteo.pdf. Consultado el 20 de marzo de 2018.

Osorio, S. D. (2016). Búfalo de agua da carne y leche sin grasas. Diario Tabasco Hoy. Disponible en: <http://www.tabascohoy.com/nota/323605/bufalo-de-agua-da-carne-y-leche-sin-grasas>. Consultado el 16 de marzo 2018.

Secretaría de Salud. (2013). NOM-155-SCFI-2012 “Leche-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba”. Disponible en: <http://dof.gob.mx/normasOficiales/4692/seeco/seeco.htm>. Consultado el 20 de febrero de 2018.

Isique, H. J. (2014). Elaboración de quesos. Editorial Macro EIRC Perú, pp. 52-65

Pedrero, D., Pangborn, R. M. (1996). Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos analíticos. Editorial Alhambra Mexicana, pp 75-77

Anzaldúa, M. A. (1994). La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Editorial Acribia, España, pp 82.

Walstra, P., Geurts, T. J., y Noomen, A. (2001). Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos. Editorial Acribia, España. pp 243 – 265; 449 – 475.

Patiño, E. M. (2009). Leche de búfala versus leche de vaca. Disponible en: <http://www.produccion-animal.com.ar/>. Consultado el 10 de febrero de 2018.

Andrade, P. R. D., Vélez, H. G. I., Arteaga, M. M. R., Díaz, Q. Y. S., y Sánchez, S. S. (2009). Efecto de la neutralización y adición de edulcorante en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del arequipe de leche de búfala. *Revista Vitae*. 16 (2), 201-209 .

Aplicación de estrategias para la instalación de planta productora de filete de pez armado

Martínez-Valdés M.,* Chávez Dehesa J., Cambranes-Chi M., Gutiérrez-Maldonado M.

Universidad Tecnológica del Usumacinta, Libramiento Emiliano Zapata Tenosique S/N, Col. Las Lomas, Emiliano Zapata Tabasco.

e-mail: mmartinezvaldes@yahoo.com.mx*

Resumen

Las creación de empresas, permite involucrar personas, instituciones, recursos e ideas innovadoras para responder a las exigencias de los consumidores y la sustentabilidad, el caso de la “Comunidad Arroyo Polo 2da. Sección Municipio de Centla” empresa recién creada utiliza al pez armado (*Pterygoplichthys* spp.). El objetivo del presente trabajo fue generar estrategias, para la extracción y comercialización de filete del pez armado que contribuye a proporcionar nutrición complementaria por su alto contenido de proteína y omega3, e impacta en la utilización de especies invasoras en sistemas de agua dulce, para apoyo de crecimiento de especies nativas; se desarrollaron aspectos administrativos, propuestas técnicas de producción, estudio financiero, y agenda de innovación; se considera la utilización, captura y aprovechamiento, de 12.0 ton. mensuales, para extraer 1.80 ton. de filete, cumpliendo BPM para su obtención, su venta es dirigida a la ciudad de Frontera y Villahermosa Tabasco, en su primera etapa, el proyecto tiene un RBC de 1.94, TIR de 78.72 y VAN positiva, las inversiones se recuperan en un lapso de cinco años, en el aspecto social se integran 10 socios lo que impacta en la generación de mano de obra directa con un negocio viable, rentable y sustentable con productos de innovación.

Palabras clave: Ecología, estrategias, innovación, pez, procesamiento.

Abstract

The creation of companies, allows to involve people, institutions, resources and innovative ideas to respond to consumer demands and sustainability, the case of the "Arroyo Polo Community 2nd. Section Municipality of Centla "newly created company uses the armed fish (*Pterygoplichthys spp.*). The objective of this work was to generate strategies for the extraction and commercialization of fillet of the armed fish that contributes to provide complementary nutrition due to its high protein content and omega3, and impacts on the use of invasive species in freshwater systems, to support the growth of native species; administrative aspects were developed, technical production proposals, financial study, and innovation agenda; the utilization, capture and use, of 12.0 ton is considered. monthly, to extract 1.80 ton. of fillet, complying BPM to obtain it, its sale is directed to the city of Frontera and Villahermosa Tabasco, in its first stage, the project has a RBC of 1.94, TIR of 78.72 and positive VAN, the investments are recovered in a period of five years, in the social aspect, 10 partners are integrated, which impacts on the generation of direct labor with a viable, profitable and sustainable business with innovation products.

Keywords: Ecology, fish, innovation, processing, strategies

1. Introducción

En el mundo, el pez armado (*Pterygoplichthys spp.*), presenta impacto, ecológico, económico y social relevante, se ha detectado en los cinco continentes en veintiún países, con siete especies o híbridos que se han introducido, América es uno que ha sufrido la mayor afectación (Orfinger y Goodding, 2018), en México se reporta su aparición en 1995, con su primera clasificación taxonómica con seis especies 2007, en el sur su presencia se hace notar en 2002 el cual tiene como único depredador el humano (Ramírez, 2012), como alimento y para transformación, por tener un alto contenido de proteína y dos tipos de ácidos grasos omega 3 polisaturados, como alto contenido de ácido eicosanpentaenoico y ácido docosaheptaenoico (Lorenzo *et al.*, 2016), aunque en 2016 Wakida y Toro reportan que el Robalo prieto (*Centropomus poeyi*) y Ríos en 2015, al Cormorán oliváceo (*Phalacrocorax brasilianus*) lo tienen como parte de su dieta alimenticia.

Lo nutritivo, contribuye a que diferentes instituciones fomenten su captura, uso y transformación para su aprovechamiento (Ayala *et al.*, 2014), sobre todo porque existen las condiciones biológicas para su reproducción y desarrollo (Barba y Cano 2014), lo que impacta en la población de especies nativas; Amezcua (2014) comenta que la aparición del pez diablo coincide con una disminución considerable en las capturas y abundancia de tilapia en la zona lagunar de Sinaloa, que se generaliza conforme a opinión de pescadores en algunas regiones del país, teniendo impacto en el ambiente y aspectos socioeconómicos, esto genera expectativas de innovación social en el campo desde alimento para ganado y agricultura como fertilizante, como harina con buenos resultados (Cano *et al.*, 2011, Monares *et al.*, 2012), ensilados (Reyes, 2012), así como para estudio de enzimas digestivas con la finalidad de generar conocimiento básico para utilizarse en el ramo de la tecnología de enzimas (Gálvez *et al.*, 2011) y para consumo humano en diferentes preparaciones (Hernández, 2017).

En este contexto con apoyo de la Comisión Natural de Áreas Protegidas (CONANP) y Colegio Intercultural de las Américas A.C., se implementó la instalación de una microempresa, que responda a problemática de pescadores y a la situación particular en la sustentabilidad de los Pantanos de Centla, el caso de la “Comunidad Arroyo Polo 2da. Sección Municipio de Centla” con la asociación “La Prosperidad de los pantanos de Centla” con 10 productores, que utiliza al pez armado (*Pterygoplichthys spp.*), para la extracción y selección de filete, la cual es comercializado a nivel local para consumo del público en general y regional en restaurantes de la ciudad de Villahermosa Tabasco, en presentaciones de un kilo con la característica de empacado al alto vacío y desarrollado bajo Buenas Prácticas de Manejo (BPM).

El origen de esta empresa se remonta a 2015, cuando existe la idea de procesar filetes y deciden aprovechar un proyecto de CONANP dirigido a productos innovadores y aprovechamiento sustentable de especies, que contribuyen a una alimentación de calidad, debido a la aceptación en pruebas organolépticas realizadas con familiares y público en general, se ha tenido aceptación para producir volúmenes de producción y obtener probables ventas, para los emprendedores establecer un prototipo alimentario en conjunto para la utilización de las carnes producidas en forma tradicional, genera productos alternos como una magnífica opción de negocio. La generación de empresas, de este tipo, son vitales para las ideas novedosas y este proceso de formación y aplicación del sentido emprendedor permite visualizar esquemas de trabajo en equipo e inversiones conjuntas, como una propuesta básica para la generación de negocio.

En México la pesca ribereña o artesanal se considera como el eslabón vulnerable de la cadena pesquera nacional, regional y local, son grupos dotados de escasa tecnología y capital, no se especializan en una especie determinada, capturan lo que exista y se demande (Gonzalo y Sánchez, 2016). El aprovechamiento de recursos la pesca representa la principal fuente de ingresos

económicos para diversas comunidades y forma parte de su identidad cultural, en las aguas internas de Tabasco, la diversidad de peces de importancia económica es igualmente notoria: sábalo, robalo prieto, robalo blanco, pejelagarto, diversas especies de mojarra nativas (tenguayaca, castarrica, pinta, colorada) e introducidas (mojarra tilapia y carpa herbívora), en el caso del pez armado o pez diablo, como especie invasora, se han desarrollado acciones para fomentar su consumo (Barba y Juárez, 2017).

El consumo per cápita en México de pescados y mariscos en 2016, se estima en 12.7 kilogramos (PROFECO, 2018), en 2017 se logró la generación de 1.8 Millones de toneladas de productos pesqueros y acuícolas (SAGARPA 2018) con una exportación de pescados, crustáceos y moluscos de 870,296.0 miles dólares y una importación de 639,394.0 millones de dólares (cifras acumuladas de noviembre 2016 a noviembre 2017), lo que hace una balanza comercial positiva en este rubro (INEGI, martes 16 de enero de 2018), aunque también se requiere de esfuerzo adicional para cubrir la demanda interna, sobre todo por situación comercial, al exportar filete de mojarra con valor de 14.9 millones de dólares (SAGARPA, 14 de diciembre del 2017), lo que hace atractivo el proyecto para los pescadores ribereños en la cual al pez armado tiene alternativas de cubrir mercados específicos sobre todo como filete.

La carne del bagre armado cuenta con una excelente calidad, el filete cuenta con 90% de proteína y 4% de grasa (peso seco). Sus propiedades nutricionales, medidas en términos de ácidos grasos, lo hacen un recurso de calidad. A través de técnicas de extracción de aceite innovadoras, como lo es la extracción enzimática neutra, usando el pescado completo se obtuvieron rendimientos de obtención de aceite del 2.1% con 40% de grasas saturadas, 44% de monoinsaturadas, 17% de poliinsaturadas, 13.2% de n-3, 3% de DHA y 2.5% de EPA. (Fonseca *et al.*, 2017), lo que hace que sus componentes aporten elementos de nutrición a los consumidores, tiene un porcentaje de carne de alrededor del 20% de su peso, sin embargo, la calidad biológica de su carne es excelente:

presenta 85% de proteína en base seca y una digestibilidad cercana al 98% (Velázquez *et al.*, 2013).

Las empresas requieren de procesos de conformación y de seguimiento con la finalidad de lograr los objetivos propuestos en su acta constitutiva, denominado objeto social, esto implica utilizar la planeación estratégica que permite proyectar a mediano y largo plazo, además de generar acciones que incrementen la competitividad frente al mercado nacional e internacional (Mora *et al.*, 2014), esto genera un ambiente dinámico de los negocios, al aportar valor a sus consumidores, a través de una relación sólida mantenerse en el mercado, debido que en la actualidad los clientes son exigentes y el mercado global ofrece múltiples oportunidades a sus necesidades, es indispensable la inclusión de servicios o productos nuevos (Cruz, 2018).

Generar estrategias en las empresas requieren de elementos básicos que permiten integrar las fases de administración y a su vez la aplicación directa para desarrollar los factores de producción, que promueven el análisis interno de la empresa, la situación financiera, los aspectos de mercado y la generación de capital humano que debe de existir (Ahumada y Perusquia, 2016), el futuro de las empresas depende de su capacidad de respuesta e innovación, por lo que representa una ventaja competitiva sustentable, para la transmisión de la cultura y la filosofía, en estos términos la productividad promueve una economía dinámica utilizando los recursos en forma óptima y efectiva (Delfín y Acosta, 2016).

El objetivo de la investigación es proponer la aplicación de estrategias administrativas, técnicas y financieras para el establecimiento de una planta productora de filete de pez armado (*Pterygoplichthys* spp.), con la finalidad de integrar al grupo de pescadores ribereños a esquemas micro empresariales que detone la utilización de mano de obra directa, impacte en la atención de

mercados y contribuya con la sustentabilidad en la zona de los pantanos de Centla.

2. Materiales y Métodos

Durante la implementación de este trabajo se realizaron talleres participativos en diferentes etapas, para el desarrollo de la identidad corporativa, que es un concepto que permite identificar y diferenciar las marcas o empresas frente a sus grupos de interés, con referencia a misión, visión, valores y objetivos a seguir, con el fin de desarrollar motivación en el capital humano (Bravo, Matute y Pina, 2016), así como se realizó un análisis FODA (Fortalezas, Oportunidades, Debilidades y Amenazas), para diagnosticar la situación interna y externa de una organización y obtener una perspectiva general de la situación estratégica a aplicar en la organización (Ponce, 2007, y Ruiz y Hurtado, 2011). Para las innovaciones desarrolladas y rendimientos de producto se aplicó con las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) en la búsqueda de alimentos inocuos cuando son procesados y manipulados bajo determinadas condiciones sanitarias en establecimiento dedicados a la producción, almacenamiento y expendio de alimentos (García *et al.*, 2017). En el aspecto financiero se determinaron indicadores como el Valor Actual Neto (VAN), que es el valor actual/presente de los flujos de efectivo netos de una propuesta (Mete, 2014), la tasa interna de retorno (TIR) con flujos actualizados (Aching, 2006), la relación Beneficio-Costo (B/C), que consiste en dividir los beneficios actuales entre el valor actualizado de la inversión a una tasa de actualización o de descuento (Castañer, 2014).

3. Resultados y Discusión

Estrategias administrativas

Con base en los talleres se realizó la construcción de la filosofía de la organización con la visión institucional como estrategia de reconocimiento de la empresa, y su identificación como socios. La referencia de “La Prosperidad de los

Pantanos de Centla” en 2025 es una Sociedad Cooperativa reconocida por su crecimiento empresarial, que oferta al mercado nacional e internacional productos pesqueros procesados de calidad superior, que contribuye al desarrollo sustentable de la región y calidad de vida de sus socios. Así como la misión: “La Prosperidad de los Pantanos de Centla” es una Sociedad Cooperativa que maneja recursos con transparencia, productiva, que promueve el crecimiento regional y de apoyo social, logrando beneficios económicos para los socios y los proveedores pesqueros.

Los valores institucionales se enmarcaron en “Responsabilidad, Puntualidad, Compromiso, Decisión, Comunicación, Creer y crear, y Tener fé”. En cuanto a los objetivos institucionales es la de: a) Promover productos pesqueros sustentables, b) Lograr calidad de vida de los socios y proveedores, c) Aprovechar los recursos para beneficios de la población, d) Lograr productos que ayuden a una alimentación sana y e) Desarrollar una empresa productiva a nivel internacional. Estos procesos colaboran a desarrollar un interés por la empresa y se interiorice el productor en el reconocimiento de su trabajo presente y futuro.

En la construcción del análisis FODA se obtuvieron resultados relevantes, al desarrollarlo los productores visualizan su estatus y proyectan soluciones integrales (ver Tabla 1).

Tabla 1. Análisis FODA de la empresa Prosperidad de los Pantanos de Centla.

	Fortalez as	Oportunida des	Debilidad es	Amenazas
ón	Producci	Mercado local, regional y nacional	Creer en el proyecto	Costo de energía
	Instalaci	Apoyos	Comunica	Competen

ones	federales y estatales	ción	cia
Personal Capacitado	Aceptación de producto por consumidores	Organización	Productos sustitutos
Equipos de proceso	Diversidad de opciones de consumo	Responsabilidad	Problemas sociales
Proveedores de materia prima		Ánimo personal	Permisos y concesiones
Actitud positiva		Falta de transporte	Perdidas de especies por sobreexplotación
Mercado		Compromiso	
Recursos financieros		Toma de decisiones	

Fuente: Elaboración propia (datos desarrollados en taller con productores).

En este sentido se determinan estrategias para cubrir las relaciones existentes en el análisis FODA a corto plazo: a) Generar Plan de mercadotecnia específico, b) Establecer un plan de promoción y publicidad incluyendo internet, c) Plan de capacitación para desarrollo de emprendedores y liderazgo, d) Convenios de proveedores y comercialización de productos y e) Realizar un reglamento interno. A mediano plazo: a) Diversificar mercados y b) Promover la innovación de productos que incluye artesanías (carteras bolsas, entre otras), alimentación de ganado (harinas) y diversidad de productos desde embutidos,

marinados, enlatados, entre otros. A largo plazo es: a) Institucionalizar la sustentabilidad del negocio (cuidado de especies) y c) Programas de producción y repoblamiento de especies nativas.

Estrategias de producción

Se determinó el diagrama de proceso a seguir conforme la aplicación del BPM realizando los registros de actividades como control de los procesos y evitar productos contaminados que afecten la presentación y caducidad del filete, el cual se entrega en bolsas al alto vacío con porciones de 0.5 y 1.0 Kg, los cuales son congelados trabajando la NMX-FF-032-SCFI-2001, en este caso los análisis microbiológicos están en desarrollo. En estos momentos la empresa tiene la capacidad de generar 1,800 kg diarios de filete al mes, considerando los requerimientos de aproximadamente de 12,000 Kg de forma mensual, considerando al pez armado como la materia prima,. Se estiman rendimientos de proceso del 15% en promedio sobre todo porque se trabajan peces de 25 a 30 cm de tamaño, óptimos para el filete que se desea a la venta en público y en restaurantes locales, se considera el sondeo de mercado llevado con entrevistas a propietarios en la ciudad de Frontera y Villahermosa Tabasco.

- Recepción de la materia prima es una de las operaciones importantes en la elaboración de estos productos, de la calidad de la materia prima depende la calidad del producto terminado, la carne deberá tener un pH de 5.6, limpio, sin golpes, el pez debe llegar con un porcentaje del 90% vivo, libre de materiales extraños, limpio de lodo o tierra.
- Se lava y se desangra con un corte en la parte ventral del pez, se deposita en balde de agua fría.
- Se coloca en la mesa y se realizan cortes en el lomo del pez tratado con una navaja o cuchillo, se realiza un corte longitudinal por la parte de unión de las espinas, al separar la piel exterior se expone el filete y se separa con cuchillo.
- Posteriormente al sacar el filete este se sumerge en agua con hielo para conservar su calidad.
- Se lleva a cabo control de calidad para selección de filetes con residuos de espinas y extraerlos.

- Se filetea conforme el estándar que tienen los productores y se deposita en bolsas para sellar al alto vacío.
- Empacado, las bolsas se empacan al 93% de vacío aproximadamente en un tiempo de sellado de 2 segundos, en bolsas de plástico de 6 x 8 pulgadas.
- Almacenamiento, al culminar el proceso se almacena en refrigeración o congelación para traslado a centro de consumo.

Estrategias financieras

Se delimitó la necesidad de inversiones totales, se necesitan 594,300.00 pesos, el 84.14% corresponde a inversiones fijas por 500,000.00 pesos en equipos de proceso y de transporte, el 15.86% de capital de trabajo por 94,300.00 pesos, para adquisición de materia prima, que constituyen la compra de 12,000 de kg de pez armado, en este caso es pez armado proporcionado por pescadores locales, gastos de mano de obra directa de 10 socios en la planta de proceso, con ventas de 1,800 kilos de filete. Se buscará el apoyo financiero con instituciones de fomento correspondiente al 100.00%, aclarando que como aportación se tienen los activos con que cuenta en estos momentos la empresa, la producción y ventas por cobrar. Se considera aportación de CONANP, con la finalidad de que la carga financiera no se aplique con obligaciones crediticias o de otro tipo, esto hace que el proyecto por si solo tenga viabilidad.

La viabilidad del proyecto se establece al comercializar 1,800 Kg de filete a un precio de 80.00 pesos/kilogramo con ingresos mensuales de 144,000.00 pesos), de los cual se tienen costos directos de producción por 30,000, gastos de administración por 17,500.00 pesos y gastos de venta de 26,900.00 pesos, con un total de egresos de 74,400 pesos (se estima que el costo de producción por kilogramos es de 41.33 pesos), de lo cual se tiene una relación beneficio costo (RBC) de 1.94, lo que sigue viabilidad en la actividad para la empresa, el pago de la mano de obra es integral para los socios del proyecto, en el caso de PE (Punto de Equilibrio) se considera 36,206.90 pesos de ventas mensuales para cubrir los gastos fijos de la empresa.

El cálculo de VAN (Valor Actual Neto) y TIR (Tasa Interna de Retorno) se aplicó como tasa de actualización e. 33.57% anual con base a créditos que se obtiene en micro financieras de la región y un monto de inversión 594,300.00 pesos, obteniendo la VAN de 1'308,448.87 que es positiva y la TIR con factor actualizado de 78.72%, lo que sugiere que es rentable el proyecto conforme los parámetros establecidos. Si bien las instituciones de fomento no cobran interés sobre los montos que proporcionan, el cálculo se realizó para verificar si se tiene la posibilidad de ser viable y rentable bajo condiciones crediticias, que en este caso es probable su ejecución.

Estrategias de innovación

En el desarrollo del proceso, se realizaron prototipos de filete relleno, filete empanizado, nuggets de filete de pez armado, los cuales al aplicar pruebas de degustación a 10 personas salieron sobresalientes en un 90%, se comentaron aplicar mejoras en sabor por condimentación y presentación; debido a que se aplicó alto vacío en sus empaques para conservación, existiendo problemas de escurrimientos de jugos de salmueras, en otros aspectos no existieron situaciones anormales.

Con base a las estrategias planteadas se generó una agenda de innovación, para considerar los procesos de atención hacia la diversidad de especies y generación de empresas sustentables en la región, la “Sociedad Cooperativa de Capital Variable, La Prosperidad de los Pantanos de Centla”, conformado por mujeres y hombres con actividad de pesca ribereña que buscan promover el desarrollo y crecimiento de la empresa con:

- a) Gestión de infraestructura, equipamiento y asistencia técnica por 500,000.00 pesos para 2018;
- b) Realización de convenios con pescadores ribereños para abastecimiento de materia prima para 2018;
- c) Generación de marca registrada y código de barras para 2019;
- d) Realización de convenio con comercios para comercialización de producto para 2019;

- e) Impacto a nivel regional con productos fortalecidos en 2019;
- f) Generación de página web para comercialización 2019;
- g) Generación de innovaciones para nuevos productos 2019;
- h) Estudio de mercado para colocación de innovaciones a nivel regional 2019;
- i) Promover esquemas de colaboración con instituciones de fomento 2019;
- j) Búsqueda de comercialización en estados vecinos y prospectos nacionales 2020;
- k) Adquisición de terrenos propios para construcción 2021;
- l) Realización de inversiones de infraestructura propia 2022;
- m) Proyecto de consolidación de empresa 2024; y
- n) Estrategias de mercados nacionales en base a crecimiento 2025.

Impacto ambiental

El proyecto de embutidos de pez armado, haciendo referencia a los objetivos, es la utilización de su carne en forma sustentable, al ser catalogado como especie invasora que afecta en gran medida la población de otros peces en las zonas donde se encuentra su hábitat, y además favorece la disminución de su población con un impacto positivo para bajar su población.

En este caso al desarrollarse este taller en Los Pantanos de Centla en la comunidad de Arroyo Polo 2da., se espera por mes comercializar 1,800 kg de filete de pez armado, lo que hace que se capture en promedio de 12,000kg de pez vivo por mes, con inversiones por compra de este producto de 30,000.00 pesos mensuales, que serían recursos extras para pescadores ribereños. Bajo este parámetro se estimaría una utilización de pez armado de 144.0 toneladas por año, solamente en un taller de esta magnitud, que si bien no se refleja en una gran incidencia en el aspecto de cantidad de individuos (No se tiene una estimación en México de la población de este pez en las aguas territoriales), pero promueve desarrollar un proceso de utilización para alimentación humana con alto valor nutritivo, que a mediano y largo plazo se contemple como una especie que ocupe a nivel industrial en otros procesos como alimento balanceado para otras especies y en cocina tradicional o de especialidades.

4. Conclusiones

La presente investigación presenta una apertura de una planta de pez armado viable y rentable, debido a que se cuenta con preferencias en los mercados que permiten la adquisición de filete a nivel local y regional, sobre todo para consumo en restaurantes, conforme a las estrategias desarrolladas durante la realización del estudio se cuenta las administrativas, con una identidad corporativa acorde a los opiniones de los socios lo que demuestra compromiso, se establecieron con el análisis FODA cinco proyectos a corto plazo, dos a mediano plazo y uno a largo plazo, lo cual promueve planificar el negocio, en el caso los aspectos técnico se logró establecer un proceso estandarizado, lo que origina optimizar los recursos existentes y eficiencia, en el aspecto financiero se demuestra la viabilidad y rentabilidad de la empresa con una RBC de 1.94, TIR de 78.72 y VAN positiva de 1'308,448.87 pesos, conforme a las ventas y gastos programados, en el aspecto social se genera mano de obra directa e indirecta lo que ayuda al empleo en la región, a nivel de impacto ambiental no se afecta la flora o fauna de la región por utilizarse una especie invasora, se tiene que trabajar en los desechos de armazón y sangre para genera productos alternos hacia otras áreas de producción; se presentan tres prototipos de productos alternos al filete (empanizados) los cuales requieren de investigación para su estandarización, se generó agenda de innovación con propuestas del 2018 hasta el 2025, esto impacta en la formación del capital humano y en los objetivos de la empresa, esto requiere de seguimiento institucional en todos sus niveles con la finalidad de que exista desarrollo, crecimiento y consolidación conforme el esfuerzo realizado por el grupo de productores.

5. Referencias

Aching, G. (2006). Matemáticas Financieras, para la toma de decisiones empresariales, Serie MYPES, Ed. Edición Digital, Prociencia y Cultura S.A., España, pag. 230. Disponible en: <http://cesaraching.blogdspot.com>.

- Ahumada-Tello, E. y Perusquia-Velasco, J. M. (2016). Inteligencia de negocios: estrategia para el desarrollo de competitividad en empresas de base tecnológica. *Contaduría y administración*. 61(1), 127-158. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1016/j.cya.2015.09.006>.
- Amezcua-Martínez, F. (2014). Colonización de la laguna de Chiricahueto (Sinaloa, México) por la especie invasora *Pterygoplichthys spp.* Especies invasoras acuáticas. Casos de estudio en Ecosistemas de México. Pp. 273-291. Disponible en: <https://www.biodiversidad.gob.mx/especies/Invasoras/pdf/EEIcasos%20de%20estudio.pdf>
- Ayala-Pérez, L. A., Pineda-Peralta, A. D., Álvarez-Guillen, H. y Amador-del Ángel, L. E. (2014). El pez diablo (*Pterygoplichthys spp.*) en las cabeceras estuarinas de la Laguna de Términos, Campeche. Especies invasoras acuáticas. Casos de estudio en Ecosistemas de México, pp. 313-336. Disponible en: <https://www.biodiversidad.gob.mx/especies/Invasoras/pdf/EEIcasos%20de%20estudio.pdf>.
- Barba-Macías, E. y Cano-Salgado, M. P. (2014). Abundancia del plecos (*Pterygoplichthys pardalis*) en sistemas lagunares y ribereños de la cuenca del Usumacinta, Balancán, Tabasco, México. Especies invasoras acuáticas. Casos de estudio en Ecosistemas de México. Pp. 293-311. Disponible en: <https://www.biodiversidad.gob.mx/especies/Invasoras/pdf/EEIcasos%20de%20estudio.pdf>.
- Barba-Macías, E. y Juárez-Flores J. (2017). Las delicias de la pesca. *Ecofronteras*, 21(60), 13-15. Disponible en: <http://revistas.ecosur.mx/ecofronteras/index.php/eco/article/download/1715/1667/>
- Bravo-Gil, R., Matute-Vallejo, J. y Pina-Pérez, J. M. (2016). Gestión de la identidad

- corporativa: Evidencias en el sector bancario. *Revista de Ciencias Sociales*. XXII (2), 49-62. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/280/28049145005.pdf>.
- Cano-Salgado, M. P., Álvarez-González, C. A., Barba, E., Civera-Cerecedo R., y Goytortua-Bores, E. (2011). Evaluación de la harina de plecos (*Pterygoplichthys spp.*) como fuente de proteína en el crecimiento y supervivencia de tilapia nilótica (Linnaeus 1776). Capítulo 4, Tesis doctoral. ECOSUR, pp. 149. Disponible en: https://ecosur.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1017/659/1/0000509241_documento.pdf
- Castañer-Martinez, J. (2014). Análisis Costo Beneficio. Ejemplos de análisis del sector privado. *Estudios Técnicos INC.*, pp. 21, Disponible en: http://gis.jp.pr.gov/Externo_Econ/Talleres/PresentationCB_JP_ETI.pdf.
- Cruz-Estrada, I. (2018). Aplicación de la mercadotecnia relacional en una empresa de venta de café de Baja California. *Región y Sociedad*. 71,1-38. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.22198/rys.2018.71.a392>.
- Delfín-Pozos, F.L., y Acosta-Márquez, M. P. (2016). Importancia y análisis del desarrollo empresarial. *Pensamiento y gestión*. 40, 184-202. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.14482/pege.40.8810>.
- DOF (2016). Norma Oficial Mexicana. NOM-060-SAG/PESC-2016. Pesca responsable en cuerpos de aguas continentales dulceacuícolas de jurisdicción federal de los Estados Unidos Mexicanos. Especificaciones para el aprovechamiento de los recursos pesqueros. Disponible en: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5452927&fecha=19/09/2016.
- Fonseca-Madrigal, J., Andrade-López, T. S., Concha-Santos, S. y Sosa-Aguirre, C. (2017). Caracterización del Aceite de Bagre Armado o Pez Diablo

(*Pterygoplichthys Sp*) obtenido con una Extracción Enzimática Neutra. Meeting Abstract. Latin American y Caribbean Aquaculture, november 7–10. México. Disponible en: <https://www.was.org/meetings/ShowAbstract.aspx?Id=52402>.

Gálvez-Rongeln, A., Ocaño-Higuera, V. M., Pacheco-Aguilar, R., Castillo-Yáñez, F. J., Lugo-Sánchez, M., Valdez-Hurtado, S. y Márquez-Ríos, E. (2011). Efecto del almacenamiento sobre la estabilidad de proteasas de vísceras de pez diablo (*Hypostomus plecostomus*). *Interciencia*. 36 (8) Agosto. Disponible en: <https://www.interciencia.net/wp-content/uploads/2018/01/625-c-MARQUEZ-5.pdf>.

García, L. M., García, X. M., González, L. K., Canese, J. H., y Ramos, P. (2017). Buenas prácticas de manufactura en comedores del mercado central de abasto de Asunción, Paraguay. *Memoria Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud*. 15 (1), 42-47. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2017.015\(01\)42-047](http://dx.doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2017.015(01)42-047).

Hernández, L. (07 de febrero 2017). Bagre armado, estigma gastronómico. *El financiero*. Disponible en: <http://www.elfinanciero.com.mx/after-office/bagre-armado-estigma-gastronomico>.

INEGI (16 de enero 2018). Balanza comercial de grupos de productos alimenticios seleccionados. Disponible en: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/sisept/default.aspx?t=bcom01&s=est&c=24679>.

Lorenzo-Márquez, H., Torres-Dosal, A., Barba, M. E., Ilizaliturri H., C. A., Martínez-Salinas, R.I., Morales, L.J.J., y Sánchez, M. I. (2016). Estimación de riesgo de exposición a metales pesados por consumo de pecos (*Pterygoplichthys spp.*) en infantes de comunidades ribereñas de los ríos Grijalva y Usumacinta, México. *Revista Internacional de Contaminación*

- Ambiental*. 32 (2), 153-164. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.20937/RICA.2016.32.02.02>.
- Mete, M. (2014). Valor Actual Neto y Tasa de Retorno: Su utilidad como Herramientas para el Análisis y Evaluación de proyectos de Inversión, Instituto de Investigación en Ciencias Económicas y Financieras. *FIDES ET RATIO*. 7, 67-85. Disponible en http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/rfer/v7n7/v7n7_a06.pdf.
- Mora-Riapira, E. H., Vera-Colina, M. A., y Melgarejo-Molina, A. Z. (2015). Planificación estratégica y niveles de competitividad de las Mipymes del sector comercio en Bogotá. *Estudios Gerenciales*. 31 (134), 78-87. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1016/j.estger.2014.08.001>.
- NMX-FF-032-SCFI-2001. Productos de la Pesca. Filete de Pescado Fresco Refrigerado. Especificaciones. (Cancela a la NMX-FF-032-1994-Scfi). Fish Products. Refrigerated Fresh Fish Fillet. Specifications. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. Disponible en: <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-FF-032-2001.PDF>.
- Monares-Gallardo, I., Ceja-Torres, L. F., Escalera-Gallardo, C., Vázquez-Gálvez, C. y Ochoa-Estrada, G. S. (2012). Tamaño de Partícula y Tiempo de Aplicación Pre-Siembra de Harina de Pescado (*Plecostomus Spp.*) en Producción de Calabacita. *Terra Latinoamericana*. 30 (2), 147-155. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57324446006>.
- Orfinger, A. B., y Goodding, D. D. (2018). The global invasion of the suckermouth armored catfish genus *Pterygoplichthys* (Siluriformes: Loricariidae): annotated list of species, distributional summary, and assessment of impacts. *Zool Stud*. 57 (7). Disponible en: <https://dx.doi.org/10.6620/ZS.2018.57-07>.

- Ponce, T. (2007). La Matriz FODA: Alternativa de Diagnóstico y Determinación de Estrategias de Intervención en Diversas Organizaciones. *Revista Enseñanza e Investigación en Psicología*. 12 (1), 113-130. Disponible en: https://cneip.org/documentos/revista/CNEIP_12-1/Ponce_Talancon.pdf.
- PROFECO (2018). Mariscos del Mar al Paladar. *Revista del Consumidor*. 493, 26-29. Disponible en: https://issuu.com/profeco/docs/revista_del_consumidor_marzo_2018.
- Ramírez-Suárez, J. C. (2012). Bagres Invasores, ¿amenaza u oportunidad? *Infopesca Internacional*. 50, 25-28. Disponible en: <http://www.infopesca.org/system/files/complemento/articulossel/50/N%C2%BA%2050%20Bagres%20invasores%20amenaza%20u%20oportunidad.pdf>.
- Reyes-Ramos, N. (2012). Manual de elaboración de ensilado ácido de pez diablo (*Hypostomus plecostomus*). ITSS, Fundación Produce Tabasco, pp. 13. Disponible en: <http://www.itss.edu.mx/wp-content/uploads/2012/08/manual-pez-diablo.pdf>.
- Ríos-Muñoz, C. A. (2015). Depredación de pez diablo (*Loricariidae: Pterygoplichthys*) por el cormorán oliváceo (*Phalacrocorax brasilianus*) en Villahermosa, Tabasco, México. *Revista Mexicana de Ornitología*. 16 (2), 62-65. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=75639662003>.
- Ruiz, S., y Hurtado, C. (2011). Estudio de Planeación Estratégica tipo FODA en el Cuerpo Médico del American British Cowdray Medical Center. *Anuales médicos*. 56 (4), 173-183. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/abc/bc-2011/bc114b.pdf>.
- SAGARPA. (2018). Alcanza producción pesquera y acuícola nacional las 1.8 millones de Toneladas. Boletín Informativo, marzo. México. Disponible en:

<http://sagarpa.gob.mx/Delegaciones/nayarit/boletines/2018/marzo/Documents/BNSAGMAR222018.pdf>.

SAGARPA. (2017). Expectativas de producción, agropecuaria y pesquera. Boletín SAGARPA-SIAP, diciembre. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/286261/Expectativas_diciembre.pdf.

Velázquez-Velázquez, E., López-Vila, J. M. y Romero-Berny, E. I. (2013). El pez diablo: especie invasora en Chiapas. *Lacandonia*. 7 (1), 99-104. Disponible en: <https://cuid.unicach.mx/revistas/index.php/lacandonia/article/view/315>.

Wakida-Kusunoki, A. T. y Toro-Ramírez, A. (2016). El robalo prieto (*Centropomus poeyi*), nuevo depredador del pez diablo (*Pterygoplichthys pardalis*). *Hidrobiológica*. 26 (1), 147-159. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/hbio/v26n1/0188-8897-hbio-26-01-00147.pdf>.

Yurkievich, G. y Sánchez-Crispín, A. (2016). Estructura territorial de la actividad pesquera en Guaymas, Sonora. *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía*. 2016 (91), 152-167. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.14350/rig.49937>

Sección 4. Ingeniería y Tecnología de los Alimentos

Efecto de la adición de harina de garbanzo sobre las propiedades fisicoquímicas de un yogur natural

M.G. Montejano-Soto¹, D. Morales-Koelliker² y V.G. Aguilar-Raymundo^{1*}

¹Universidad Politécnica de Pénjamo. Dirección completa.

²Universidad Popular Autónoma de Estado de Puebla. 21 Sur, 1103.

Barrio de Santiago, Puebla. C.P. 72410

e-mail: vaguilar@uppenjamo.edu.mx

Resumen

El consumo de alimentos benéficos para la salud ha sido una de las 10 tendencias más relevantes en la última década, por lo que el enriquecimiento y/o la modificación de productos alimenticios es uno de los grandes retos de la industria. La adición de nutrimentos de origen vegetal, principalmente proteínas y fibras, ha ganado terreno como alternativa a las proteínas animales. Uno de los alimentos ampliamente consumido en todo el mundo es el yogur, un producto fermentado de baja acidez, generalmente elaborado a base de leche entera, sólidos no grasos y saborizantes. Su consistencia suele ser semi-sólida o semi-líquida. El objetivo de este estudio fue determinar las características fisicoquímicas (pH, acidez, sinéresis, °Brix, densidad y color) de un yogur adicionado con harina de garbanzo de dos variedades (Blanco Sinaloa y Blanoro). Los yogures se almacenaron a 4 °C y fueron evaluados en los tiempos 1, 8 y 15 días, con el fin de detectar cambios durante el almacenamiento. Los resultados obtenidos muestran ligera disminución en los valores de pH a lo largo del tiempo, la densidad permaneció estable, el color mostró tendencias hacia el amarillo, perdiendo luminosidad. Estos resultados sugieren que el yogur adicionado con harina de garbanzo es estable durante el almacenamiento.

Palabras clave: yogur, harina de garbanzo, propiedades fisicoquímicas.

Abstract

The consumption of foods beneficial to health has been one of the 10 most relevant trends in the last decade, so the enrichment and/or modification of food products is one of the greatest challenges for the industry. The addition of nutrients of plant origin, mainly protein and fibre, has gained ground as an alternative to animal protein. One of the most widely consumed foods worldwide is yogurt, a low-acid fermented product, generally made from whole milk, non-fat solids and flavoring. Its consistency is usually semi-solid or semi-liquid. The objective of this study was to determine the physicochemical characteristics (pH, acidity, syneresis, °brix, density and color) of a yogurt added with chickpea flour of two varieties (Sinaloa White and Blanoro White). The yoghurt was stored at 4°C and evaluated at times 1, 8 and 15 days to detect changes during storage. The results obtained show a slight decrease in the pH values over time, the density remained stable, the color showed a tendency towards yellow, losing luminosity. These results suggest that yogurt added with chickpea flour is stable during storage.

Keywords: yogurt, flour of chickpea, physico-chemicals properties.

1. Introducción

El consumo de alimentos benéficos para la salud ha sido una de las principales tendencias en esta última década, por lo que el enriquecimiento y/o modificación de productos alimenticios es uno de los grandes retos de la industria. La adición de nutrientes de origen vegetal, principalmente de proteínas y fibras, ha ganado terreno como alternativa a las proteínas de origen animal (OMS, 2003).

El yogur es uno de los alimentos ampliamente consumidos en todo el mundo. Es un producto fermentado de baja acidez, que contiene probióticos, los cuales, al ser consumidos en cantidades suficientes, ejercen efectos benéficos al huésped (Tamime y Robinson, 1999, Parra-Huerta, 2012; Zare et al., 2012; Kayanush y Olson, 2018).

El garbanzo es una leguminosa que representa un alto potencial nutricional, debido a su alto contenido de proteína (22.9 – 24.6%), grasa (2.6 – 6.0%), cenizas (3.21 – 3.43%) y carbohidratos 60%, principalmente almidón (Arab et al., 2010). México, es un gran productor de esta leguminosa, colocándose en el octavo lugar a nivel mundial, la mayor parte de producción es calidad de exportación, dejando limitado su consumo (Aguilar-Raymundo y Vélez-Ruiz, 2016). Es necesario aumentar su consumo y diversificarlo como “ingrediente funcional” en el desarrollo de productos alimenticios. Una de las ventajas que proporciona este grano es que mantiene la sensación de saciedad durante un largo periodo (Peralta y Veas, 2014).

La legislación “Canadian Legal Legislation Institute” (2008), autorizó la fortificación de yogurt con 2% de sólidos totales, lo que representa una oportunidad para enriquecer el valor nutricional del yogurt con leguminosas, tales como: frijol (*Phaseolus vulgaris*), chícharo (*Pisum sativum*) lentejas (*Lens culinaris*) y garbanzo (*Cicer arietinum* L), representan un gran potencial, además de ser un factor de crecimiento (prebióticos) para el enriquecimiento de bebidas

probióticas y yogurt (Zare *et al.*, 2012). Por lo anterior, se propone incorporar harina de garbanzo a formulaciones lácteas y determinar las características fisicoquímicas.

2. Materiales y Métodos

2.1. Materiales

El grano de garbanzo tipo Kabul Blanco Sinaloa y Blanoro (Cosecha 2017), fueron proporcionadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), campus Celaya.

2.2. Preparación de la harina

Preparación de las harinas. Se pesaron 100 g de grano, se llevó a cabo la molienda en un molino de discos manual (Marca estrella, México), posteriormente, se realizó una segunda molienda. Al término, se realizó el tamizado (250 μ m, malla #60). Las harinas se colocaron en bolsas resellables, se etiquetaron y se guardaron en un lugar fresco hasta su uso.

2.3. Formulación de los sistemas

La preparación de yogur consistió en la estandarización de sólidos (4 g sólidos por cada 100 ml de leche pasteurizada). La elaboración del yogur se realizó con el método descrito por Tamime y Robinson (1999), mezclando leche entera fluida y leche descremada en polvo para ajustar el nivel de sólidos, azúcar (4%), posteriormente fue tratada térmicamente a (90 °C por, 15 min). Se dejó enfriar hasta bajar la temperatura a 37 °C para realizar la adición de los microorganismos fermentadores (0.02%). Los sistemas se colocaron en una incubadora donde permanecieron por 5.0 ± 0.5 h, hasta alcanzar un pH de 4.5.

Tabla 1. *Composición de los sistemas adicionados con harina de garbanzo*

Sistema	Leche entera (ml)	Azúcar (g)	Sólidos de leche (g)	Harina (g)
---------	-------------------	------------	----------------------	------------

C	250	10	10	-
BS				
Y1-	250	10	6.5	6.5
BS				
Y2-	250	10	-	10
BS				
Y3-	250	10	6.5	6.5
BN				
Y4-	250	10	-	10
BN				

2.4 Caracterización fisicoquímica

Se determinaron los sólidos solubles expresados como °Bx, medidos con un refractómetro digital (Reitcher AR 200, EU), usando el método 981.12. El pH fue medido usando un potenciómetro digital, a 20 °C de acuerdo al método 981.12. La acidez fue determinada según el método 947.05, se expresa como porcentaje de ácido láctico. La densidad, se obtuvo gravedad específica se usó un picnómetro de metal (de Grease) y comparando su peso cuando se encuentra vacío, con agua destilada y con la muestra. La sinéresis, se determinó empleando una centrífuga a 5000 rpm durante 20 min. El sobrenadante se separa y pesa, la sinéresis se expresa como: % sinéresis = ((P sobrenadante)/(P muestra)) *100.

El color, se determinó empleando el Colorímetro Chroma meter CR-410 (Konica Minolta Sensing, Inc. Japón) y se reporta por medio de los parámetros L* (luminosidad), a* (intensidad de rojo a verde) y b* (intensidad de amarillo a azul) en modo de reflectancia.

2.5 Análisis estadístico.

Los análisis se realizaron por duplicado. Los datos se analizaron con un análisis de varianza (ANOVA) para determinar diferencias significativas entre los resultados obtenidos, con un 95% de confianza. Se utilizó el programa Minitab 16® (Minitab Inc., Pennsylvania, EE.UU.).

3. Resultados y Discusión

pH

La Figura 1, muestra la evolución del comportamiento de pH de las muestras almacenadas por 15 días. Se aprecia una considerable disminución a través del tiempo para todas las muestras. En general, se observa un decremento rápido en los primeros 8 días de almacenamiento, excepto para las muestras Y2BS, Y3BN y Y4BN. Las muestras cumplen con el pH establecido por la norma oficial mexicana, NOM-181-SCFI-2010, (pH <4.4) al día 15, excepto las muestras C, Y1BS y Y3BN.

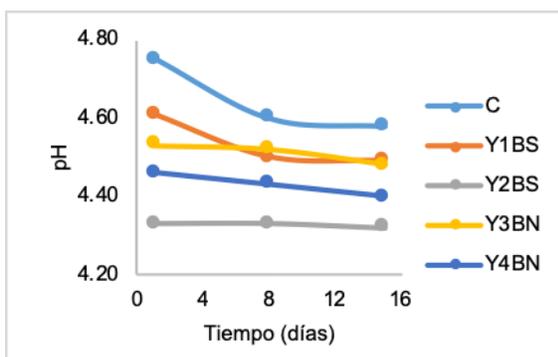


Figura 1. Cambios en el pH durante el almacenamiento de yogur enriquecido con harina de garbanzo.

Acidez titulable

En la Figura 2 muestra la evolución del porcentaje de acidez (expresado como porcentaje de ácido láctico), producto de la fermentación de los azúcares, para las muestras con sólidos de leche y con harina, respectivamente. El control, inició con 1.1 y con el tiempo bajó, la muestra Y1BS, inició con 0.84 y aumentó a 0.90.

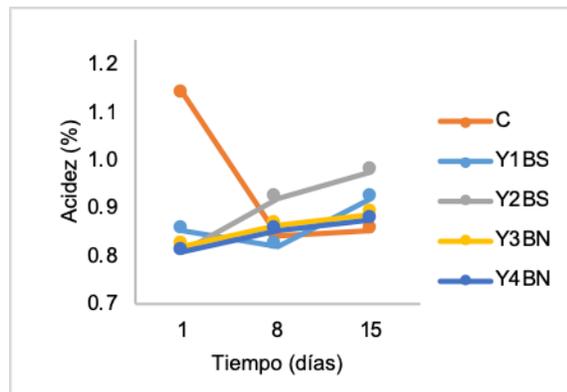


Figura 2. Cambios la acidez en el almacenamiento de yogur enriquecido con harina de garbanzo.

En el resto de las muestras se puede observar un incremento en la acidez respecto al tiempo de almacenamiento a una velocidad inferior como resultado de la actividad enzimática y metabólica bajo condiciones de refrigeración (4 °C). Los valores se encuentran dentro del intervalo establecido por NOM-181-SCFI-2010 que estipula un mínimo de 0.5%.

°Brix y Densidad

En la Tabla 2, se muestra el concentrado de los valores obtenidos en la determinación de sólidos totales para los sistemas. Se observa que todos los yogures poseen un porcentaje de sólidos totales similares (en promedio 18.7%).

Se aprecia que los sólidos disminuyen significativamente ($p < 0.05$) con relación al tiempo, y que no influye la formulación.

Tabla 2. Caracterización fisicoquímica de los sistemas enriquecidos con harina de garbanzo.

Sis tema	D ías	°Bx $\pm 0.01^{aA}$	Densidad (kg/m ³)	
C	1	19.70 $\pm 0.01^{aA}$	1062 \pm 0.01 ^b	
	8	18.70 $\pm 0.01^{aAB}$	1062 \pm 0.01 ^b	
	5	16.00 $\pm 0.01^{aB}$	1063 \pm 0.01 ^b	
BS	Y1	1	18.70 $\pm 0.01^{aA}$	1075 \pm 0.01 ^a
		8	18.90 $\pm 0.01^{aAB}$	1075 \pm 0.01 ^a
	Y2	5	16.00 $\pm 0.01^{aB}$	1074 \pm 0.01 ^a
BS	Y2	1	19.50 $\pm 0.01^{aA}$	998 \pm 0.01 ^c
		8	18.90 $\pm 0.01^{aAB}$	998 \pm 0.01 ^c

		1	17.90	
		5	$\pm 0.01^{ab}$	998 ± 0.01^c
BN	Y3	1	20.00	
			$\pm 0.01^{aA}$	1076 ± 0.01^a
		8	19.50	
			$\pm 0.01^{aAB}$	1076 ± 0.01^a
		1	18.70	
		5	$\pm 0.01^{ab}$	1074 ± 0.01^a
BN	Y4	1	19.80	
			$\pm 0.01^{aA}$	1076 ± 0.01^a
		8	19.60	
			$\pm 0.01^{aAB}$	1075 ± 0.01^a
		1	19.30	
		5	$\pm 0.01^{ab}$	1075 ± 0.01^a

Los valores representan el promedio de análisis por duplicado \pm desviación estándar. Letras diferentes muestran diferencia significativa $p < 0.05$, por la prueba de Tukey. Letras minúsculas diferencias con respecto a la formulación. Letras mayúsculas diferencias con respecto al tiempo de almacenamiento.

En el análisis estadístico se muestra que no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) para el contenido de sólidos totales entre las diferentes formulaciones y que los días, si ejercen un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre este parámetro.

Color

Como era de esperarse, la adición de harina de garbanzo generó ligeros cambios de color con respecto al control. Sin embargo, se observó mediante el análisis estadístico que, para todos los tipos de yogurt, presentan diferencias significativas ($p < 0.05$) respecto a la formulación para los parámetros L^* , a^* y b^* , cabe resaltar que el tiempo de almacenamiento no fue significativo ($p > 0.05$), lo cual es una gran ventaja.

Tabla 3. *Parámetros de color de los yogures enriquecidos con harina de garbanzo.*

Formulación	Ías	L^*	a^*	b^*
C	1	91.98 $\pm 0.21^a$	2.01 \pm 0.01 ^a	6.30 $\pm 0.01^b$
	ξ	92.07 $\pm 0.12^a$	1.90 \pm 0.01 ^a	6.68 $\pm 0.01^b$
	1	91.76 $\pm 0.01^a$	2.35 \pm 0.02 ^a	7.35 $\pm 0.01^b$
	5			
Y1BS	1	87.53 $\pm 1.90^b$	2.13 \pm 0.01 ^a	6.62 $\pm 0.01^b$
	ξ	87.53 $\pm 0.32^b$	2.13 \pm 0.02 ^a	6.62 $\pm 0.01^b$
	1	90.22 $\pm 0.01^b$	2.30 \pm 0.01 ^a	10.9 2 ± 0.01^b
	5			
Y2BS	1	88.48 $\pm 0.01^b$	2.41 \pm 0.01 ^a	13.1 3 ± 0.01^a

	ξ	86.45	2.39 \pm	13.1
		$\pm 0.12^b$	0.02 ^a	2 \pm 0.01 ^a
	1	86.45	2.39 \pm	13.1
		$\pm 0.45^b$	0.01 ^a	2 \pm 0.01 ^a
Y3BN	1	89.36	2.29 \pm	11.7
		$\pm 0.21^b$	0.01 ^a	7 \pm 0.01 ^a
	ξ	86.45	2.39 \pm	13.1
		$\pm 0.54^b$	0.01 ^a	2 \pm 0.01 ^a
1	87.34	2.19 \pm	10.7	
	$\pm 0.22^b$	0.01 ^a	5 \pm 0.01 ^a	
Y4BN	1	88.38	2.28 \pm	14.0
		$\pm 0.76^b$	0.01 ^a	7 \pm 0.01 ^a
	ξ	86.28	2.19 \pm	13.2
		$\pm 0.34^b$	0.01 ^a	2 \pm 0.01 ^a
1	86.28	2.19 \pm	13.2	
	$\pm 0.23^b$	0.01 ^a	2 \pm 0.01 ^a	

Los valores representan el promedio de análisis por duplicado \pm desviación estándar. Letras diferentes muestran diferencia significativa $p < 0.05$ con respecto a la formulación.

Porcentaje de sinéresis

En la Figura 3, se muestra el comportamiento del porcentaje de sinéresis presentado por los sistemas elaborados. Se aprecia una tendencia a la disminución respecto al tiempo, debido a una mayor capacidad de retención de

agua por acción de la harina para mantener la formación del gel. Los valores de sinéresis obtenidos en el presente estudio oscilan entre 10 – 38.5%.

El análisis estadístico muestra que hay diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las formulaciones. El almacenamiento no ejerce efecto significativo sobre los yogures adicionados con harina de garbanzo.

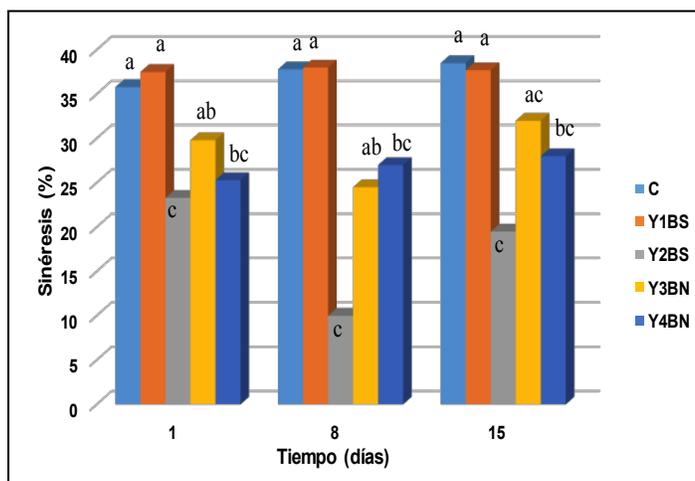


Figura 3. Porcentaje de la sinéresis en el almacenamiento de yogur enriquecido con harina de garbanzo.

4. Conclusiones

Entre las características fisicoquímicas de los sistemas elaborados, los parámetros afectados son el contenido de sólidos, el color y la sinéresis, donde la incorporación de la harina ocasiona estas diferencias.

5. Referencias

- Aguilar-Raymundo, V. G. y Vélez-Ruiz, J. F. (2016). Characterization of two chickpea varieties and the effect of cooking on their physico-chemical and functional properties of flours. *Journal of Food Research*. 5 (5), 67 – 76.
- A.O.A.C. (2000). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. International. 17th Edition. Maryland, EE.UU.
- Arab, E. A. A., Helmy, I. M. F. y Barch, G. F. (2010). Nutritional evaluation of functional properties of chickpea (*Cicer arietinum* L) flour and the improvement of spaghetti produced from it. *Journal of American Science*. 6 (10), 1055 – 1072.
- Kayanush, J. A. y Olson, D. (2018). A 100-year review: Yoghurt and other cultured dairy products. In *Yogurt: Science and Technology*, Woodhead Publishing Ltd. *Journal Dairy Science*. 100, 9987– 10013.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-181-SCFI-2010, Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba.
- Organización Mundial de la Salud. (2003). Dieta, Nutrición y Prevención de enfermedades crónicas. Serie de informes técnicos, 916.
- Parra-Huerta, R. A. (2012). Yogur en la salud humana. *Revista Lasallista de investigación*. 9 (2), 162–177.
- Peralta, R. B. y Veas, R. E. A. (2014). Garbanzo: Usos alternativos para generar valor agregado al descarte. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. pp 8–10.
- Tamime, A. Y., y Robinson, R. K. (1999). Biochemistry of fermentation. In: *Yoghurt science and technology* (A. Y. Tamime y R. K. Robinson, Eds.), 2nd ed, pp. 432–475. Cambridge, UK: CRC Press.

Zare, F., Champagne, C. P., Simpson, B. K., Orsat, V. y Boye, J. I. (2012). Effect of the addition of pulse ingredients to milk on acid production by probiotic and yoghurt starters cultures. *LWT – Food Science and Technology*. 45, 155–160.

Efecto del extracto proteico obtenido a partir de látex de papaya y pulpa de piña adicionado en un condimento sobre las propiedades mecánicas y sensoriales de un corte de carne de tercera calidad

L.M. Muñoz-Ramírez^{1*}, A.M. Celis-Torres¹, J. Quintero Quiroz¹ y G.L. Ciro-Gómez¹

¹Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Universidad de Antioquia. Antioquia, Medellín, calle 70 No. 52 - 21.

e-mail: luisa.munozr@udea.edu.co

Resumen

La papaína y la bromelina son proteasas presentes en el látex de la papaya y en la pulpa de la piña respectivamente, usadas principalmente como ablandadores de carne. El interés en la modificación de la terneza de la carne bovina se debe a la necesidad de incrementar el valor comercial de los cortes más duros denominados de tercera calidad y potencializar atributos sensoriales de importancia para los consumidores. El alto costo de dichas proteasas puras conlleva a evaluar el efecto de la incorporación en un condimento de extractos proteicos obtenidos del látex de la papaya y de la pulpa de piña, sobre las propiedades mecánicas y sensoriales de un corte de tercera calidad. Para elaborar el condimento se obtuvieron los extractos proteicos y se les cuantificó la actividad enzimática *in vitro*, definiendo mezclas con diferentes concentraciones (0-2%), donde el porcentaje restante contenía una mezcla de especias y harinas. Los cortes condimentados fueron sometidos a análisis de perfil de textura y perfil sensorial, obteniéndose actividad proteolítica de $0,561 \pm 0,020$ U y $0,089 \pm 0,008$ U para la papaína y bromelina respectivamente, y encontrándose que el condimento disminuyó la dureza, gomosidad y masticabilidad del corte.

Palabras clave: Proteasas, carne bovina, TPA, análisis sensorial, condimento.

Abstract

Papain and bromelain are proteases present in papaya latex and pineapple pulp respectively, used mainly as meat tenderizers. The interest in modifying beef tenderness is due to the need to increase the commercial value of the harder cuts called third quality and to potentiate sensory attributes of importance to consumers. The high cost of these pure proteases leads to evaluate the effect of the incorporation in a condiment of protein extracts obtained from the latex of the papaya and the pineapple pulp, on the mechanical and sensory properties of a third quality cut. To prepare the condiment, the protein extracts were obtained and the enzymatic activity was quantified in vitro, defining mixtures with different concentrations (0-2%), where the remaining percentage contained a mixture of spices and flours. The flavored cuts were subjected to analysis of texture profile and sensory profile. Obtaining proteolytic activity of $0,561 \pm 0,020U$ and $0,089 \pm 0,008U$ for papain and bromelain respectively, and finding that the condiment decreased the hardness, gumminess and chewiness of the cut.

Keywords: Proteases, bovine meat, TPA, sensory analysis, condiment.

1. Introducción

La carne es definida por el Codex Alimentarius como “todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destinan para este fin”, es importante nutricionalmente debido a su alta proporción de proteínas de alto valor biológico con aminoácidos esenciales para satisfacer las necesidades nutricionales del organismo, además es fuente importante de energía por su contenido de grasa, vitaminas, minerales y hierro de alta biodisponibilidad (FAO, 2015). Sin embargo, a la hora de comprar la carne, la elección del consumidor se ve influenciada no solo por el valor nutricional de esta sino también por su calidad sensorial, la cual es apreciada con base a los criterios de sabor, jugosidad y terneza, este último criterio es un factor de gran importancia que incide en la aceptación que tiene el consumidor final del producto cárnico y se define como la dificultad o la facilidad con la que se puede cortar o masticar (D’Alessandro y Zolla, 2013; Restrepo, 2008).

Con base a la terneza y marmóreo los cortes de la carne de res se clasifican en tres categorías: de primera, de segunda y de tercera calidad. Los cortes de primera calidad corresponden al corte pistola largo y se caracterizan por tener un alto rendimiento muscular, los cortes de segunda comprenden la aguja y costillar caracterizándose por su menor rendimiento muscular y mayor proporción de grasa y/o hueso, y los cortes de tercera comprenden la parte del frente del animal, estos últimos cortes tienen un mayor contenido de grasa, hueso y tendones (colágeno y elastina), la presencia de dichos tendones le dan a estos cortes su dureza característica (Sanchez, n. d.). En Colombia la carne de res tiene un valor entre \$ 1,48 a 5,61 por libra, para lo cual una persona que devenga el salario mínimo requiere de no menos de seis h de trabajo para adquirirla lo que indica que en la dieta de los estratos bajos colombianos (79,2%) pocas veces se accede a un corte de carne que sea de alta calidad sensorial (Contexto ganadero, 2014; El Tiempo, 2017).

La terneza se relaciona principalmente con los siguientes factores: la degradación de la fibra muscular, el estado contráctil del músculo, la cantidad de tejido conectivo y la cantidad de grasa intramuscular o 'marmóreo'; estos factores son susceptibles a cambios determinados por la variación genética y/o el medio ambiente (Vásquez *et al.*, 2007). Dada su importancia en la aceptación de la carne por parte del consumidor existen diversos métodos para aumentarla entre ellos: mecánicos, químicos, bioquímicos, físicos y enzimáticos, entre estos últimos varias enzimas vegetales (como la papaína y la bromelina) han sido ampliamente investigadas como ablandadores de carne (Barekat y Soltanizadeh, 2017).

Las enzimas son proteínas presentes en todas las células incluyendo microorganismos y organismos superiores, que actúan como catalizadores biológicos llevando a cabo reacciones bioquímicas con un alto grado de especificidad. Aunque las enzimas son producidas en células vivas, éstas pueden ser separadas del material celular y continúan manifestando su actividad biológica en procesos químicos, siendo estas de gran utilidad para la industria pues permiten aumentar velocidades de reacción, rendimientos y mejorar la calidad de sus productos. Según el tipo de reacción que catalizan las enzimas se pueden clasificar en: oxidorreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas (Badui Dergal, 2006). Entre el grupo de las hidrolasas se encuentran las proteasas que catalizan la hidrólisis de los enlaces peptídicos de proteínas, son de gran importancia en todos los procesos fisiológicos que implican maduración y activación de proteínas o su degradación (proteólisis). Existen proteasas comerciales de origen vegetal, animal y microbiano (Hernández *et al.*, 2005; Ramli *et al.*, 2017; Réhault, 2007); Estas enzimas se usan en el ablandamiento de la carne el cual producen por medio de una proteólisis de las proteínas del tejido conectivo como el colágeno (Pérez, 2004).

Entre las proteasas de origen vegetal se encuentran un tipo denominado cisteíno proteasas presentes en el látex de *Carica papaya* y la pulpa de piña

(*Ananas comosus*): el primero es una fuente rica de cisteína endopeptidasas, que incluyen papaína, glicil endopeptidasa, quimopapaína y caricaína, que constituyen más del 80% de la fracción enzimática completa y en la segunda se encuentra un grupo de enzimas proteolíticas que se han denominado generalmente como "bromelinas", que son endopeptidasas y representan casi el 90% del material proteolíticamente activo (Ketnawa *et al.*, 2012; Rowan, 2013; Romo y Banchon, 2005). La papaína y bromelina presentes en las matrices antes mencionadas tienen aplicaciones en la industria alimentaria principalmente como ablandadores de carne, y en Colombia son importadas de países como Dinamarca y Alemania con un alto costo por su estado de pureza (Euromonitor International from United Nations, 2017).

Por otro lado, se entiende como condimento las sustancias alimenticias que se utilizan para sazonar o realzar el sabor de los alimentos, logrando una armonía entre todos los ingredientes sin alterar el sabor natural de lo que se cocina, la palabra condimento es un genérico en el que se incluyen las hierbas y las especias. Si bien es cierto que en el mercado ya existen ablandadores de carne éstos sólo contienen papaína o bromelina vehiculizadas en harinas, pero no contienen ambas enzimas mezcladas con especias, por esto es de interés evaluar un condimento que modifique el sabor y a la vez mejore la textura de un corte de carne (Ariza, 2015; Ene-Obong *et al.*, 2018).

Por lo anteriormente mencionado el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del extracto proteico obtenido a partir de látex de papaya y de pulpa de piña adicionado en un condimento sobre las propiedades mecánicas y sensoriales de un corte de carne de tercera calidad.

2. Materiales y Métodos

2.1. Materiales

Todos los reactivos químicos usados en la investigación eran de grado analítico y se obtuvieron de Merck (Alemania), Sigma-Aldrich (Reino Unido) y Carlo Erba Reagents (España). La piña (*Ananas comosus*) variedad manzana y el látex de papaya (*Carica papaya* L) se obtuvieron respectivamente de los municipios de Medellín y Cocorná, Colombia.

2.2. Obtención de los extractos proteicos

Los extractos proteicos se obtuvieron a partir de pulpa de piña (*Ananas comosus*) variedad manzana y látex de papaya (*Carica papaya* L), siguiendo la metodología descrita por (Chaurasiya y Umesh, 2013) para la pulpa de piña y (Quino *et al.*, 2008) para el látex de papaya, ambas con modificaciones. La pulpa de la piña fue procesada con una solución buffer fosfato 0,1 M pH 8,0 y el látex de la papaya con una solución buffer citrato-fosfato 0,2 M pH 3,0; para ambas extracciones se usó una relación de 1:2 (fuente:buffer). A las soluciones obtenidas se le agregó sulfato de amonio a una saturación del 100% para precipitar la totalidad de las proteínas, posteriormente fueron centrifugadas (Centrifuga Hermle Z 206A) cada solución a 6000 rpm por 5 minutos, y dializadas por separado usando una membrana de celulosa con tamaño de poro de 3 kDa. Por último, se procedió a liofilizar (Labconco) la proteína y se tamizó usando un tamiz número 60 (Tamiz Standard abertura 250 μm).

2.3. Evaluación de la actividad enzimática *in vitro* de los extractos proteicos.

Para la evaluación de la actividad proteolítica de los extractos proteicos se empleó la metodología descrita por (Baeyens-Volant *et al.*, 2015) con algunas modificaciones. 250 μl de azocaseína con una concentración de 1% para el extracto proteico con bromelina y de 0,25 % para el extracto proteico con papaína, fue usada como sustrato, a esta solución se le agregó 250 μl de buffer

Tris-HCl 0,1 M pH 8,0, 50 μ l de extracto proteico en concentraciones de 0,7 a 4 mg de proteína/ml. Se incubo la reacción durante 30 min a 25 °C y fue detenida posterior a la incubación agregando 250 μ l de ácido tricloroacético al 20%; posteriormente los tubos fueron llevados a refrigeración durante 20 min centrifugados por 10 min a 14000 rpm. Se tomaron 500 μ l del sobrenadante y se adicionaron 500 μ l de NaOH 1 M, a esta solución se le midió la absorbancia en un espectrofotómetro (UV-1700, Shimadzu Europe®) a 440 nm. A las absorbancias obtenidas se les restó la absorbancia del control y se dividieron entre el tiempo de reacción, el cual fue graficado contra la concentración de la proteína. Una unidad (U) de actividad enzimática fue definida como el incremento de 0,1 unidades de absorbancia a 440 nm por min y por mg de proteína. Para los controles negativos en cada concentración de azocaseína se agregó el ácido tricloroacético antes de agregar la azocaseína.

2.4. *Elaboración del condimento*

Para la producción del condimento se tuvo como base fija un 70,75% representado por: 54% especias (28% comino en polvo, 8% pimienta negra, 8% orégano, 2% tomillo seco, 2% laurel seco, 3% cebolla en polvo, 3% sal de ajo y 1% achiote), entre 27,25 a 29,25% harina de trigo, 15,75% harina de arroz y 1% sal, el 2% restante consistió en los extractos proteicos, los porcentajes fueron determinados con base a lo reportado por otros autores (Andrade *et al.*, 2007; Gómez, 2015; Miranda y Miranda, 2010; Torres, 2017). Se elaboraron 4 mezclas que tuvieron los siguientes porcentajes de extracto: 0% de extractos proteicos (M1), 2% de extracto proteico de piña (M2), 2% de extracto proteico de látex de papaya (M3) y 2% de extracto proteico con una mezcla 1:1 de piña:látex (M1).

2.5 *Evaluación del condimento sobre la matriz cárnica*

Cada mezcla se aplicó sobre 30 g del corte de tercera calidad (Corte tableado) en una dosificación de 0,35% y dando un tiempo de acción del condimento de 2 h, posteriormente, los cortes se sometieron a un proceso de

cocción húmeda durante 10 minutos y se procedió a realizar los siguientes análisis:

Análisis de perfil de textura (TPA)

Para el análisis de perfil de textura se siguió el procedimiento descrito por (Hleap y Velasco, 2010) de la siguiente manera: se tomaron trozos de carne de aproximadamente 1,0 cm de grosor y 4,5 cm de diámetro en una bolsa de polietileno para evitar la pérdida de humedad. Se realizó una doble compresión en un texturometro (EzTest Shimadzu) a 20% de deformación, velocidad de cabezal de 1 mm s⁻¹ y con un tiempo de espera de 15 segundos entre las compresiones. Los resultados analizados fueron dureza, gomosidad y masticabilidad.

Perfil sensorial por aproximación multidimensional

El perfil sensorial por aproximación multidimensional se realizó siguiendo los parámetros definidos por las Normas Técnicas Colombianas 3501, 3932 y las Guías Técnicas Colombiana 165 y 232. Un grupo de jueces entrenados (4 jueces) identificaron y describieron el conjunto de descriptores relevantes para los atributos de aspecto general, olor, sabor y textura que dan la máxima información sensorial del producto objeto de estudio, con el propósito de establecer un perfil sensorial, valorando las intensidades en una escala de calificación de 0 a 5 para todos los descriptores donde 0 es bajo y 5 es alto (ICONTEC, 1996, 2007).

2.6. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se usó el software Statgraphics centurion XVI, realizando un análisis de varianza simple (ANOVA) para las propiedades mecánicas obtenidas en el TPA y los atributos de textura obtenidos en el análisis sensorial.

3. Resultados y Discusión

3.1. Actividad proteolítica de los extractos proteicos

En la Figura 1 se observan las gráficas obtenidas para la actividad proteolítica de cada extracto.

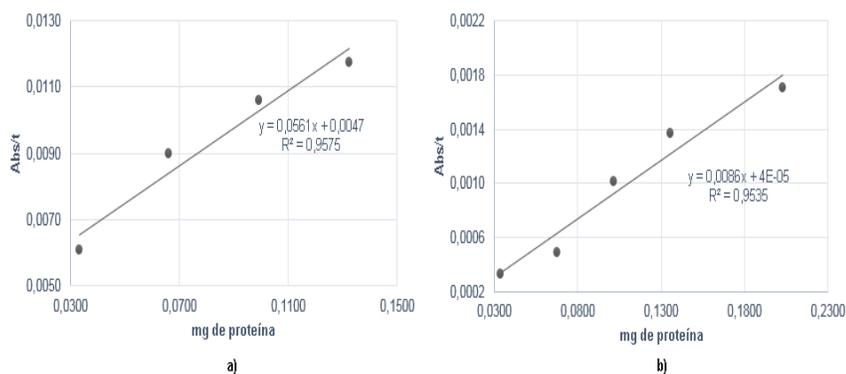


Figura 1. Actividad proteolítica de los extractos proteicos sobre azocaseína, a) Extracto proteico con papaína, b) Extracto proteico con bromelina.

Se obtuvo una actividad enzimática sobre azocaseína de $0,561 \pm 0,02$ U y $0,089 \pm 0,00$ U para los extractos proteicos de piña y papaya respectivamente, lo cual confirma la presencia de enzimas proteolíticas en los extractos obtenidos, por otro lado, no es posible afirmar si una u otra actividad es mayor dado que los ensayos se realizaron a diferentes concentraciones de sustrato ya que ambos extractos presentaron velocidades máximas diferentes. La actividad proteolítica obtenida para ambos extractos coincide con lo reportado por otros autores, Corzo *et al.*, (2012) encontraron que la bromelina cruda obtenida a partir de pulpa de piña presentó actividad proteolítica sobre azocaseína, asimismo Wu *et al.* (2017), encontraron que la bromelina purificada presentó actividad proteolítica sobre caseína. En cuanto al látex de la papaya, Thomas *et al.* (2009) reportaron actividad proteolítica de extractos enzimáticos obtenidos de

diferentes órganos de la papaya, y Homaei y Samari (2017) encontraron que la papaina pura presentó actividad sobre caseína.

3.2. Análisis de perfil de textura (TPA)

En la Tabla 1 se muestran las propiedades mecánicas de la carne determinadas con el texturómetro: dureza, gomosidad y masticabilidad.

Tabla 1. Propiedades mecánicas obtenidas en el TPA.

Mezcla	Dureza (N)	Gomosidad (N)	Masticabilidad (N)
1	14,32 ± 4,64 ^a	10,46 ± 3,08 ^c	8,95 ± 2,73 ^e
2	7,54 ± 2,35 ^b	5,74 ± 1,81 ^d	5,11 ± 1,61 ^f
3	3,90 ± 0,19 ^b	2,14 ± 0,24 ^d	3,83 ± 0,61 ^f
4	5,35 ± 1,62 ^b	3,03 ± 1,06 ^d	3,26 ± 0,14 ^f

Valores con letras iguales en la misma columna no presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) de acuerdo con el procedimiento LSD-Fisher.

La dureza se refiere a la fuerza requerida para comprimir un alimento entre los molares o entre la lengua y el paladar, se expresa en unidades de fuerza (N), requiriendo una fuerza de 14,32 N para la carne con M1, es decir que no contiene ningún extracto proteico mientras que para las otras mezclas se necesitó una fuerza menor entre 3,9 y 7,5 N. Por otra parte, la gomosidad es la energía requerida para desintegrar un alimento semisólido de modo que esté listo para ser tragado, evidenciándose que es necesaria mayor energía para desintegrar la muestra con la M1. Así mismo, la masticabilidad representa el

trabajo necesario para desintegrar un alimento hasta que esté listo para ser deglutido, se expresa en Kg y el corte que requiere mayor trabajo para ser deglutido fue la muestra con adición de la M1 (Hleap y Velasco, 2010).

Lo anterior se corrobora en la Tabla 2, donde los valores para cada propiedad mecánica de razón F y valor P, indican que los resultados obtenidos presentan diferencias significativas en la masticabilidad y la gomosidad evidenciándose la actividad proteolítica de las enzimas sobre las muestras cárnicas de las mezclas con extractos proteicos.

Tabla 2. Resumen de ANOVA propiedades mecánicas obtenidas en el TPA.

Propiedad mecánica	Razón F	Valor P
Dureza	8,57	0,0070
Gomosidad	12,00	0,0025
Masticabilidad	7,54	0,0102

En la Figura 2 se evidencian las medias para cada uno de los parámetros mecánicos, donde se observa que las mezclas que contenían extractos proteicos no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí en las propiedades de dureza, gomosidad y masticabilidad, presentándose una disminución en estas comparadas con la M1.

De acuerdo con los resultados descritos, se evidencia que los extractos proteicos adicionados a cada una de las muestras de carne realizaron una hidrólisis parcial de las proteínas del tejido conectivo (colágeno y elastina) y del tejido muscular (actina y miosina), lo que coincide con lo reportado por (Ha et al.,

2012)., donde encontraron que la bromelina y la papaína por separado presentaron una amplia actividad sobre el tejido conectivo de la carne, para este estudio se encontró que en sinergia (M4) los extractos proteicos no presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a los extractos proteicos individuales (M2 y M3)

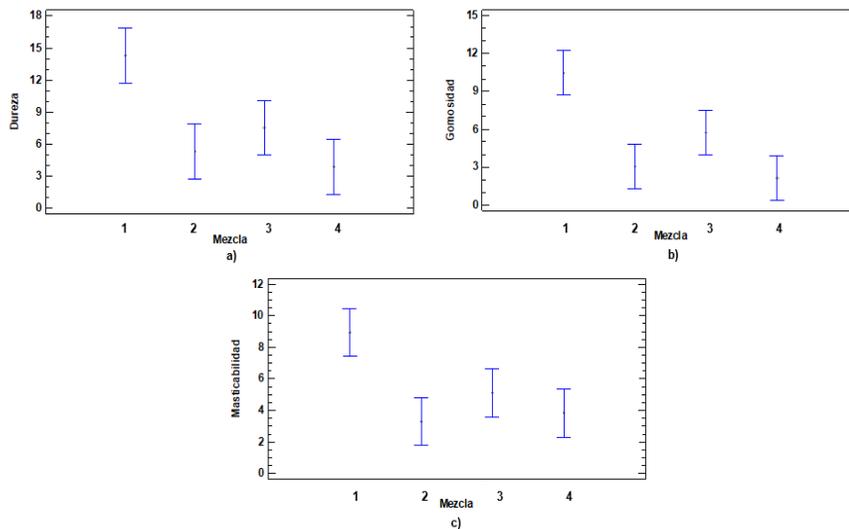
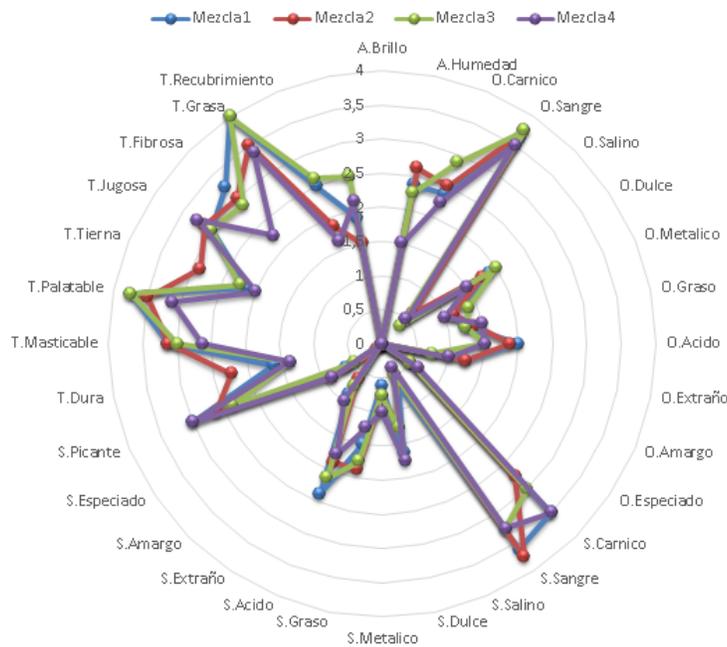


Figura 2. Gráficas de medias para propiedades mecánicas obtenidas en el TPA para parámetros de dureza (a), gomosidad (b), masticabilidad (c).

3.3. Perfil sensorial por aproximación multidimensional

En cuanto a las características sensoriales cuatro jueces entrenados evaluaron los cortes de carne con los extractos proteicos y bajo tratamiento térmico, identificando las características de sabor, textura, olor y apariencia. (Véase Figura 3), los datos indican que en los atributos para el olor, sabor y apariencia son muy semejantes, mientras que en la textura se evidencian diferencias estadísticamente significativas en algunos de los parámetros estudiados.



*A.: Aspecto, O.: Olor, S.: Sabor, T.: Textura.

Figura 3. Análisis sensorial por aproximación multidimensional.

Entre los atributos de sabor y olor no se observan diferencias significativas debido a que las muestras contenían el mismo porcentaje de especias por lo cual no se afectan estos parámetros sensoriales, pero sí se resaltan el olor y sabor a cárnico y a sangre que son característicos de la carne (Véase Figura 3). Sin embargo, en la textura para los atributos de palatabilidad y jugosidad presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las mezclas, esto se corrobora con la Tabla 3 donde se observan las razones F y los valores P.

Tabla 3. Resumen de ANOVA atributos de textura obtenidos en el análisis sensorial.

Atributo	Razón F	Valor P
----------	---------	---------

	Dura	1,72	0,21 59
ble	Mastica	2,48	0,11 09
e	Palatabl	6,44	0,00 76
	Tierna	0,28	0,83 74
	Jugosa	5,15	0,01 62
	Fibrosa	1,24	0,33 87
	Grasa	5,42	0,01 37
	Recubri	2,96	0,07 53
	miento		

En la Figura 4, se muestran las gráficas de medias para los atributos palatabilidad y jugosidad donde se observa que la M3 presentó una palatabilidad más alta y la M2 presentó una menor jugosidad.

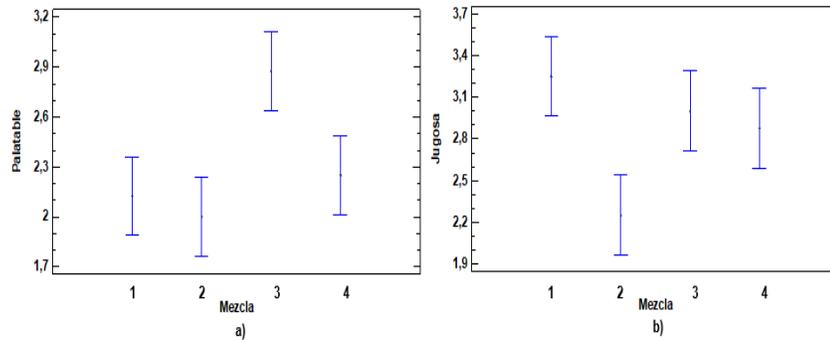


Figura 4. Gráficas de medias para atributos de textura Palatable (a) y Jugosa (b).

De acuerdo con lo anterior, el extracto proteico de látex de papaya mejora la palatabilidad es decir las características sensoriales haciendo el producto más agradable al consumidor, probablemente esto se debe a que las cisteínas proteasas y sus isoformas presentes en el látex tienen mayor actividad sobre el tejido muscular y conectivo del corte que las proteasas presentes en el extracto proteico de la piña (Thomás *et al.*, 2009). Por otro lado, el extracto proteico de piña disminuye la jugosidad del corte, debido posiblemente a que la bromelina que representa la fracción con mayor actividad proteolítica del fruto de la piña tiene mayor afinidad por el tejido conectivo (colágeno) y al ser este hidrolizado se gelatiniza obteniendo una carne con menor cantidad de agua retenida por el producto cárnico cocinado, por lo tanto una mezcla con 2% de extracto proteico de papáína daría una mayor aceptabilidad del corte para el consumidor desde el punto de vista sensorial, mientras que desde el punto de vista mecánico no existen diferencias entre las mezclas que contenían los extractos proteicos.

4. Conclusión

A partir de pulpa de piña y látex de papaya se obtuvieron extractos proteicos que presentaron actividad enzimática sobre azocaseína, evidenciándose la presencia de enzimas proteolíticas en los extractos, que al ser incorporados en un condimento mantuvieron su actividad dado que se presentó

disminución en la dureza, gomosidad y masticabilidad del corte de carne de tercera calidad.

5. Referencias

Andrade, R., Torres, R., Montes, E., Chávez, M., y Navarro, V. (2007). Elaboración de un sazón a base de harina de cabezas de camarón de cultivo (*Penaeus* sp). *Vitae*. 14(2), 109–113.

Ariza Traslaviña, A.M. (2015). Plan de negocios condimentos Natusazón. Universidad del Rosario.

Badui Dergal, S. (2006). Química de los alimentos. Ed. Pearson educación (Segunda). México.

Baeyens-Volant, D., Matagne, A., El Mahyaoui, R., Wattiez, R., y Azarkan, M. (2015). A novel form of ficin from *Ficus carica* latex: Purification and characterization. *Phytochemistry*. 117, 154–167. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.05.019>

Barekat, S., y Soltanizadeh, N. (2017). Improvement of meat tenderness by simultaneous application of high-intensity ultrasonic radiation and papain treatment. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 39, 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.12.009>

Chaurasiya, R. S., y Umesh, H. H. (2013). Extraction of bromelain from pineapple core and purification by RME and precipitation methods. *Separation and Purification Technology*. 111, 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.03.029>

Contexto ganadero. (2014). Conozca el precio que usted debería pagar por cada corte de carne. Disponible en:

<http://www.contextoganadero.com/ganaderia-sostenible/conozca-el-precio-que-usted-deberia-pagar-por-cada-corte-de-carne>

- Corzo, C. A., Waliszewski, K. N., & Welte-Chanes, J. (2012). Pineapple fruit bromelain affinity to different protein substrates. *Food Chemistry*. 133(3), 631–635. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.119>
- D'Alessandro, A., y Zolla, L. (2013). Foodomics to investigate meat tenderness. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 52, 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.05.017>
- El Tiempo. (2017, July). Colombianos, con poco gasto en el entretenimiento frente a la región.
- Ene-Obong, H., Onuoha, N. O., Aburime, L., y Mbah, O. (2018). Chemical composition and antioxidant activities of some indigenous spices consumed in Nigeria. *Food Chemistry*. 238, 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.072>
- FAO. (2015). Composición de la carne. Disponible en: [from http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr_composition.html](http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr_composition.html). Consultado el 21 de marzo de 2018
- Gómez, B. (2015). Maestros de la parrilla: Recetas, técnicas y secretos del asado. Bogotá: El Tiempo.
- Ha, M., Bekhit, A. E. D. A., Carne, A., y Hopkins, D. L. (2012). Characterisation of commercial papain, bromelain, actinidin and zingibain protease preparations and their activities toward meat proteins. *Food Chemistry*. 134(1), 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.071>
- Hernández, M., Carvajal, C., Márquez, M., Báez, R., Morris, H., Santos, R., y Chávez, M. A. (2005). Obtención de Preparados Enzimáticos a Partir de

Tallos de Piña (*Ananas comosus*) con Potencialidades de uso en la Biotecnología y la Medicina. *Revista CENIC Ciencias Biologicas*. 36, 1. Disponible en: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=fua&AN=27617342&lang=es&site=ehost-live>

Hleap, J. I., y Velasco, V. A. (2010). Análisis de las propiedades de textura durante el almacenamiento de salchichas elaboradas a partir de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. scieloco.

Homaei, A., y Samari, F. (2017). Investigation of activity and stability of papain by adsorption on multi-wall carbon nanotubes. *International Journal of Biological Macromolecules*. 105, 1630–1635. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.038>

ICONTEC. Análisis sensorial. Identificación y selección de descriptores para establecer un perfil sensorial por una aproximación multidimensional, Pub. L. No. 3932 (1996). Colombia: NTC.

ICONTEC. Análisis sensorial. Metodología. Guía general, Pub. L. No. 165 (2007). Colombia: GTC.

Ketnawa, S., Chaiwut, P., y Rawdkuen, S. (2012). Pineapple wastes: A potential source for bromelain extraction. *Food and Bioproducts Processing*. 90(3), 385–391. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2011.12.006>

Miranda, D., y Miranda, K. (2010). Estudio de factibilidad para la producción y comercialización de condimentos provenientes de vegetales. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Nitsawang, S., Hatti-Kaul, R., y Kanasawud, P. (2006). Purification of papain from Carica papaya latex: Aqueous two-phase extraction versus two-step salt

- precipitation. *Enzyme and Microbial Technology*. 39(5), 1103–1107. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.02.013>
- Pérez, A. (2004). La química en el arte de cocinar. Edición 1ª., Ed.Trillas, México.
- Quino, J., Bernal, N., y Yácono, J. C. (2008). Diseño de un proceso experimental para la producción de papaína liofilizada. Universidad de Lima, Ingeniería Industrial. 26, 201–229.
- Ramli, A. N. M., Aznan, T. N. T., y Illias, R. M. (2017). Bromelain: from production to commercialisation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 97(5), 1386–1395. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8122>
- Réhault, S. (2007). Proteases. In: R. Huopalahti, R. López-Fandiño, M. Anton, & R. Schade (Eds.), *Bioactive Egg Compounds*. 1a. ed., pp. 289–322. Berlin: Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-37885-3>
- Restrepo, C. C., E, S. S. A., y E, S. L. R. (2008). Evaluación de Textura a cinco cortes de carne assessing texture to five beef meat cuts preserved by sterilization, (43), 232–243.
- Romo, M., y Banchon, C. (2005). Inmovilización de papaína en soporte de quitosano. Universidad de guayaquil.
- Romo, M., y Banchon, C. (2005). Inmovilización de papaína en soporte de quitosano. Universidad de guayaquil.
- Rowan, A. D. (2013). Stem Bromelain. In: G. B. T.-H. of P. E. Salvesen (Ed.), *Handbook of Proteolytic Enzymes*, 3a. ed., pp. 1871–1873. Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382219-2.00423-3>
- Sanchez, F. (n.d.). Cortes carniceros. Buenos Aires: Universidad nacional del centro de provincia de Buenos Aires. Disponible en:

http://www.vet.unicen.edu.ar/ActividadesCurriculares/Zootecnia/images/cortes_carniceros_-_zootecnia.pdf

- Thomás, G. E., Rodolfo, H. G., Juan, M. D., Georgina, S. F., Luis, C. G., Ingrid, R. B., y Santiago, G. T. (2009). Proteolytic activity in enzymatic extracts from Carica papaya L. cv. Maradol harvest by-products. *Process Biochemistry*. 44(1), 77–82. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.09.013>
- Torres, A. (2017). Desarrollo de un condimento Gourmet elaborado en base de hierbas andinas aromáticas: *Aloysia* spp, *Salvia* spp, y *Piper* spp, procedentes del Cantón Quito. Universidad de la Amazonia.
- Vásquez, R. E., Ballesteros, H. H., y Muñoz, C. A. (2007). Factores asociados con la calidad de la carne. I parte: la terneza de la carne bovina en 40 empresas ganaderas de la región Caribe y el Magdalena Medio. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 8(2), 60–65.
- Wu, W. C., Ng, H. S., Sun, I. M., y Lan, J. C. W. (2017). Single step purification of bromelain from *Ananas comosus* pulp using a polymer/salt aqueous biphasic system. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 79, 158–162. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.04.001>

Sección 5. Nutrición, Alimentación y Salud

Efecto del deterioro de amaranto sobre sus ingredientes funcionales

Flores Pérez, I. V., Jiménez-Vera V. y Martínez-Manrique, E.*

Laboratorio de Bioquímica y Fisiología de Granos, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, FES-Cuautitlán, C-4, UNAM. Km 2.5 Carretera Cuautitlán-Teoloyucan 54700, Cuautitlán Izcalli, México. Teléfono 56231999 ext. 39428.

*e-mail: tallerdecereales.fesc@yahoo.com.mx.

Resumen

El cultivo de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.), es uno de los cultivos más antiguos de Mesoamérica, los aztecas y los mayas, lo consumían junto con el maíz y el frijol. El amaranto es un alimento con alto valor nutritivo, debido a su alto contenido proteico, que presenta un balance adecuado de aminoácidos esenciales, grasa con ácidos grasos esenciales, minerales y vitaminas, además de fibra y antioxidantes, estos dos últimos compuestos le dan un potencial como alimento funcional. Por otra parte, el almacenamiento inadecuado de semillas provoca reacciones de deterioro, las cuales están relacionadas con la pérdida de calidad sanitaria, sensorial o nutrimental, y también podría afectar sus componentes nutraceuticos provocando una disminución en su potencial como alimento funcional. En este estudio se evaluó el efecto del deterioro del amaranto provocado por un mal almacenamiento sobre sus ingredientes funcionales. Se deterioraron semillas de amaranto y se evaluó su germinación, conductividad, compuestos nutrimentales, fenoles y capacidad antioxidante. El deterioro no afectó la composición química del amaranto ni su digestibilidad, solo disminuyó el contenido de triptófano. El contenido de fenoles y su capacidad antioxidante sí fue afectada pues disminuyeron 20 y 30% respectivamente.

Palabras clave: Amaranto, capacidad antioxidante, fenoles, deterioro, alimento funcional

Abstract

The cultivation of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.), is one of the oldest cultures of Mesoamerica, the Aztecs and the Mayans, consumed along with corn and beans. Amaranth is a food with high nutritional value, due to its high protein content, which presents an adequate balance of essential amino acids, fat with essential fatty acids, minerals and vitamins, as well as fiber and antioxidants, these last two compounds give it a potential as a functional food. On the other hand, inadequate storage of seeds causes deterioration reactions, which are related to the loss of sanitary, sensory or nutritional quality, and could also affect their nutraceutical components causing a decrease in their potential as a functional food. In this study, the effect of amaranth deterioration caused by poor storage on its functional ingredients was evaluated. Amaranth seeds were deteriorated and their germination, conductivity, nutritional compounds, phenols and antioxidant capacity were evaluated. The deterioration did not affect the chemical composition of the amaranth nor its digestibility, only decreased the content of tryptophan. The content of phenols and their antioxidant capacity was affected, since they decreased 20 and 30% respectively.

Keywords: Amaranth, antioxidant activity, phenols, deterioration, functional foods

1. Introducción

El amaranto es una planta anual productora de pequeñas semillas perteneciente a la familia Amaranthaceae; muy adaptable a condiciones de crecimiento limitadas en agua, minerales y resistente al calor extremo (Mujica, 1997). Una de sus principales cualidades es su alto valor nutritivo; con 15 a 18% de proteína de alta calidad biológica, alto contenido de grasa, calcio, hierro, vitaminas A y C. Además de fibra, polifenoles y flavonoides con posibles beneficios nutraceuticos (Orsini, 2015).

El interés por el grano de amaranto se ha incrementado en los últimos años gracias a su gran potencial como alimento funcional. El concepto de alimento funcional está en estrecha relación con el paradigma de nutrición y salud. Entre las propiedades que le aportan características de “Alimento funcional”, está la actividad antioxidante, la actividad hipocolesterolémica y la actividad hipoglicemiante y la mejora del sistema digestivo. En el caso del amaranto, estas propiedades estarían asociadas a la fracción fenólica (ácido vanílico, el ácido 4-hidroxibenzoico y el ácido siríngico) y la fibra dietética, es decir, al contenido de ciertos fitoesteroles y polifenoles con alta capacidad antioxidantes y el contenido de fibra soluble e insoluble (Roa-Acosta *et al.*, 2017). Además, existe un marcado interés por la industria alimentaria y farmacéutica en la aplicación de tecnologías que mejoren las propiedades nutricionales y nutraceuticas de semillas como el amaranto. Por todo esto, al amaranto se le puede dar uso en la preparación de productos libres de gluten y alimentos funcionales lo que hacen que sea un grano de un alto interés para su uso en la industria alimentaria (Sánchez-Osuna *et al.*, 2018).

El amaranto contiene una serie de compuestos como: fibra dietética y polifenoles, que lo hacen ser un alimento rico en compuestos bioactivos por lo que puede ser considerado como un alimentos funcional (Comunidad orgánica, 2018).

Por otra parte, el amaranto, al igual que todos los granos, debe ser almacenado para usarse cuando sea necesario. Se ha comprobado que el almacenamiento deficiente de granos y semillas deriva en un deterioro paulatino y pérdida de la calidad sanitaria, alimentaria y agrícola (Gimeno, 2002; Munguía, 2010). Esto se debe a que los granos y semillas, absorben humedad, lo que provoca una activación de su metabolismo, dando como resultado cambios bioquímicos que provocan la disminución de su calidad agronómica por la pérdida de su capacidad germinativa, y alimentaria por la pérdida de su calidad nutrimental como sucede en el amaranto (Salazar-Pichardo *et al.*, 2013), pero en este grano no se ha reportado que sucede con sus componentes funcionales o nutraceuticos. Es por eso que en el presente trabajo, se estudió la relación entre el deterioro del amaranto por un almacenamiento inadecuado y la pérdida de su potencial como alimento funcional.

2. Materiales y Métodos

Se emplearon semillas de amaranto de la especie *Amaranthus hypochondriacus* L., obtenidas del pueblo de Tulyehualco, México cosecha 2016. Para observar el deterioro acelerado del amaranto, las semillas se colocaron en almacenamiento con una humedad de 75% en cajas cerradas herméticamente a una temperatura de 40 °C por diferentes periodos de tiempo: 9, 18, 27, 36, 45 y 56 días. Al concluir dicho almacenamiento las muestras fueron refrigeradas hasta su uso. A estas semillas se les realizaron las siguientes determinaciones: Germinación (Moreno, 1984), Conductividad (Stewart y Bewley, 1980), y un Análisis Químico Proximal (Humedad, extracto etéreo, proteína, cenizas, fibra cruda y carbohidratos, de acuerdo a los métodos propuestos por el A.O.A.C., 2002). Su calidad nutrimental realizando digestibilidad *in vitro*; la cual se llevó a cabo utilizando un sistema multienzimático compuesto por tripsina, quimotripsina y peptidasa (solución A) (Sigma), el cual es añadido a la muestra que debe tener un pH= 8.0, se dejó en agitación por 10 minutos a 37 °C, exactamente a los 10 minutos se adicionó proteasa (solución B) (Sigma) y al

mismo tiempo se transfiere el vial a un baño con agua a 55 °C. Exactamente a los 19 minutos después de añadida la solución A, se transfirió el vial a un baño a 37 °C. A los 20 minutos después de añadida la solución A medir el pH (Hsu *et al.*, 1977). También se cuantificó triptófano; en este caso se hizo una hidrólisis enzimática agregando pepsina (Sigma) a la muestra dejándola incubar a temperatura ambiente por tres h, después se adicionó pancreatina (Sigma) y se dejó incubar por 24 h a temperatura ambiente. Después del tiempo de incubación se filtró la muestra y se desarrolló color con p-dimetilamino benzaldehído (Sigma) dejándose incubar por 15 minutos en la oscuridad, y al final se adicionó nitrato de sodio y se realizó la lectura de la muestra en un espectrofotómetro a 590 nm (Rama *et al.*, 1974). Y finalmente se hizo una extracción para la determinación de: capacidad antioxidantes (Londoño, 2012); y la determinación de compuestos Fenólicos (García *et al.*, 2015). Para la Extracción se pesó 0.1 g de muestra, la cual, se diluye con 1 ml de metanol-HCl al 1%. Hervir 10 minutos a baño maría, y se dejó enfriar y se centrifugó, obteniendo un sobrenadante, el cual se colocó a 65 °C hasta su total evaporación. Una vez evaporados redisolver en 1 ml de agua desionizada y agitar. Centrifugar y obtener el extracto con el que se trabajará. Para la Capacidad Antioxidante por el método DPPH: del extracto obtenido tomar 500 µl, agregar 500 µl de solución de DPPH 120 µM, dejar reposar 30 minutos en oscuridad absoluta. Leer a 518 nm en espectrofotómetro. Para la Determinación de Compuestos Fenólicos: del extracto obtenido tomar 400 µl, agregar 3750 µl de agua destilada, agregar 250 µl de Folín, agitar y reposar por 5 minutos, agregar 500 µl de Na₂CO₃, agitar y reposar por 15 minutos. Leer absorbancia a 760 nm.

3. Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos de las pruebas de germinación (Tabla 1) muestran que ésta disminuyó conforme pasaba el tiempo de deterioro, llegando a perderse prácticamente a los 56 días. Por otra parte, los resultados de

conductividad en el agua de remojo de las semillas de amaranto muestran un aumento conforme pasa el tiempo de deterioro.

Estos resultados indican que el almacenamiento inadecuado está provocando daños en la semilla y uno de ellos podría ser la pérdida de la integridad de la membrana, ya que ésta controla el intercambio de solutos del interior de la célula con el medio externo (Pérez y Pita, 1999) y los resultados muestran que eso no está sucediendo, pues a mayor tiempo de deterioro mayor concentración de solutos en el agua de remojo de las semillas.

Por otra parte, es importante mencionar que las semillas contienen importantes cantidades de compuestos de reserva (proteínas, carbohidratos, lípidos y compuestos inorgánicos) los cuales pueden ser afectados durante el almacenamiento inadecuado de la semilla (Pérez y Pita, 1999).

Tabla 1. Datos de Germinación y Humedad en semillas de Amaranto con diferentes tiempos de deterioro.

Muestra	Germinación (%)	Conductividad (μsiems)
Control	100 ^{a*}	110.6 \pm 4.20 ^{a*}
9 días	93.06 \pm 1.66 ^b	188.6 \pm 8.08 ^b
18 días	81.98 \pm 0.68 ^c	200.6 \pm 10.06 ^b
27 días	65.32 \pm	231.3 \pm 9.45 ^c

días	3.51 ^d	
36	50.4 ± 1.7 ^e	255.3 ±16.0 ^c
días		
45	13.10 ±	329.3 ±14.7 ^d
días	2.14 ^f	
56	Cero ^g	452.0 ±11.3 ^d
días		

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

El análisis químico proximal de las semillas de amaranto con diferentes grados de deterioro (Tabla 2) indica que en general el deterioro tuvo un efecto mínimo en su composición química. Los resultados muestran un aumento en el porcentaje de grasa con respecto al amaranto control, los cuales fueron estadísticamente diferentes (P≤0.05). Mientras que en humedad, proteínas, carbohidratos y cenizas no hubo cambios significativos con respecto al amaranto control. Esto es importante sobre todo en la cantidad de proteínas ya que es sabido que el amaranto posee granos con un contenido importante de proteínas que se ha descrito como proteína de alta calidad, las cuales exhiben un balance muy equilibrado de aminoácidos esenciales. Este hecho convierte a las proteínas de amaranto en objetos muy atractivos desde el punto de vista nutricional y como una fuente potencial como alimento funcional (Avanza y Añón, 2016).

El ligero aumento de grasa del amaranto control con respecto a los 45 y 56 días de deterioro podría explicarse por una mayor facilidad para la extracción de los lípidos por el daño provocado en las membranas celulares por el deterioro, como se pudo ver con el aumento de la conductividad en granos deteriorados (Hernández *et al.*, 2009). En el contenido de fibra no hubo una disminución estadísticamente significativa con respecto al control (P≤0.05). Esto es benéfico

ya que este componente químico del amaranto le confiere propiedades de alimento funcional debido a que se le ha asociado con la regulación del colesterol y azúcar en sangre, y el que no se afecte durante el deterioro es muy positivo (Bressani, 2006).

Tabla 2. Resultados del Análisis Químico Proximal de semillas de Amaranto con diferentes tiempos de deterioro.

Muestra	Humedad	Proteína	Cenizas	Grasa	Fibra	Almidón
	%	%	%	%	%	%
C	10.9	13.8	2.5	6.3	6.6	
Control	4±0.24 ^a	4±0.09 ^a	8±0.07 ^a	1±0.06 ^a	±0.42 ^a	9.73 ^a
9	12.6	14.7	2.7	6.1	6.0	
	4±0.2 ^b	4±0.02 ^a	±0.06 ^a	5±0.04 ^a	5±0.21 ^a	7.87 ^a
1	12.7	14.4	2.6	5.9	5.8	
8	8±0.09 ^b	4±0.48 ^a	1±0.02 ^a	1±0.04 ^a	1±0.08 ^a	8.45 ^a
2	12.3	15.2	2.5	5.6	5.7	
7	8±0.76 ^b	8±0.49 ^a	4±0.08 ^a	3±0.04 ^a	3±0.07 ^a	8.44 ^a
3	12.2	14.9	2.7	5.5	5.8	
6	9±0.7 ^b	6±1.05 ^a	±0.03 ^a	6±0.09 ^a	8±0.09 ^a	8.61 ^a
4	12.5	15.0	2.8	5.4	5.9	
5	6±0.26 ^b	2±0.5 ^a	1±0.02 ^a	6±0.13 ^b	4±0.12 ^a	8.21 ^a
5	13.1	15.5	2.4	5.3	6.1	
6	8±0.32 ^a	6±0.01 ^a	8±0.07 ^a	8±0.11 ^b	±0.42 ^a	7.3 ^a

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

La digestibilidad in vitro (Tabla 3) de la semilla de amaranto, no se vio afectada. Considerando que la digestibilidad verdadera del amaranto tanto crudo como reventado o tostado reportada alcanza valores entre 79.2 y 88.5% (Salazar-Pichardo *et al.*, 2014; Betschard *et al.*, 1979) se puede decir que no se vio afectada la digestibilidad de la semilla de amaranto además si se le compara con otros cereales como el trigo (55%), el maíz (61%) y la avena (77%) (Gil-Hernández, 2010), el amaranto deteriorado sigue teniendo buena digestibilidad.

Tabla 3. Resultados de Digestibilidad y Triptófano de semillas de Amaranto Deteriorado.

Muestra	Mu	Digestibilidad (%)	Triptófano (g de Trp/100g de proteína)
Control	Con	81.3±0.14 ^a	1.62±0.042 ^a
días	9	82.78±0.7 ^{9a}	1.51±0.007 ^a
días	18	83.07±0.5 ^{7a}	1.27±0.035 ^b
días	27	84.8±0.31 ^a	1.01±0.035 ^c
días	36	82.95±0.0 ^{8a}	1.04±0.035 ^c
días	45	81.14±0.0 ^{7a}	1.05±0.042 ^c
días	56	80.63±0.0 ^{07a}	0.96±0.028 ^c

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

Los resultados del contenido de triptófano (Tabla 3) mostraron una disminución a partir de los 18 días manteniéndose casi constante, pero la pérdida observada fue de 59% a los 56 días de deterioro con respecto al control. La pérdida gradual de triptófano conforme pasa el tiempo de deterioro de la semilla de amaranto, muestra que sí se vió afectado por el mal almacenamiento.

La capacidad antioxidante del amaranto deteriorado (Tabla 4) sí fue afectada ya que disminuyó un 30% a los 56 días de deterioro comparados con el control, mientras que el contenido de compuestos fenólicos disminuyó un 20% comparado con el control. Estos resultados son relevantes porque están indicando una pérdida en su potencial como alimento funcional del amaranto, cuando el grano no se almacena adecuadamente hasta su consumo. Pues existe una relación directa entre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del amaranto (Repo y Encina, 2008), y esto es importante porque se sabe que pueden disminuir la actividad anticancerígena e hipocolesterolémica y el riesgo de contraer enfermedades del corazón, todo esto ha hecho que el amaranto sea considerado un alimento funcional ya sea para consumirse de forma directa o como ingrediente funcional en la preparación de alimentos funcionales (González, 2012).

Tabla 4. Resultados de Capacidad Antioxidante y contenido de Fenoles de Amaranto con diferentes tiempos de deterioro.

Muestra	Capacidad Antioxidante (%)	Fenoles (mg EAG/g mta.)
C control	62.94±0.98 ^a	1.46±0.03 ^a

9	49.31±1	0.97±0.03 ^b
días	.55 ^b	
1	50.62±2	1.22±0.05 ^c
8 días	.96 ^{bc}	
2	56.21±0	1.21±0.03 ^c
7 días	.53 ^{ac}	
3	50.28±1	1.28±0.02 ^c
6 días	.10 ^{bc}	
4	45.75±3	1.21±0.01 ^c
5 días	.06 ^b	
5	44.52±1	
6 días	.22 ^b	1.49±0.08 ^a

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

4. Conclusiones

El almacenamiento inadecuado, al cual fueron sometidas las semillas de amaranto, no afectó su composición química, solo ligeramente la grasa. Tampoco afectó de manera significativa la digestibilidad, pero sí disminuyó el contenido de triptófano. En cuanto a la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles sí fueron afectados por el deterioro. Por lo tanto, se puede concluir que el deterioro del amaranto provocado por un mal almacenamiento sí afectó su potencial como alimento funcional.

Agradecimientos

Trabajo realizado con el apoyo del programa PAPIME-200217 de la DGPA y PI-API-1841 de la FES-CUAUTITLÁN, UNAM

5. Referencias

- Avanza, M. y Añón, M. (2016). Propiedades funcionales de proteínas de amaranto. Capacidad de gelificación. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA)-UNLP-CONICET. La Plata - Buenos Aires - Argentina.
- AOAC. (2002). Official Methods of Analysis. 16^a edition. Ed. Association of Official Analytical Chemists, International Gaithersburg, E.U.A.
- Bressani, R. Estudios sobre la industrialización del grano de amaranto, caracterización química y nutricional de productos intermedios y finales del procesamiento. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Universidad del Valle de Guatemala. Guatemala.
- Bretschard, A. A., Irving, D. W., Sheperd, A. D., Wheeler, E. L., Becher, R., Lorenz, K., Hanamoto, M. M., y Saunders, R. M. (1979). Amaranthus: Morphology, nutritional value and food potential. *Cereal Foods World*. 24:457-460.
- Burkitt, D. P., Walker, A. R. P. y Painter, J. N. S. (1974). Dietary fiber and disease. *Journal of the American Medical Association*, 229: 1068-1074.
- Comunidad Orgánica (2018). El amaranto tiene características de alimento funcional. Consultado en Abril, 2018. Disponible en: <http://www.comunidadorganica.com/el-amaranto-tiene-caracteristicas-de-alimento-funcional/>.
- García M. E., Fernández S. I. y Fuentes L. A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de FolinCiocalteu. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia, España.

- Gil-Hernández, Á. (2010). Tratado de Nutrición. Tomo II. Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos. Editorial Panamericana. 2a. Ed. México. Pág. 26.
- Gimeno, A. (2002). Principales factores condicionantes para el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas. Lisboa, Portugal. (2-5).
- González, M. C. (2012). Evaluación fisicoquímica y capacidad antioxidante del aceite de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) y estabilidad oxidativa de diferentes sistemas de encapsulación. Tesis de maestría en ciencia y tecnología de alimentos. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro. México.
- Hernández, C., Rodríguez, Y., Niño, Z., y Pérez, S. (2009). Efecto del Almacenamiento de Granos de Maíz (*Zea mays*) sobre la Calidad del Aceite Extruido. *Información Tecnológica*. 20(4), 21-30.
- Hsu, H. W., Vavak, D. L., Satterlee, I. D., y G. A. Miller. (1977). A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *Journal Food Science*. 42(5), 1269-1273.
- Kritchevsky, D. (1988). Dietary Fiber. *Annual Review of Nutrition*, 8, 30-328.
- Londoño, L. J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Corporación Universitaria Lasallista. Cap. 9. Parte III. Antioquia – Colombia.
- Montero-Quintero, K. C., Moreno-Rojas, R., Alí, M. E, Colina-Barriga M. S. y Sánchez-Urdaneta A. B. (2015). Efecto del consumo de panes integrales con amaranto (*Amaranthus dubius* Mart; ex Thell;) sobre la respuesta glicémica y parámetros bioquímicos en ratas *Sprague dawley*. *Nutrición Hospitalaria*. 31(1), 313-320.

- Moreno, M. E. (1984). Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Mujica, A. (1997). Cultivo de Quinoa. INIA. Serie Manual RI, No. 1-97. Instituto Nacional de Investigación Agraria, Dirección General de Investigación Agraria. Lima, Perú. 130 p.
- Munguía, P. M. (2010). Influencia del deterioro del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) provocado por un mal almacenamiento sobre su calidad nutrimental. Tesis de Ingeniería en Alimentos. FES Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Orsini, D. M. C. (2015). Amaranto como ingrediente funcional: propiedades antioxidantes de proteínas y péptidos. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Exactas. Departamento de Ciencias Biológicas.
- Pérez, G. F. y Pita V. J. M. (1999). Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de semillas. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Secretaría General Técnica. Núm. 2112 HD. Madrid.
- Rama, R.M.V, Tara, M. R., y Krishnan, C. K. (1974). Colorimetric estimation of tryptophan content of pulses. *Journal Food Science and Technology*. 11, 213-216
- Repo, C. R., y Encina, Z. C. R. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: quinua (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) y kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 74(2).
- Roa-Acosta D.; González-Callejas C. y Calderón-Yonda Y. (2017). Seguimiento de la molienda abrasiva del grano de amaranto para la obtención de dos fracciones con potencial industrial. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. Edición Especial*. 1, 59-66.

Salazar-Pichardo, J. Ch., Jiménez-Vera, V., Martínez-Manrique, E. (2013). Influencia del deterioro de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) provocado por un almacenamiento inadecuado. Publicación del trabajo *in extenso* en las Memorias del Congreso. XV Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 23 y 24 de mayo de 2013, Colima, Colima, México.

Sánchez-Osuna, M. F., Gutiérrez-Dorado, R., Cuevas-Rodríguez, E. O., Milán-Carrillo, J., Perales, S. J. (2018). Propiedades Fisicoquímicas y Nutraceuticas de Granos Integrales (Amaranto/Chía) Procesados en Condiciones Óptimas de Germinación C. Reyes-Moreno. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 3, 639-644.

Stewart, R. R. C. y Bewley, J. D. (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant physiology*. 65, 245-249.

Efecto anticancerígeno celular por ingesta de almidón modificado de banano (*Musa cavendish* AAA) en ratas tratadas con 1-2 dimetilhidrazina

V. Olvera-Hernández^{1*}, A.F. Castellanos-Ruelas², D.A. Betancur-Ancona², J.L. Ble-Castillo¹, L.A. Chel-Guerrero²

¹División Académica de Ciencias de la Salud, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Av. Gregorio Méndez 2838-A Col. Tamulté. CP. 86100. Villahermosa, Tabasco, México. ²Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán. Periférico Norte Kilómetro 33.5 Tablaje Catastral 13615 Chuburná de Hidalgo Inn C.P. 97203, Mérida, Yucatán, México.

*e-mail: viryolvera11@gmail.com

Resumen

El almidón resistente (AR), no se digiere completamente en el intestino humano, se fermenta en el colon, disminuye el pH intestinal, y se producen ácidos grasos de cadena corta, siendo esto benéfico para la salud, previniendo y tratando el cáncer de colon rectal. La pirodextrinización y la hidrólisis enzimática, son modificaciones al almidón nativo (AN) y pueden incrementar la cantidad de AR. El objetivo de este proyecto, fue evaluar los efectos del almidón modificado de *M. cavendish* sobre marcadores tumorales en ratas con cáncer de colon inducido con 1-2 dimetilhidrazina (1-2 DMH). Se realizaron modificaciones (química y enzimática) al AN de banano *M. cavendish*, y se evaluaron en ratas con cáncer de colon inducido con 1-2 DMH. Se utilizaron 25 ratas Wistar machos, divididas en cinco grupos experimentales: CP, CN, AN, PI, y MER. Durante 4 semanas, recibieron dieta experimental asignada a cada grupo. Los grupos CP, AN, PI y MER, recibieron 2 inyecciones s. c. semanales de 1,2-DMH (40 mg kg⁻¹) (semanas 3 y 4). En heces se evaluó: pH, enzima β -glucoronidasa, ácidos grasos de cadena corta y se realizó estudio histopatológico en intestino para detectar lesiones microscópicas. Dentro de los resultados se encontró que la actividad de β -glucoronidasa disminuyó ($p < 0.05$) para AN, PI y MER vs CP. La mayor proporción

de ácido butírico se observó en AN ($p < 0.05$) vs CN. El 60% de enteritis fue grado severo en CP, y 40% en los grupos experimentales. Se concluye en el presente estudio que conforme mayor es la cantidad de AR presente en la dieta las células neoplásicas no avanzan más allá de la membrana basal, sugiriendo un posible efecto protector o anticancerígeno celular.

Palabras clave: almidón resistente, butirato, maltodextrina enzimáticamente resistente, pirodextrinización.

Abstract

Resistant starch (RS) is not completely digested in the human intestine and it's fermented in the colon, intestinal pH decreases, and short-chain fatty acids are produced. This being beneficial for health, preventing and treating rectal colon cancer. Pyrodextrinization and enzymatic hydrolysis are modifications to native starch (NS) and can increase the amount of RS. The objective of this project was to evaluate the effects of modified *M. cavendish* starch on tumor markers in rats with colon cancer induced with 1-2 dimethylhydrazine (1-2 DMH). Modifications (chemical and enzymatic) were made to *M. cavendish* NS, and were evaluated in rats with colon cancer induced with 1-2 DMH. Male Wistar rats (25 rats) were used, divided in five experimental groups: PC, NC, NS, PI, and ERM. During 4 weeks they received an experimental diet assigned to each group. The PC, NS, PI and ERM groups received 2 weekly s.c. injections of 1,2-DMH (40 mg kg⁻¹) (third and fourth week). In feces, pH, β -glucuronidase enzyme, and short-chain fatty acids were evaluated and histopathological study was performed in the intestine to detect microscopic lesions. The results indicated that the activity of β -glucuronidase decreased ($p < 0.05$) for NS, PI and ERM vs PC. The highest proportion of butyric acid was observed in NS ($p < 0.05$) vs NC. The 60% of enteritis was severe grade in PC, and 40% in experimental groups. It is concluded in the present study that the greater the amount of RS present in the diet, the neoplastic cells do not advance beyond the basement membrane, suggesting a possible protective effect or cellular anticancer.

Keywords: resistant starch, butyrate, enzymatic resistant maltodextrin, pyrodextrinization.

1. Introducción

El almidón es considerado uno de los polímeros naturales más importantes y la principal fuente de energía para los seres humanos. En la naturaleza se encuentra en diversas fuentes como cereales, frutos, tubérculos, raíces y se encuentran en forma de gránulos. En forma nativa posee propiedades funcionales importantes para la industria alimentaria, sin embargo, también presenta ciertas limitaciones al ser sometidos a las diferentes condiciones de procesamiento. Por lo anterior, los almidones se modifican (métodos físicos, químicos y enzimáticos) para provocar cambios estructurales, así como en sus propiedades fisicoquímicas y funcionales.

La pirodextrinización es una modificación química al almidón nativo, que incluye la depolimerización parcial del almidón seco, utilizando calor, con o sin adición de ácido, seguida de una repolimerización. Una modificación complementaria es la hidrólisis enzimática, la cual incluye un ataque rápido al almidón utilizando la enzima α -amilasa bajo condiciones específicas. Aplicar secuencialmente los procesos de pirodextrinización y de hidrólisis enzimática a almidones nativos, produce maltodextrinas enzimáticamente resistentes debido a que contienen enlaces atípicos α (1,4), α (1,6) y uniones atípicas β (1,2), β (1,3) y levoglucosanas, los cuales son generados durante la pirodextrinización. Estos productos presentan baja viscosidad y alta solubilidad. Se utilizan en la preparación de jugos, leches, sopas, fórmulas enterales y bebidas carbonatadas.

Los enlaces atípicos dan como resultado un almidón resistente (AR), el cual no es completamente digerido en el intestino humano, actúa como fibra soluble, por lo que su consumo se asocia a generar niveles bajos de glucosa, colesterol y triglicéridos en sangre, influyendo de manera benéfica en el tratamiento de padecimientos como obesidad, enfermedades cardiovasculares y/o diabetes. Además, al ser parcialmente digerido, es fermentado en el colon, por lo que disminuye el pH intestinal, y se producen ácidos grasos de cadena

corta (AGCC), lo cual es benéfico para la salud del colon, en la prevención y tratamiento del cáncer de colon rectal.

Debido a los beneficios encontrados al modificar almidones nativos, la industria alimentaria se ha dado a la tarea de proponer otras fuentes vegetales no convencionales para la extracción de almidón, y así ser incluidos en la preparación de diversos alimentos. Tal es el caso del banano, el cual contiene una proporción de almidón que va del 74% al 80% de su peso seco. Debido a sus propiedades funcionales, de digestión y obtención a bajo costo, lo colocan con un alto potencial de aplicación.

Tomando en cuenta los estudios previos sobre los efectos benéficos por la ingesta de AR y las ventajas potenciales que ofrecen aplicar de manera secuencial los procesos de pirodextrinización e hidrólisis enzimática, en el presente trabajo se evaluaron en ratas tratadas con 1-2 dimetilhidrazina, los efectos fisiológicos ocasionados por el consumo de almidón nativo de banano *Musa cavendish* AAA, así como por sus modificaciones.

2. Materiales y Métodos

2.1 Compuestos químicos

Los productos químicos que se utilizaron para llevar cabo la cuantificación de AR fueron grado reactivo de la marca J. T. Baker (Phillipsburg, NJ), y de Megazyme se utilizó el K-RSTAR 05/2008 (Megazyme® International Ireland Limited 2008) para la cuantificación de AR.

Para llevar a cabo la inducción de cáncer en colon se utilizó la 1,2-DMH fue de Sigma-Aldrich (Sigma Co., St. Louis, MO. U.S.A.). Para la evaluación de los AGCC, se utilizaron los estándares de ácidos grado cromatográfico de la marca Sigma-Aldrich (Sigma Co., St. Louis, MO. U.S.A.) y los gases fueron provistos por Grupo Infra®. Para la evaluación de pH en heces fecales se utilizó un potenciómetro (Hanna® Instruments, modelo HI222102, U.S.A.).

2.2 Material biológico

El manejo de las ratas que se emplearon fue conducido bajo normas de SAGARPA 2005, acorde a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y la Guía Internacional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio NRC 2002. Aprobados por la Comisión para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CCUAL), de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

La producción, manejo y cuidado de las ratas se realizó en la Unidad de Producción, Cuidado y Experimentación Animal (UPCEA), ubicada en la División Académica de Ciencias de la Salud (DACs) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), bajo condiciones medio-ambientales controladas de temperatura (21 ± 1 °C), humedad relativa (55%) y 12 h de luz/oscuridad, con acceso a agua purificada (AP) y alimento a libre demanda (dieta convencional proporcionada por Harlan Teklad para roedores con 18% de proteína) durante la fase experimental. Para inducir el cáncer de colon se utilizaron 25 ratas macho destetadas, variedad Sprague Dawley, con peso de 80 a 90 g y cuatro semanas de edad (Prado-Silva *et al.*, 2014).

2.3 Dietas experimentales

La extracción de almidón nativo (AN) de banano (*M. cavendish* AAA), así como las modificaciones de pirodextrinización e hidrólisis enzimática se realizaron bajo las condiciones previamente reportadas por Olvera *et al.* (2017).

2.4 Determinación de almidón resistente

Tanto el AN como la pirodextrina y maltodextrina utilizadas, fueron evaluados de acuerdo a la técnica descrita en el kit para análisis de almidón resistente que provee Megazyme (K-RSTAR 05/2008 de Megazyme® International Ireland Limited 2008), el cual ha sido aceptado y avalado por los métodos oficiales de la AOAC International (2002.02) y la AACC International (32-40.01).

Las muestras fueron introducidas en una incubadora con agitación (Ovan, OL30-ME, España) y sometidas a incubación con α -amilasa pancreática y amiloglucosidasa por 16 h a 37 °C. El AR se recuperó tras centrifugar la muestra a 1500 x g en una centrífuga (Science Med, DM0412, Finlandia) y fue disuelto en KOH 2 M en un baño con agitación (Ovan, OL30-ME, España). Esta solución se neutralizó con buffer de acetato y el almidón fue cuantitativamente hidrolizado a glucosa por acción enzimática de la amiloglucosidasa. La D-glucosa se cuantificó con reactivo de glucosa oxidasa/peroxidasa (Spinreact, España), lo cual representó la cantidad de AR presente en la muestra. El cálculo del almidón resistente se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ AR} = (\text{absorbancia de la muestra}) \left(\frac{F}{W} \right) (90)$$

Donde:

F (factor) = Concentración del estándar/absorbancia del estándar = 100/absorbancia del estándar (correspondiente a 100 μg de D-glucosa).

W = Peso seco de la muestra analizada = (100-humedad)/100 (100 es el factor para representar el contenido de AR como un porcentaje del peso de la muestra).

90 = Factor a convertir de D-glucosa libre (según lo determinado) a anhidro-D-glucosa como ocurre en el almidón.

2.5 Microscopía electrónica de barrido

El análisis morfológico se realizó en un microscópico electrónico (JEOL, JSM-7610F FESEM, U.S.A.), con resolución de 1 nm, ampliación 500 X con micrografía de 10.3 mm, acelerador de voltaje 5 kV, corriente de sonda de hasta 200 nA. Las muestras se colocaron sobre papel conductor de carbono y se metalizaron con una aleación oro-platino durante 1 min con la ayuda de un

revestidor giratorio (Quorum, Q150R ES, United Kingdom) y posteriormente se analizaron en el microscopio electrónico para determinar los cambios en tamaño, forma y estructura granular por efecto de los tratamientos (Ottenhof y Farhat, 2004).

2.6 Difracción de rayos X

Los patrones de difracción de rayos X (DRX) de las muestras fueron obtenidos mediante un difractómetro de rayos X de ángulo ancho (Bruker, D8-Advance, U.S.A.), equipado con fuente de cobre y operado a 40 kV y 30 mA en un rango angular 2 theta entre 3 y 60° con radiación $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1.5418 \text{ \AA}$). La medición se llevó a cabo cada 0.02 °/s, y los datos se recolectaron en un intervalo de 4 a 38° cada 0.1°, con velocidad de barrido de 60 °/s. La línea base del difractograma se corrigió en el intervalo de barrido y el vector se normalizó con el programa OPUS 3.0 (Bruker, UK) (Ottenhof y Farhat, 2004). Se determinó el grado de cristalinidad de las muestras de acuerdo a Nara y Komiya (1983), midiendo directamente al trazar en los difractogramas una curva que conecta las líneas de base a pico. El área por encima de la curva fue tomada como la porción cristalina, y el área más baja entre la curva y una línea base que conecta los puntos de intensidad en las muestras, se tomó como parte amorfa. El área del pico de difracción superior y el área de difracción total sobre el ángulo de difracción, fueron integradas en el programa EVA versión 4.1.1. (2015). La relación del área superior al área total de difracción se tomó como el grado de cristalinidad.

2.7 Evaluación del efecto fisiológico del almidón de banano *M. cavendish* AAA pirodextrinizado e hidrolizado enzimáticamente en un modelo experimental de rata con cáncer de colon

Durante la primera semana del estudio, los animales fueron puestos a proceso de adaptación. Posteriormente, se dividieron en cinco grupos de cinco animales cada uno, y fueron seleccionados de manera aleatoria a uno de los siguientes grupos experimentales: CP (control positivo), CN (control negativo), AN

(almidón nativo), PI (pirodextrina) y MER (maltodextrina enzimáticamente resistente).

Durante 4 semanas, los animales recibieron AP y dieta convencional para roedores con 18% de proteína, ambos a libre demanda. Las ratas de los grupos AN, PI y MER, fueron administradas mediante una sonda gástrica con sus correspondientes dietas, a una dosis de 2 g kg⁻¹ de peso corporal (Ying *et al.*, 2014). Ambos controles (CN y CP), recibieron solamente AP mediante la misma vía de administración y durante el mismo período (cuatro semanas).

Se empleó el modelo descrito por Prado-Silva *et al.* (2014) en ratas Sprague Dawley, utilizando el carcinógeno 1,2- Dimetilhidrazina, el cual es efectivo y selectivo en colon vía s.c. en la rata, que ocasiona tumores colorrectales de origen epitelial con similar histología, morfología y anatomía que los tumores colorrectales de pacientes con cáncer de colon (Piñol, 2001). Los grupos CP, AN, PI y MER, recibieron 4 inyecciones s.c. de 1,2-DMH (40 mg kg⁻¹) dos veces a la semana durante las semanas experimentales 3 y 4. El grupo CN recibió por la misma vía, una inyección con EDTA pH 6.

La ganancia de peso corporal fue monitoreada de manera semanal en una balanza (Ohaus Defender®, Triple Beam, U.S.A.) y el consumo de agua y alimento se registró diariamente.

2.8 Pruebas fisiológicas y sacrificio

Al término de las 4 semanas, los animales fueron sometidos a un ayuno de 12 h para ser sacrificados en una cámara de CO₂ para extraer el intestino grueso, en dos porciones (ciego y colon). Se recolectó su contenido fecal en crio viales con tapa de rosca de 2 ml, para ser almacenado en un congelador (Torrey, CHC-80C, México) a -70 °C para su posterior análisis. Las porciones del colon fueron lavadas con solución fisiológica y fijadas en formol al 10% para su estudio histopatológico. Para esto se ataron con un hilo a cada extremo y se inyectaron

con formol. En las heces se llevaron a cabo las siguientes determinaciones: pH, actividad enzimática de β -glucoronidasa, y cuantificación de ácidos grasos de cadena corta por cromatografía de gases (CG).

pH cecal y colonico

Inmediato a la recolección, se colocó una pequeña porción de muestra, en la punta de una micro espátula para disolverla en 5 ml de agua destilada, y se midió el pH de las muestras, con un potenciómetro (Hanna® Instruments, HI222102, U.S.A.).

Actividad enzimática de β -glucoronidasa

La actividad enzimática de la β -glucoronidasa se determinó empleando el método de Jenab y Thompson (1996), con el uso del conjugado β -D-glucorónido de fenolftaleína como sustrato. La enzima presente en la muestra, hidrolizó el conjugado y la fenolftaleína liberada se monitoreó por el cambio de color. El extracto fecal se obtuvo utilizando 0.5 g de muestra (contenido de ciego y de colon por separado) a la cual se le adicionó 10 ml de solución amortiguadora de fosfatos 0.2 M a pH 7, posteriormente se homogenizó en un vortex (Ohaus Defender®, VXMNFS, U.S.A.) y centrifugó en un equipo (Science Med, DM0412, Finlandia) a 25 000 x g por 20 min a 4 °C, finalmente el sobrenadante obtenido fue recolectado. Para la mezcla de la reacción se tomaron 0.8 ml de solución amortiguadora de fosfatos 0.02 M, 0.1 ml de β -D-glucorónido de fenolftaleína 1 mM, 0.1 ml del extracto fecal y colocó en una incubadora (Ovan, OL30-ME, España) durante 1 h a 37 °C. La reacción de la enzima se detuvo con la adición de 2.5 ml de glicina alcalina, 1 ml de ácido tricloroacético al 5% y 1.5 ml de agua. Se mezcló y dejó reposar por 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se leyó a 540 nm en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific™, Genesys 10, U.S.A.). La relación de fenolftaleína liberada se determinó con base a una curva estándar de fenolftaleína (0 a 40 μ g). La actividad enzimática total de la β -

glucoronidasa se expresó en $\text{nmol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ de contenido fecal empleando la siguiente ecuación:

$$\text{nmol/ min g de contenido} = \frac{\mu\text{g fenolftaleína} * 100}{(\text{PM})(\text{g de muestra})}$$

Donde:

$\mu\text{g fenolftaleína}$ = μg de fenolftaleína liberada.

100 = factor de dilución.

PM = peso molecular de la fenolftaleína.

Cuantificación de ácidos grasos de cadena corta por cromatografía de gases

De la marca Sigma-Aldrich (Sigma Co., St. Louis, MO. U.S.A.) se utilizaron como estándar los ácidos acético glacial 99.8%, ácido propiónico 99.8%, ácido butírico 99.5 % y ácido 2-etilbutírico 99%. Los gases utilizados fueron helio, hidrógeno y nitrógeno con purezas de 99.998%, 99.999% y 99.998%, para CG y además de aire grado cero (Grupo Infra®). El análisis cromatográfico se llevó a cabo usando un cromatógrafo (Agilent®, 7890A GC, U.S.A.), equipado con un detector de ionización de flama (FID), y con una columna capilar (Nukol™, DB-WAX, U.S.A.) de 15 m x 0.53 mm.

La extracción se llevó a cabo de acuerdo a Tochio *et al.* (2016), se suspendió 1 g de heces en 5 ml de agua y se homogenizó por 3 min en un vortex (Ohaus Defender® VXMNFS, U.S.A.). Se ajustó el pH entre 2 y 3 con ácido clorhídrico 5 M y se mantuvo a temperatura ambiente por 10 min con agitación ocasional. La suspensión fue colocada en una centrifuga (Science Med, DM0412, Finlandia) a 4 °C durante 20 min y a 26 000 x g. El sobrenadante fue separado y filtrado con

membranas de 0.45 μm . El ácido 2-etilbutírico se adicionó como estándar interno al sobrenadante filtrado en una concentración final de 2 mM, posteriormente, fue inyectado al CG para su análisis. Los AGCC se identificaron en los cromatogramas por sus tiempos de retención.

La concentración de cada ácido se obtuvo mediante una curva de calibración por cada ácido, utilizando como señal analítica el área del pico cromatográfico y fue expresada en $\mu\text{moles g}^{-1}$ de contenido de ciego y de colon. Los puntos para realizar la curva de calibración para cada ácido utilizado, fueron los siguientes: ácido acético (0 a 100 mM), ácido propiónico (0 a 200 mM) y ácido butírico (0 a 150 mM).

El análisis de la muestra se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Yuan *et al.* (2006), con ciertas modificaciones, se utilizaron las siguientes condiciones instrumentales: helio como gas acarreador a un flujo de 1 ml/min, hidrógeno, nitrógeno y aire (40 ml min⁻¹, 30 ml min⁻¹ y 450 ml min⁻¹, respectivamente). La mezcla hidrógeno/aire se utilizó para la flama, y el nitrógeno se utilizó como gas auxiliar. La temperatura inicial del horno fue de 60 °C, incrementando 20 °C/min, hasta llegar a 180 °C, manteniendo 1 min a esa temperatura. La temperatura del detector y del inyector fue de 210 °C. El volumen de inyección fue de 0.2 μL .

2.9 Estudio histopatológico

Las muestras fueron procesadas en el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria Zootecnista (FMVZ), de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY). Las secciones de tejido fueron fijadas durante 24 h en formalina al 10% con pH 7.4 en una porción de una parte de tejido por 10 de fijador. Una vez realizados los cortes primarios, se procedió de acuerdo al método habitual de inclusión en parafina, posteriormente se realizaron cortes de 5 μm de grosor, desparafinados y teñidos con la tinción de rutina hematoxilina-eosina (HIE) (Shwter *et al.*, 2014), para su posterior observación microscópica, la

cual se llevó a cabo en un microscopio (Motic plan acromatic, BA-200, U.S.A.), con aumentos de 400 y 1000X.

Registros y morfología de las lesiones microscópicas

Para registrar las lesiones microscópicas en los tejidos, se observaron diez campos al azar, en un campo de 40X. Se tomaron en cuenta los siguientes criterios: tipo de lesión y el componente celular predominante; así como el grado de la lesión, el cual se clasificó en tres categorías: ligero (lesión que abarca un tercio de tejido), moderado (lesión que incluye dos tercios de tejido) y severo (lesión que compromete la totalidad del tejido) (Olvi *et al.*, 2011). Las fotomicrografías fueron tomadas con un microscopio (Motic plan acromatic, BA-200, U.S.A.), con aumentos de 400 y 1000X.

2.10 Análisis de los resultados

Las variables de respuesta utilizadas para evaluar el efecto en el modelo de cáncer de colon en rata fueron las siguientes: pH intestinal, actividad enzimática de β -glucuronidasa, concentración de ácidos grasos de cadena corta y la presencia de displasia. Los resultados se expresaron como la media aritmética \pm error estándar de la media. Se realizó un análisis de varianza de una vía para cada uno de los modelos con un nivel significancia de $p < 0.05$. Para determinar las diferencias entre las medias de los tratamientos, se aplicó la prueba de Duncan. Para identificar las lesiones y los tumores en el colon de las ratas, así como el grado de inflamación, se utilizó estadística descriptiva. Para el análisis del tipo de enteritis y la presencia de displasia, se llevó a cabo una prueba de Kruskal–Wallis a un nivel de significancia de $p < 0.05$.

3. Resultados y Discusión

3.1 Determinación de almidón resistente en las dietas

El contenido de AR presente en el AN de *M. cavendish* AAA fue de 70.51% y en sus tratamientos de pirodextrinización e hidrólisis enzimática fue de 63.84% y 11.04%, respectivamente. De acuerdo a lo reportado por Olvera *et al.* (2017), estos tratamientos fueron seleccionados por haber obtenido el mayor contenido de AR y la menor diferencia de color respecto al AN, debido a que de acuerdo a Germain (2012) para las dextrinas y maltodextrinas, la calidad y elección dependen de su luminosidad y su blancura, y la industria alimentaria prefiere que estas sean casi incoloro en solución, ya que un producto con mayor diferencia de color respecto al estándar utilizado puede no ser deseable.

Aparentemente, el proceso de pirodextrinización no provocó un efecto considerable en el AN de *M. cavendish*, al no haber aumento en el contenido de AR. Sin embargo, los resultados de los cambios a nivel molecular son explicados más adelante en los reportes de MEB, donde se puede observar que el tratamiento de pirodextrinización debilitó el gránulo, pero a nivel molecular no fue totalmente hidrolizado. Ling *et al.* (1982), indican que el gránulo de esta variedad presenta crestas y una capa superficial espesa que puede impedir la acción de agentes químicos externos, como el caso del HCl en la reacción de piroconversión. Lo que sugiere que la MER fue hidrolizada por la α -amilasa durante su proceso de hidrólisis y no por el tratamiento de pirodextrinización. Este resultado puede relacionarse a lo reportado por Ling *et al.* (1982), en donde reportaron que la superficie del AN de *M. cavendish* AAA, también es suave y densa, lo que lo hace más susceptible a la modificación enzimática.

Espinosa-Solís *et al.* (2009) reportaron 88.7% de AR y 5.1% de almidón de digestión lenta (ADL) en AN de *M. cavendish*, al realizar una hidrólisis con HCl (2.2 M). Los resultados obtenidos fueron que el almidón fue resistente al tratamiento y a la pérdida de su estructura granular, formando residuos que pudieron contener material amorfo. Esto pudo provocar el incremento en el contenido de ADL (35.4%) y la reducción de AR (16.2%) posterior al tratamiento de hidrólisis

ácida. Este mismo comportamiento pudo haber ocurrido en el presente estudio, ya que posterior al proceso de pirodextrinización la cantidad de AR disminuyó.

Aunque el contenido de AR por efecto de las modificaciones (química y enzimática), no fueron mayores a la que presentó el AN, la presencia de AR en los productos modificados hace suponer que la formación de enlaces atípicos durante la pirodextrinización se realizó en muy poca cantidad, con la posibilidad del incremento en la cantidad de ADL.

3.2 Microscopía electrónica de barrido

Los gránulos del AN (Figura 1a) presentaron una forma irregular, elongada y en algunos casos, esferoidal con un tamaño de 11 μm a 71 μm , similar a lo reportado por Waliszewski *et al.* (2003), quienes destacan que el gránulo del AN en esta variedad tiene un tamaño de 14 μm a 88 μm .

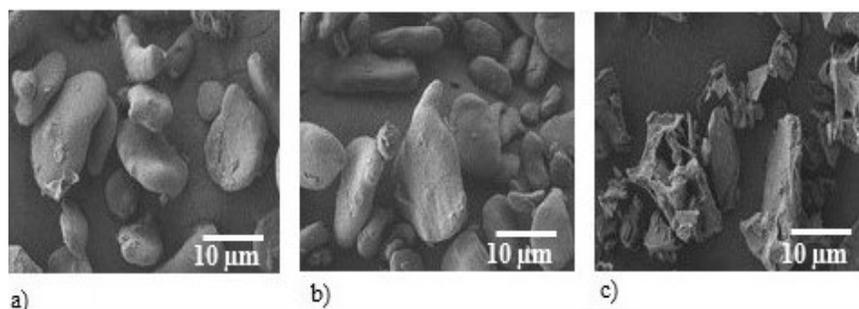


Figura 1. Micrografía del almidón de *M. cavendish* AAA. a) Nativo; b) Pirodextrina y c) Maltodextrina enzimáticamente resistente.

Se puede observar en la Figura 1b la imagen de la pirodextrina seleccionada, en donde algunos gránulos del AN fueron resistentes al tratamiento químico de la piroconversión y no mostraron cambio alguno, donde se puede observar que el tratamiento de pirodextrinización debilitó el gránulo, pero a nivel molecular no fue totalmente hidrolizado.

En la Figura 1c se puede observar que, en la MER, la hidrólisis enzimática con α -amilasa provocó un cambio drástico en la pérdida de la estructura granular. Esto sugiere que la MER fue hidrolizada por la α -amilasa y no por el tratamiento de pirodextrinización. Espinosa *et al.* (2009) mencionan que la presencia del arreglo cristalino en los almidones modificados puede ser el responsable de la resistencia parcial o total a la digestión, por lo cual es probable que se produjera disminución progresiva en el arreglo cristalino en la pirodextrinización del AN de *M. cavendish*, y posteriormente en la hidrólisis enzimática.

3.3 Difracción de rayos X

El patrón de DRX del AN de *M. cavendish* AAA, así como el de sus modificaciones (pirodextrina y MER) se muestran en la Figura 2. En su forma nativa (Figura 2a), el almidón de la variedad estudiada mostró un patrón de DRX tipo C (una mezcla del patrón tipo A y tipo B). De acuerdo a Spence y Jane (1999), este tipo de patrón de DRX presenta picos de difracción para los ángulos 5.6°, 15°, 17° y 23°. Esto concuerda con Waliszewski *et al.* (2003), los cuales reportaron el mismo patrón en la variedad de banano estudiada. Por su parte Zhang *et al.* (2005), reportaron patrones tipo B y tipo C para almidón de plátano. El patrón DRX en la pirodextrina (Figura 2b) no presentó cambio aparente, sin embargo, los picos obtenidos en la MER (Figura 2c) fueron más amplios que en el AN. De acuerdo a Rivas-González *et al.* (2008) esto sugiere que existe modificación en su arreglo cristalino, al no presentar un patrón definido a su forma nativa.

La cristalinidad para el AN fue de 29.12%, mientras que para la pirodextrina y la MER se obtuvieron valores de cristalinidad de 14.72% y 8.12%, respectivamente. Espinosa *et al.* (2009), han reportado que niveles altos de cristalinidad en una variedad de almidón de plátano, promueve mayor contenido de AR. La disminución de la cristalinidad observada en este estudio, sugiere que el proceso de pirodextrinización provocó pérdida de la organización estructural

en una dirección lateral de las laminillas semicristalinas debido al proceso de dextrinización, lo cual podría explicar la reducción de AR en los tratamientos de pirodextrinización y posteriormente en la hidrólisis enzimática.

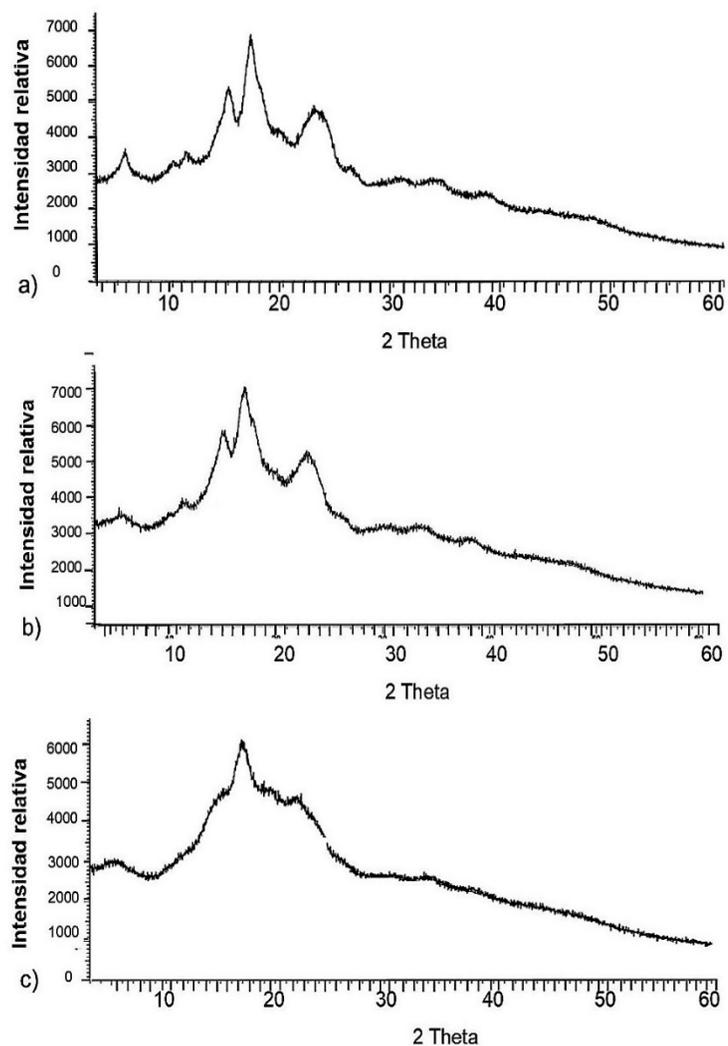


Figura 2. Patrón de difracción de rayos X de almidón de *M. cavendish* AAA. a) Almidón nativo, b) Pirodextrina y c) Maltodextrina enzimáticamente resistente.

3.4 Efecto fisiológico del almidón de banana *M. cavendish* AAA pirodextrinizado e hidrolizado enzimáticamente en un modelo experimental de rata con cáncer de colon

Actividad enzimática de β -glucoronidasa y pH en heces fecales

En la Tabla 1 se muestran los resultados sobre el pH y la actividad enzimática de β -glucoronidasa en heces fecales tanto de ciego como de colon de los grupos AN, PI y MER. El tratamiento con AN redujo pH tanto en ciego como en colon ($p < 0.05$) con respecto a CP. El grupo PI redujo pH únicamente en colon ($p < 0.05$) con respecto a CP. La concentración de enzima β -glucoronidasa tanto en ciego como en colon, disminuyó en todos los tratamientos dietéticos, con respecto al CP ($p < 0.05$).

Cuantificación de ácidos grasos de cadena corta en heces fecales

En relación a la producción de AGCC en las ratas tratadas con 1-2 DMH (Tabla 1), se observó que el consumo de AN aumentó la concentración de ácido butírico en colon con respecto a CP ($p < 0,05$), llegando a ser igual que el CN ($p > 0.05$). Con respecto a los otros tratamientos modificados (PI y MER), el AN fue el tratamiento que produjo mayor concentración de ácido butírico en colon ($p < 0.05$). En el caso del ácido acético, en ciego, el grupo MER presentó mayor concentración con respecto a CP ($p < 0.05$) y fue igual a CN ($p > 0.05$). En colon, el grupo AN presentó mayor ($p < 0.05$) concentración de ácido acético con respecto a CP y fue igual a CN ($p > 0.05$). Por último, en la cuantificación de ácido propiónico en ciego, los tres tratamientos experimentales mostraron mayor producción que CP ($p < 0.05$), y en colon la mayor producción de acético se observó en los grupos con los tratamientos de mayor proporción en AR (AN y PI; $p < 0.05$).

De acuerdo a los resultados obtenidos sobre la disminución de pH, y de la actividad enzimática de β -glucoronidasa, así como la mayor proporción de ácido butírico registrada en las heces de los animales que consumieron AN de *M. cavendish*. Es posible considerar la posibilidad de que el AN fue el tratamiento

con la cantidad suficiente de AR, que de acuerdo a Keenan *et al.* (2006), funcionó como fuente de carbono de bacterias colonicas, lo que permitió la fermentación para producir AGCC, específicamente de butírico, que de acuerdo a Mentschel y Claus (2003), pudo haber favorecido la proliferación de células integrantes de la mucosa sana a nivel del colon, contribuyendo a la reducción del pH intestinal.

Tabla 3. Efecto del almidón nativo de *M. cavendish* AAA pirodextrinizado e hidrolizado enzimáticamente sobre parámetros en heces fecales de ratas con cáncer de colon inducido con 1-2 DMH.

Parámetros	C	C	A	PI	M	
						N
pH en ciego	6.	6.	6.	6.	6.	
	15 ±	87 ±	67 ±	75 ±	81 ±	
	0.10a	0.07b	0.16c	0.10b	0.24b	
pH en colon	6.	6.	6.	6.	6.	
	41 ±	90 ±	72 ±	77 ±	91 ±	
	0.02a	0.02b	0.09c	0.04c	0.19b	
β-glucoronidasa (nmol/min g)						
	Ciego	2.	4.	3.	3.	3.
		98 ±	03 ±	65 ±	63 ±	59 ±
	0.01a	0.28b	0.04c	0.09c	0.02c	
	Colon	3.	3.	3.	3.	3.
		03 ±	58 ±	29 ±	32 ±	46 ±
		0.05a	0.05b	0.34c	0.14C	0.01c

**Ácido
butírico
(μ moles/g)**

Ciego	2	1	1	1	1
	1.02 \pm	4.34 \pm	5.30 \pm	4.05 \pm	4.28 \pm
	0.40a	0.65b	0.02b	0.74b	0.93b
Colon	1	7.	1	8.	5.
	1.13 \pm	2 \pm	0.75 \pm	62 \pm	40 \pm
	0.82a	0.37b	0.36a	0.13b	0.05b

**Ácido
acético
(μ moles/g)**

Ciego	1	1	1	1	1
	7.34 \pm	4.41 \pm	4.83 \pm	4.77 \pm	6.85 \pm
	0.54a	0.24b	0.42b	0.04b	0.31a
Colon	1	1	1	1	1
	3.85 \pm	1.41 \pm	3.69 \pm	2.52 \pm	1.00 \pm
	0.39a	0.13b	0.13a	0.49b	0.16bc

**Ácido
propiónico
(μ moles/g)**

Ciego	9.	7.	8.	8.	8.
	79 \pm	26 \pm	70 \pm	15 \pm	82 \pm
	0.37a	0.17b	0.46c	0.07c	0.40ac
Colon	8.	6.	7.	7.	6.

90 ±	51 ±	61 ±	02 ±	45 ±
0.38a	0.18b	0.20c	0.36c	0.31b

Promedio ± error estándar de la media (n = 5). a-c Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa (p<0.05). CN = Control negativo, CP = Control positivo, AN = Almidón nativo, PI = Pirodextrina, MER = Maltodextrina enzimáticamente resistente.

Referente a la producción de AGCC, Sharma *et al.* (2008) reportaron que el consumo de AR produce 41% de ácido acético, 21% de ácido propiónico y 38% ácido butírico. En el presente estudio, fue el grupo AN tanto en ciego como en colon, el que produjo la proporción de ácido butírico antes mencionada, incluso el valor fue mayor (43%). Lo anterior hace suponer que el contenido de AR en la dosis suministrada mediante la dieta experimental del AN, pudo haber sido suficiente para producir el 38% de contenido en ácido butírico. Pryde *et al.* (2002) mencionan que, aunque ciertos sustratos como el AR, aparentemente presentan un efecto butirogénico en el colon, no se sabe en qué medida estimulan directamente la producción de este AGCC.

3.5 Estudio histopatológico: Registros y morfología de lesiones microscópicas.

De manera general e independientemente del tratamiento, se observó la presencia de enteritis en los animales, la cual fue categorizada en dos tipos: eosinofílica y linfoplasmocítica. Los animales del CN presentaron enteritis eosinofílica, que de acuerdo a Lucendo y Arias (2012), es de curso benigno y se caracteriza por infiltración de eosinófilos en cualquiera de las capas del tracto gastrointestinal con o sin hipereosinofilia sanguínea; su presencia está ligada con síntomas alérgicos sistémicos y elevaciones de Inmunoglobulina E (IgE). Esto sugiere la posible etiología en relación con reacciones alérgicas de origen alimentaria. Por el contrario, los animales con la aplicación de 1-2 DMH, presentaron reacciones inflamatorias sub-agudas a crónicas lo cual sugiere reacciones inmunomediadas como la enteritis linfoplasmocítica, incluidos los

tratamientos con dietas experimentales, así como el CP, sin ser diferentes entre ellos ($p > 0.05$). Por lo cual, de acuerdo a Hart *et al.* (1994), presentaron inflamación intestinal idiopática caracterizada por infiltración linfoplasmocítica del tracto gastrointestinal. Esta inflamación se presentó con o sin displasia adicional en el colon de las ratas.

Washabau y Day (2013) reportaron que la infiltración linfoplasmocítica celular intestinal puede variar ampliamente el estado de gravedad, ya que llega a estar acompañada de hiperplasia de células productoras de mucosa y atrofia o fibrosis, en donde el progresivo estadio puede incluso desencadenar la presencia de adenocarcinomas, de acuerdo a lo reportado por Berghoff *et al.* (2007). Por su parte, Dias *et al.* (2010) y Prado-Silva *et al.* (2014), reportaron en ratas Wistar tratadas con 1-2 DMH bajo las mismas condiciones de dosis en la presente investigación, un mayor contenido de FCA clásicas en el desarrollo temprano de CRC comparadas con el control. Por lo que se puede suponer que la aplicación de 1-2 DMH en las ratas del presente estudio, pudo desarrollar mayor contenido de FCA en las células del colon, indicando el posible desarrollo temprano de CRC.

Se observa que el grupo AN presentó menor enteritis linfoplasmocítica comparado con el CP ($p < 0.05$), lo que significa que tuvo menor toxicidad, esto hace suponer que la cantidad de AR presente en su dieta, permitió la menor proporción de enteritis en esta categoría. Scheppach (1994) menciona que la producción de ácido butírico en el colon, aumenta el flujo sanguíneo colonico y contribuye a la disminución de enfermedad inflamatoria intestinal, que de acuerdo a Grivennikov (2013), es una condición de alto riesgo para el desarrollo de CRC. Esto coincide con los resultados de la presente investigación, ya que el grupo AN produjo mayor cantidad de éste ácido, y a la vez, disminuyó la toxicidad en los animales que consumieron esa dieta. De acuerdo al grado y patrón de enteritis observado en el colon de las ratas los grupos que consumieron dietas experimentales, presentaron menor proporción de severidad (40%) que el CP (60%), siendo el patrón difuso el que predominó.

Referente al estudio microscópico, de manera general, no se observaron cambios patológicos aparentes en el CN. Las vellosidades intestinales presentaron en el borde células poliédricas acilíndricas constituidas por enterocitos y algunas vacuoladas en el citoplasma, con núcleo excéntrico que son las células productoras de moco o globosas. En el centro de las vellosidades estuvieron presentes células estromales y de tipo linfoide residente. Hay evidencia también de hiperplasia de células productoras de moco, que de acuerdo a Withrow y Vail (2013), responde a una respuesta común a procesos irritativos inflamatorios.

En la Figura 3, se presenta la fotomicrografía de un corte del colon de rata del CP, en donde se observa un carcinoma *in situ* en la punta de la vellosidad la cual exhibe cambios displásicos de los enterocitos como son; pérdida de relación núcleo citoplasma, pleomorfismo nuclear, núcleos hipercromáticos con nucléolos prominentes y algunas mitosis atípicas.



Figura 3. Corte del colon de una rata del grupo control positivo. Fotomicrografía tomada con la técnica de tinción habitual hematoxilina-eosina (HIE) (1000X).

Referente a la incidencia de displasia por efecto de la ingesta del AN de M. cavendish y sus productos modificados, se observó que en el CP se encontró la evidencia de lesiones (displasia) en el 80% de los casos con células neoplásicas sin rebasar la membrana basal (carcinoma *in situ*), que de acuerdo a Withrow y Vail (2013), sugiere un efecto carcinogénico. El grupo tratado con AN presentó la menor proporción de displasia (20%; $p < 0.05$), con respecto a CP, incluso menor a los grupos que consumieron PI y MER ($p < 0.05$).

En el presente estudio, se observa que conforme mayor es la cantidad de AR presente en la dieta (70.51% para AN, 63.84% para PI y 11.04% para MER), las células neoplásicas no avanzan más allá de la membrana basal, lo que sugiere que la cantidad de AR presente en la dieta, es directamente proporcional al posible efecto protector o anticancerígeno celular. Al respecto, Thorup *et al.* (1995) observaron que el número de FCA disminuyó en el colon de ratas, tras la ingesta de un almidón con 36.4% de AR. Por su parte, Perrin *et al.* (2001) observaron que el número de lesiones preneoplásicas precoces y los focos de CA, disminuyeron por consumo de una dieta con 19% de AR comercialmente disponible, en ratas con dosis de AOM (metabolito de la 1-2 DMH).

Por el contrario, Ruiping y Guifa (2008), observaron que el consumo de AN de papa (22.8% de AR) en ratas, no tuvo protección contra la pre iniciación de FCA, sin embargo, fue capaz de inhibir la promoción. Así mismo, Young *et al.* (1996) encontraron que el consumo de AN de papa (20% de AR), incrementó la incidencia, multiplicidad y tamaño de los tumores en el colon de ratas inducidas químicamente.

Existe la posibilidad de que estas diferencias encontradas, puedan deberse a la dosis, tipo y dosificación de AR empleados en los estudios, así como al tipo y dosificación de carcinógeno utilizado, aunque en la mayoría de los estudios ha sido detectada la protección contra el desarrollo de CRC por consumo de AR o de otro polisacárido resistente. Al respecto, en la Figura 4, se observa el corte del

colon de una rata del grupo MER con presencia de carcinoma in situ exofítico, siendo el tratamiento MER el que menor cantidad de AR presentó.

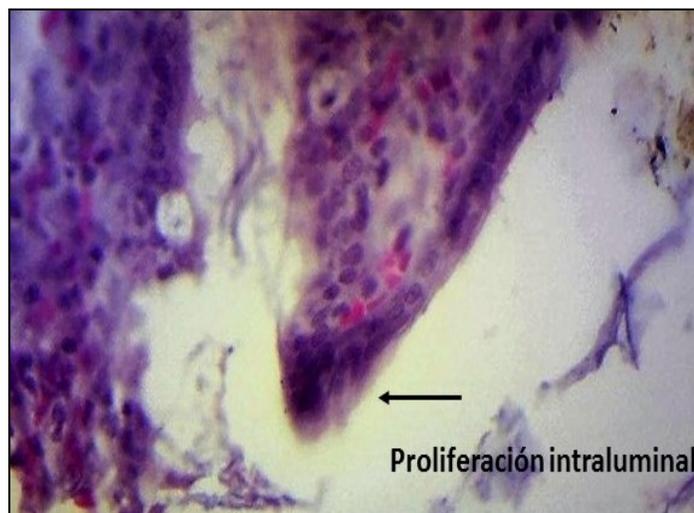


Figura 4. Corte del colon de una rata con ingesta de maltodextrina enzimáticamente resistente. Fotomicrografía tomada con la técnica de tinción habitual hematoxilina-eosina (HIE) (1000X).

Los mecanismos precisos por los cuales el AR inhibe o promueve las lesiones preneoplásicas del colon no se conocen completamente. En general, el efecto anticancerígeno se ha atribuido principalmente a un aumento mediado por la fermentación de AGCC luminal, particularmente el ácido butírico, el cual inhibe la proliferación celular, induce la diferenciación y mejora apoptosis en células de CRC.

4. Conclusiones

Los gránulos de almidón nativo resistieron la pirodextrinización, pero la estructura cristalina disminuyó notablemente en la hidrólisis enzimática ya que el tratamiento con α -amilasa rompió la estructura del gránulo de pirodextrina.

El tratamiento de almidón nativo posiblemente provocó mejor efecto anticancerígeno celular sobre marcadores tumorales en ratas tratadas con 1-2 dimetilhidrazina, debido a su mayor contenido de almidón resistente.

5. Referencias

- Berghoff, N., Ruaux, C. G., Steiner, J. M. y Williams, D. A. (2007). Gastroenteropathy in Norwegian Lundehunds. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 29 (8), 456-465, 468-470.
- Dias, M. C., Vieiralves, N. F., Gomes, M. I., Salvadori, D. M., Rodrigues, M. A. y Barbisan, L. F. (2010). Effects of lycopene, synbiotic and their association on early biomarkers of rat colon carcinogénesis. *Food and Chemical Toxicology*. 48, 772–780.
- Espinosa-Solis, V., Jay-Lin, J. y Bello-Pérez, L. A. (2009). Physicochemical characteristics of starches from unripe fruits of mango and banana. *Starch-Stärke*. 61(5), 291-299.
- Germain, N. (2012). U.S. Patent Application 20120035355.
- Grivennikov, S. I. (2013). Inflammation and colorectal cancer: colitis-associated neoplasia. *Seminars in Immunopathology*. 35(2), 229–244.
- Hart, J. R., Shaker, E., Patnaik, E. y Garvey, M. S. (1994). Lymphocytic-plasmacytic enterocolitis in cats: 60 cases (1988–1990). *Journal of the American Animal Hospital Association*. 30(5), 505-514.
- Jenab, M. y Thompson, L. U. (1996). The influence of flaxseed and lignans on colon carcinogenesis and beta-glucuronidase activity. *Carcinogenesis*. 17(6), 1343–1348.

- Keenan, M. J., Zhou, J., McCutcheon, K. L., Raggio, A. M., Bateman, H. G., Todd, E., Jones, C. K., Tulley, R. T., Melton, S. y Martin, R. J. (2006). Effects of resistant starch, a non-digestible fermentable fiber, on reducing body fat. *Obesity*. 14(9), 1523–34.
- Ling, L. H., Osman, E. M., Fernandez, J. B. y Reilly P. J. (1982). Physical properties of starch from Cavendish banana fruit. *Starch-Stärke*. 34(6), 184-188.
- Lucendo, A. J., y Arias, A. (2012). Eosinophilic gastroenteritis: an update. *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology*. 6(5), 591-601.
- Mentschel, J. y Claus, R. (2003). Increased butyrate formation in the pig colon by feeding raw potato starch leads to a reduction of colonocyte apoptosis and a shift to the stem cell compartment. *Metabolism: Clinical and Experimental*. 52(11), 1400-1405.
- Nara, S. y Komiya, T. (1983). Studies on the relationship between water-saturated state and crystallinity by the diffraction method for moistened potato starch. *Starch-Stärke*. 35(12), 407-410.
- Olvera-Hernández, V., Betancur-Ancona, D., Chel-Guerrero, L.A., Ble-Castillo, J. L. y Castellanos-Ruelas, A. F. (2017). Morphological and Physicochemical Changes in Great Dwarf Banana (*Musa cavendish* AAA) Starch Modified by Pyrodextrinization and Enzymatic Hydrolysis. *Starch-Stärke*. 70, 1-9.
- Olvi, L. G., González, M. L., y Santini, E. (2011). Diagnóstico histopatológico de tumores de tejidos blandos. *Revista del Hospital de Niños de Buenos Aires*. 53(242), 94-101.
- Ottenhof, M. A. y Farhat, I. A. (2004). The effect of gluten on the retrogradation of wheat starch. *Journal of Cereal Science*. 40(3), 269-274.

- Perrin, P., Pierre, F., Patry, Y., Champ, M., Berreur, M., Pradal, G., Bornet, F., Meflah, K. y Menanteau, J. (2001). Only fibres promoting a stable butyrate producing colonic ecosystem decrease the rate of aberrant crypt foci in rats. *Gut*. 48, 53–61.
- Prado-Silva, L., Azevedo, L., Oliveira, J. A. C., Moreira, A. P. M., Schmiele, M., Changd, Y. K., Paula, F. B. A. y Clerici. M. T. P. S. (2014). Sesame and resistant starch reduce the colon carcinogenesis and oxidative stress in 1,2-dimethylhydrazine-induced cancer in Wistar rats. *Food Research International*. 62, 609–617.
- Pryde, S. E., Duncan, S. H., Hold, G. L., Stewart, C. S., y Flint, H. J. (2002). The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS Microbiology Letters*. 217(2), 133-139.
- Rivas-González, M., Méndez-Montealvo, M. G., Sánchez-Rivera, M. M., Núñez-Santiago M. C. y Bello-Pérez, L. A. (2008). Caracterización morfológica, molecular y fisicoquímica de almidón de plátano oxidado y lintnerizado. *Agrociencia*. 42, 487-497.
- Ruiping, L. y Guifa, X. (2008). Effects of resistant starch on colonic preneoplastic aberrant crypt foci in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 46(8), 2672-2679.
- Scheppach, W. (1994). Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. *Gut*. 35(1), 35–38.
- Sharma, A., Yadav, B. S. y Ritika. (2008). Resistant starch: Physiological roles and food applications. *Food Reviews International*. 24(2),193-234.
- Shwter, A. N., Abdullah, N. A., Alshawsh, M. A., Alsalahi, A., Hajrezaei, M., Almaqrami, A. A., Salem, S. D. y Abdulla, M. A. (2014). Chemoprevention of colonic aberrant crypt foci by *Gynura procumbens* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 151(3), 1194-1201.

- Spence, K. E. y Jane, J., (1999). Chemical and physical properties of ginko (Ginko biloba) starch. *Carbohydrate Polymers*. 40(4), 261-269.
- Thorup, I., Meyer, O. y Kristiansen, E. (1995). Effect of potato starch, cornstarch and sucrose on aberrant crypt foci in rats exposed to azoxymethane. *Anticancer Research*. 15(5), 2101–2105.
- Waliszewski, K. N., Aparicio, M. A., Bello, L. A. y Monroy, J. A. (2003). Changes of banana starch by chemical and physical modification. *Carbohydrate Polymers*. 52, 237-242.
- Ying, Z., Shaohua, M., Deyi, C., Xiping, Z. y Huaibo, Y. (2014). Structure characterization and hypoglycemic effects of dual modified resistant starch from indica rice starch. *Carbohidrate polymers*. 15(103), 81–86.
- Young, G. P., McIntyre, A., Albert, V., Folino, M., Muir, J. G. y Gison, P. R. (1996). Wheat bran suppresses potato starch–potentiated colorectal tumorigenesis at the aberrant crypt stage in a rat model. *Gastroenterology*. 110, 508–514.
- Yuan, H., Chen, Y., Zhang, H., Jiang, S., Zhou, Q. y Gu, G. (2006). Improved bioproduction of short-chain fatty acids (SCFAs) from excess sludge under alkaline conditions. *Environmental Science Technology*. 40(6), 2025-2029.
- Zhang, P., Whistler, R. L., BeMiller, J. N. y Hamaker, B. R. (2005). Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility -a review. *Carbohydrate Polymers*. 59(4), 443-458.

Seguridad alimentaria en familias del poblado Chiltepec, Paraíso, Tabasco

¹Barragán-Lizama, L; ¹Hurtado-Barba E; ²Guzmán-Pérez S. N

¹División Académica de Ciencias de la Salud. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Av. Gregorio Méndez 2838-A Col. Tamulté, Centro, Tabasco C. P. 86150.

²Escuela Secundaria Técnica 26. Av. Río González y Cuauhtémoc. Chiltepec, Paraíso, Tabasco. C.P. 86620

e-mail: ligiabarragán69@gmail.com

Resumen

Existe seguridad alimentaria cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades y preferencias alimentarias, a fin de llevar una vida activa y sana (FAO, 1996), se ha puntualizado la importancia de nuevas políticas y programas que coadyuven a favorecer la existencia de la seguridad alimentaria en la población. Objetivo: Evaluar la seguridad alimentaria, en las familias de los alumnos de la Escuela Secundaria Técnica 26. Material y métodos: Estudio descriptivo, transversal; en el cual participaron 250 padres y/o tutores de los alumnos. Se utilizó un instrumento validado para evaluar la seguridad alimentaria ELCSA. El análisis de datos se realizó con el software SPSS utilizando estadísticos descriptivos. Resultados. El nivel de escolaridad de la población es medio básico (47.2%), el 29.6% se encuentra laborando y el 69.2% percibe una cantidad menor o igual a \$4000.00 al mes. De estas familias, el 86.8% se encuentra en algún nivel de inseguridad alimentaria, siendo la inseguridad alimentaria leve la de mayor prevalencia (38.4%) seguida de la moderada (17.6%). Conclusión. Las familias tienen limitado acceso económico a los alimentos, ya que la mayoría tiene algún grado de inseguridad alimentaria.

Palabras clave: Seguridad alimentaria, inseguridad alimentaria, pobreza.

Abstract

There is food security when all people have at all times physical and economic access to sufficient safe and nutritious food to meet their needs and food preferences, in order to lead an active and healthy life (FAO, 1996), has been pointed out the importance of new policies and programs that help to promote the existence of food security in the population. Objective: To evaluate the food security, as well as the dietetic diversity in the families of the students of the technical high school 26, of the Chiltepec Village. Material and Method: Descriptive, cross-sectional study; in which 250 parents and / or tutors of high school students participated the validated instruments that were used to assess food safety was ELCSA. The data analysis was performed with SPSS software, using descriptive statistics. Results: The level of schooling of the population is basic (47.2%), only 29.6% are working and 69.2% receive an amount less than or equal to \$ 4000.00 per month. Of these families, 86.8% are at some level of food insecurity, with slight food insecurity having the highest prevalence (38.4%) followed by moderate (17.6%). Families have limited access to food, as most have some degree of food insecurity and high dietary diversity.

Keywords: Food security, food insecurity, poverty.

1. Introducción

La alimentación es un derecho universal, por el cual todas las personas deberían contar con todos los recursos para obtener alimentos de calidad y en cantidades adecuadas de manera estable durante todo el tiempo, sin embargo, han existido factores que dificultan el ejercicio de este derecho, como resultado de la escases de alimento o bien la falta de acceso económico a estos, que sin lugar a dudas, trae consigo consecuencias, como por ejemplo, el hambre y la desnutrición.

Actualmente según datos del Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social (CONEVAL 2016); en el año 2008 a nivel nacional, la pobreza era de un 44.4%, ocho años después se muestra una disminución poco significativa, actualmente es de un 43.6%. En relación con la pobreza extrema hay un cambio significativo pasando de 11.0% en el 2008 a 7.6% en el 2016. En cuanto a la carencia por acceso a la alimentación en el 2008 era de un 21.7% y en el año 2016 de 20.1%; lo que revela un cambio poco favorable para la seguridad alimentaria de la población más desprotegida del país. La pobreza en estado de Tabasco en el 2010 fue de 57.1%, mejorando en el 2016 a 50.9% y la pobreza extrema en el 2010 fue de 13.6% disminuyendo en el 2016 a 11.8%; aun así, Tabasco ocupa el séptimo lugar a nivel nacional en pobreza y el quinto lugar en pobreza extrema.

En consecuencia, cuando un hogar tiene pobreza y pobreza extrema, poseerá deficiente acceso a los alimentos, manifestará limitación de la diversidad dietética la cual es una medida cualitativa del consumo de alimentos, que refleja el acceso de los hogares a los mismos.

En el año 2017, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) publicaron en el Panorama de la Seguridad Alimentaria y Nutricional en América Latina y el Caribe, que, en el año 2016, aproximadamente 42,5 millones

de personas no tienen acceso a la cantidad de alimentos necesarios para cubrir sus necesidades energéticas diarias, lo que significa un aumento del 6% de la población con subalimentación en relación con el año 2015.

De acuerdo con el Estado de la Inseguridad Alimentaria en el Mundo 2015 (FAO, FIDA y PMA, 2015), la subregión mesoamericana ha presentado una tendencia hacia la reducción del hambre, logrando disminuir el número de personas hambrientas para el 2016. En México la proporción de personas en situación de subalimentación se encuentra en niveles inferiores al 5% (FAO 2016)

En el 2016, la Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL) reportó que, en el 2014, en Tabasco la tasa de inseguridad alimentaria es de 58.6%, del cual, el 13.6% presenta inseguridad alimentaria leve, el 21.9% inseguridad alimentaria moderada y el 23.1% inseguridad alimentaria severa (SEDESOL, 2016).

1.1 Seguridad Alimentaria (SA)

El concepto de la seguridad alimentaria (SA), ha ido evolucionando durante varias décadas, la primera vez que se habló de seguridad alimentaria, fue en los años de 1970, sin embargo, fue hasta la década de los noventa cuando la FAO (1996), en la Cumbre mundial sobre la alimentación, define a la seguridad alimentaria de la siguiente manera: “Existe seguridad alimentaria cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a los alimentos a fin de llevar una vida activa y sana.” Esta definición considera varios elementos; primero que, la oferta de alimentos disponibles sea la adecuada todo el año tanto en el ámbito nacional como también en la comunidad; segundo, los hogares deben tener tanto acceso físico como económico a una cantidad, calidad y variedad suficiente de alimentos y, por último, los jefes del hogar y los encargados de la preparación de los alimentos deben tener el tiempo, el conocimiento y la motivación para asegurar que las necesidades de todos los miembros de la familia sean satisfechas.

La seguridad alimentaria no es sinónimo de seguridad nutricional, pues esta va a depender de otros factores tales como el modo de preparación de los alimentos, la correcta absorción de nutrientes por el organismo, la capacidad económica de adquirir los alimentos de forma variada, entre otros (CONEVAL, 2010).

Dimensiones de la Seguridad Alimentaria

Para fines de medición de la seguridad alimentaria, el CONEVAL (2010), destacó las siguientes dimensiones:

- *Disponibilidad de alimentos:* “La disponibilidad de alimentos corresponde a la provisión, suministro o existencia de alimentos, es decir, aborda lo relacionado con la existencia de cantidades suficientes de alimentos de calidad adecuada, suministrados a través de la producción del país o de importaciones, comprendida la ayuda alimentaria” (FAO, 2006).
- *Acceso a los alimentos:* Se refiere a la capacidad de adquirir los alimentos, ésta puede presentarse de dos formas:
Acceso físico: está ligado a los establecimientos en donde se pueda tener acceso a los alimentos.
Acceso económico: depende de la capacidad económica para la obtención de alimentos, se determina por el ingreso económico y por el precio de los alimentos.
- *Utilización de los alimentos:* Es la forma en que los nutrientes son utilizados por el cuerpo, para lo que es necesario encontrarse sano y tener un adecuado acceso a los servicios a los servicios de salud.
Esta dimensión también abarca aspectos como el modo de preparar los alimentos, la higiene, consumo adecuado de nutrientes, la diversidad alimentaria y una buena distribución de los alimentos entre los miembros de la familia. Si estos elementos llevan patrones ideales, se garantiza un

estado nutricional óptimo, de lo contrario, podrían presentarse problemas nutricionales como la desnutrición (CONEVAL, 2015).

- *Estabilidad en el tiempo*: Esta dimensión se refiere a la estabilidad de las 3 dimensiones anteriores, es decir, que la disponibilidad, el acceso y el uso de los alimentos permanezcan estables a lo largo del tiempo en todo momento (CONEVAL, 2015).

1.2. Inseguridad Alimentaria (IA)

Cuando hablamos de inseguridad alimentaria (IA), hacemos mención de la condición que resulta de un acceso incierto o nulo a alimentos nutricionalmente adecuados y socialmente aceptables (Anderson y Colbs. 1990); lo cual nos puede dar como resultado la pobreza alimentaria.

El CONEVAL, considera que una persona está en situación de carencia por acceso a la alimentación si el hogar en el que reside presenta niveles de inseguridad alimentaria moderada o severa, es decir, si por falta de recursos, al menos algún miembro del hogar no contó en todo momento con comida suficiente para llevar una vida activa y sana.

La seguridad alimentaria baja ocurre cuando los individuos experimentan una reducción de la calidad, variedad o deseabilidad de los alimentos, y a veces una reducción de la ingesta de alimentos. La seguridad alimentaria muy baja describe patrones alimentarios alterados y reducción en la ingesta debido a insuficiencia de recursos (Salvador *et al.*, 2015).

1.3 Escala Latinoamericana y Caribeña de Seguridad Alimentaria (ELCSA)

Para fines de medición de los niveles de seguridad alimentaria se desarrolló la Escala Latinoamericana y Caribeña de Seguridad Alimentaria (ELCSA), la cual ha sido útil tanto a nivel local como internacional, confirmando su validez y gran potencial (FAO, 2012).

Este instrumento clasifica 3 niveles de inseguridad alimentaria:

- Inseguridad alimentaria leve: cuando se relacionan en primera instancia con la preocupación por el acceso a los alimentos, demeritando la calidad de la dieta.
- Inseguridad alimentaria moderada: además de disminuir la calidad de los alimentos, refieren tener restricciones en la cantidad de los alimentos consumidos.
- Inseguridad alimentaria severa: cuando además de las situaciones anteriores, presentan también experiencias de hambre (Melgar y Colbs, 2014).

1.4 Pobreza Alimentaria

La pobreza alimentaria se concibe como un fenómeno estrechamente relacionado con la imposibilidad de las personas de acceder a recursos económicos suficientes para poder comprar una canasta básica alimentaria que les permita la ingesta de los mínimos requerimientos nutricionales. En esta manera de concebir la pobreza la variable ingreso es fundamental, ya que determina quién es pobre y quién no lo es, de tal manera que las personas con recursos económicos superiores a lo que cuesta una canasta de bienes considerada como mínima superan la línea de pobreza, mientras que otros con recursos bajos e insuficientes para la compra de la misma se consideran pobres alimentarios.

Es importante señalar que la alimentación no sólo está relacionada con la capacidad de compra de las personas o familias, sino también con el entorno económico, social y cultural de una nación o región, como lo es el crecimiento de la producción nacional de alimentos y los modelos productivos que lo impulsan, además de las condicionantes nutricionales que sustentan una mejor calidad de

vida. Esto significa que la pobreza alimentaria debe ser explicada tanto como un problema de acceso como de disponibilidad y consumo de alimentos. (López-Salazar, 2015).

El CONEVAL es un organismo público descentralizado de la Administración Pública Federal, que genera información sobre la situación de la política social y la medición de la pobreza, así como establecer los lineamientos y criterios para la definición, identificación y medición de la pobreza en México.

Con base a esto, el CONEVAL 2017 define que, una persona se encuentra en situación de pobreza cuando presenta al menos una carencia social y no tiene un ingreso suficiente para satisfacer sus necesidades y cuando una persona se encuentra en situación de pobreza extrema cuando presenta tres o más carencias sociales y no tiene un ingreso suficiente para adquirir una canasta alimentaria.

Para medir la pobreza se calcula tomando en cuenta el ingreso de los mexicanos, pero también su acceso o carencia a los siguientes derechos sociales:

- Derecho a la educación.
- Derecho a servicios de salud.
- Seguridad social.
- Acceso a la alimentación.
- Calidad y espacios a la vivienda como pisos firmes, material de techos y muros.
- Acceso a servicios básicos como drenaje, electricidad, gas, agua entubada.

No tener acceso a cualquiera de estos derechos convierte a un mexicano en “vulnerable por carencia social”; es decir, que está en el límite de convertirse en pobre.

Pero si además de alguna de estas carencias el ingreso mensual personal—la otra variable de esta medición—está por debajo del valor de una canasta básica alimentaria y no alimentaria (que incluye productos básicos y necesidades como calzado o transporte), conocida como Línea de Bienestar; entonces ese mexicano entra en el grupo de pobreza.

El CONEVAL 2018 en la medición de pobreza utiliza las dos líneas de ingreso:

- La *línea de bienestar mínimo*, que equivale al valor de la canasta alimentaria por persona al mes; y
- La *línea bienestar* que, equivale al valor total de la canasta alimentaria y de la canasta no alimentaria por persona al mes.

Según los cálculos que hace CONEVAL, la Línea de Bienestar (junio 2018) es de 2,958.36 pesos mensuales, por persona en zonas urbanas y 1,908.18 pesos por persona en rurales.

Con lo que la pobreza se mide así: las personas pobres en México son aquellas que tienen una o más carencias sociales y tienen un ingreso mensual menor a 2,958.36 pesos por persona en áreas urbanas y a 1,908.18 pesos, en rurales (Torres y Hernández-Cantú, 2017).

Para medir la pobreza extrema se utilizan las mismas variables, pero cambian los valores: una persona en pobreza extrema tiene al menos tres carencias sociales y su ingreso mensual está por debajo de una Línea de Bienestar Mínima, que incluye sólo la canasta básica alimentaria. Es decir, 1,043.58 pesos mensuales por persona en zonas urbanas y 1,476.96 pesos por persona para áreas rurales.

Tipos de Pobreza

El CONEVAL distingue tres tipos de pobreza:

- Pobreza de patrimonio: Hogares cuyo ingreso por persona es menor al necesario para cubrir el patrón de consumo básico de alimentación, vestido, vivienda, salud, transporte público y educación.
- Pobreza de capacidades: Hogares cuyo ingreso por persona es menor al necesario para cubrir el patrón de consumo básico de alimentación, salud y educación.
- Pobreza alimentaria: Hogares cuyo ingreso por persona es menor al necesario para cubrir las necesidades de alimentación, correspondientes a los requerimientos establecidos en la canasta alimentaria (Torres y Hernández-Cantú, 2017).

1.5 Marco Contextual

Chiltepec está ubicado en el municipio de Paraíso, Tabasco; en las desembocaduras del Río Gonzáles, delimita al norte con el Golfo de México y se encuentra 18 km de la cabecera municipal. La mayoría de sus calles se encuentran pavimentadas, cuenta con la mayoría de los servicios básicos, con un centro de salud, un mercado público. Así como con un muelle pesquero, uno petrolero y marina. Entre sus principales actividades económicas se encuentran la pesca, el cultivo de coco y el turismo. (H. Ayuntamiento del municipio de Paraíso, 2012)

2. Materiales y Métodos

Se realizó un estudio descriptivo, transversal, cuyo universo estuvo conformado por 250 padres o tutores de los alumnos de Escuela Secundaria Técnica 26, del Poblado Chiltepec, Paraíso, Tabasco.

La realización de esta investigación se llevó a cabo de la siguiente manera:

- Solicitud de permiso al plantel educativo.
- Capacitación a 8 trabajadores del plantel educativo.
- Aplicación del instrumento.

El instrumento de recolección de datos es una entrevista estructurada por dos apartados: el primero contiene los datos socio-económicos de la familia del alumno (Padre o tutor, edad, estado civil, ocupación, nivel de estudios e ingreso económico); el segundo apartado contiene las preguntas de la Escala Latinoamericana y Caribeña de Seguridad Alimentaria (ELCSA).

Para estimar los niveles de seguridad alimentaria de la ELCSA, validada por Villagómez en el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP); con un alfa de Crombach superior a 0.8; este instrumento ha sido utilizado en diversos estudios realizados por la FAO por su alta fiabilidad.

El ELCSA está constituido por 15 ítems, cuya respuesta es “Sí” con un valor de uno, o “No” con un valor de cero; esta escala identifica tres niveles de inseguridad alimentaria:

- Inseguridad alimentaria leve. - cuando haya de 1-5 respuestas afirmativas
- Inseguridad alimentaria moderada. - cuando haya de 6-10 respuestas afirmativas
- Inseguridad alimentaria severa. - cuando se responda de forma afirmativa a 11 o más preguntas de la escala.

Se clasificará como seguridad alimentaria en aquellos casos en los que se conteste de forma negativa a todas las preguntas de la escala. El análisis estadístico se realizó con el software SPSS versión 15.

3. Resultados y Discusión

3.1. Datos Socio-Económicos

De los doscientos cincuenta padres y tutores entrevistados; se obtuvieron los siguientes resultados: la edad promedio fue de 39 años; el 54.4% están casados y el mayor porcentaje de los entrevistados fueron las madres de los alumnos (79.2%). El nivel de escolaridad del 47.2% de la población es el medio básico y solo el 5.2% nivel superior. El 64% se dedica a las labores del hogar y el 29.6% tiene empleo; en cuanto al ingreso económico, el 69.2% percibe una cantidad menor o igual a \$4,000.00 pesos al mes, y únicamente el 3.2% cuenta con un ingreso en el hogar mayor a \$10,000.00 pesos al mes. En este sentido el nivel educativo constituye uno de los factores más sobresalientes que impactan en la seguridad alimentaria (FAO, 2014), esto es comprobable en el presente estudio, haciendo más difícil la obtención de un trabajo bien remunerado; lo cual coincide con la incidencia de desocupación laboral emitido por el INEGI en el 2016, donde Tabasco se ubicó entre las mayores tasas de desempleo (INEGI, 2016) y en consecuencia la obtención de menor ingreso económico.

El ingreso económico mensual encontrado es insuficiente para cubrir el gasto mensual de la canasta básica alimentaria por persona, ni para satisfacer la línea de bienestar mínimo (CONEVAL, 2017) poniendo en riesgo el acceso económico a los alimentos llevando a la pobreza y pobreza extrema, lo que nos conduce a inseguridad alimentaria.

3.2. Seguridad Alimentaria

Los resultados corresponden a los últimos 3 meses, en los que los participantes refirieron haberse encontrado en alguna de las siguientes situaciones por falta de dinero u otros recursos:

El 78.8% de las familias sintió preocupación porque los alimentos se acabaran, el 36% manifestaron que se quedaron sin alimentos en su hogar en alguna ocasión durante el periodo mencionado anteriormente. Además, el 29.2% de estos hogares, algún menor dejó de tener una alimentación saludable, un 45.6% tuvo una alimentación basada en poca variedad de alimentos, en el 22% dejó de comer en algún tiempo de comida; mientras que el 39.2% comió menos de lo que debía comer. El 42.8% refirió haber disminuido la cantidad servida de alimentos, en el 18.4% algún menor sintió hambre pero no comió y el 12.8% solamente comió una vez al día o dejó de comer durante todo el día (ver Figura 6).

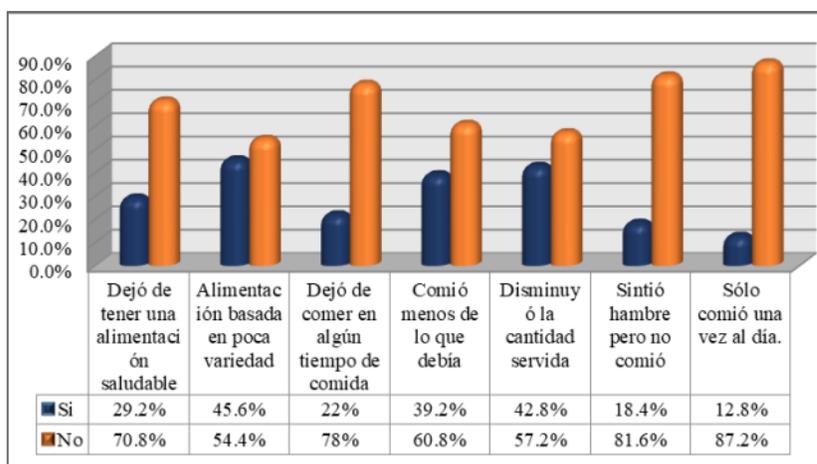


Figura 6. Acceso a los alimentos de los menores de 18 años dentro en las familias de los alumnos. Fuente: Tabla 9. Acceso a los alimentos de los menores de 18 años dentro de los hogares de los alumnos de la Escuela Secundaria Técnica 26 de Chiltepec, Paraíso, Tabasco.

De acuerdo al número de preguntas cuyas respuestas fueron afirmativas en la ELCSA se llevó a cabo el diagnóstico de seguridad alimentaria de las familias estudiadas. La mayoría (86.8%) de las familias participantes se encuentran en algún nivel de inseguridad alimentaria y únicamente el 13.2% cuenta con seguridad alimentaria (ver Figura 7). El 38.4% se encuentran con inseguridad alimentaria leve, el 30% inseguridad moderada y el 17.6% inseguridad severa (ver Figura 8). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Velazco-Perroni en un estudio realizado en Oaxaca, durante los periodos 2012-2014; observando que los resultados obtenidos, sobrepasan por mucho los números emitidos por las instituciones gubernamentales, la causa de la diferencia de los resultados, podría deberse a que el CONEVAL utiliza la Escala Mexicana de Seguridad Alimentaria (EMSA), siendo este un instrumento derivado de la adaptación de la ELCSA, de la que eliminaron 3 ítems, dentro de los cuales se encuentra el ítem que incide en la preocupación porque los alimentos se acaben, siendo precisamente el ítem con mayor respuestas afirmativas dentro de este estudio.

En este sentido es importante decir que la FAO 2017, menciona “la coexistencia del hambre, la desnutrición, las deficiencias de micronutrientes, el sobrepeso y la obesidad se deben, entre otras causas, a la falta de acceso a una alimentación saludable que provea la cantidad de nutrientes necesarios para llevar una vida sana y activa. El crecimiento económico y la mayor integración de América Latina y el Caribe en mercados internacionales ha ocasionado cambios en los patrones de alimentación: se observa una disminución de preparaciones culinarias tradicionales basadas en alimentos frescos, preparados y consumidos en el hogar, y una presencia y consumo cada vez mayor de productos ultra procesados con baja densidad de nutrientes, pero con alto contenido de azúcares, sodio y grasas. Este cambio en el patrón alimentario ha contribuido a la persistencia de la malnutrición en todas sus formas y a la disminución de la calidad de vida.

Este escenario requiere de un análisis profundo de la sostenibilidad y pertinencia nutricional del sistema alimentario vigente; que tome en cuenta el crecimiento

demográfico, las demandas que impone la vida urbana, la capacidad de compra de los hogares, la conveniencia y las preferencias culturales de la población, y que proponga estrategias innovadoras que aseguren que todas las personas, en particular la población pobre y quienes viven en situación de vulnerabilidad tengan acceso a una alimentación sana, nutritiva y suficiente durante todo el año.

La nueva Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible, adoptada por la Asamblea General de la ONU en septiembre de 2015, y sus 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), plantea nuevos desafíos para los países de América Latina y el Caribe.

Algunos de ellos, como la erradicación del hambre, han estado presentes en la agenda de políticas durante los últimos 20 años; sin embargo, los compromisos internacionales asumidos en 2015 implican un tratamiento más amplio de este objetivo, donde el hambre, la malnutrición y la sostenibilidad de la agricultura tienen un rol preponderante.

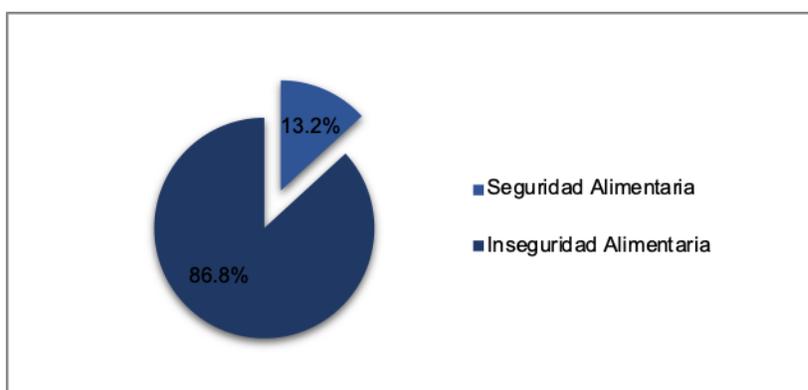


Figura 7. Seguridad alimentaria en las familias de los alumnos de la Escuela Secundaria Técnica 26 del Poblado Chiltepec, Paraíso, Tabasco. Fuente: Tabla 10. Seguridad alimentaria de los hogares de los alumnos de la Escuela Secundaria Técnica 26 de Chiltepec, Paraíso, Tabasco.

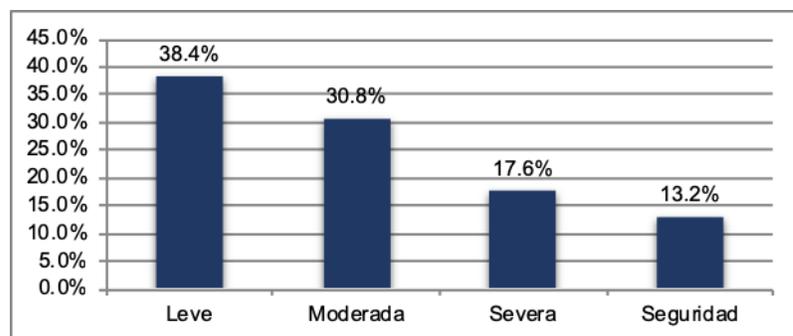


Figura 8. Nivel de inseguridad alimentaria en las familias de los alumnos. Fuente: Tabla 10. Nivel de seguridad alimentaria de los hogares de los alumnos de la Escuela Secundaria Técnica 26 de Chiltepec, Paraíso.

4. Conclusiones

Los padres o tutores de los alumnos tienen un nivel de escolaridad medio básico, su percepción mensual es menor o igual a \$4,000.00 pesos al mes. La mayoría de las familias participantes presentan algún nivel de inseguridad alimentaria, principalmente inseguridad alimentaria leve, lo que significa preocupación por el acceso a los alimentos, demeritando la calidad de la dieta; algunas otras familias presentan inseguridad alimentaria moderada, lo que significa además de disminuir la calidad de los alimentos, refieren tener restricciones en la cantidad de los alimentos consumidos.

5. Referencias

- Anderson, S.A, Bickel G, Nord, M, y Price, C. (1990). Core indicators of nutritional state for difficult-to-sample populations. *Journal of Nutrition* 120, 1559s-1600s
- CONEVAL. (2010). Dimensiones de Seguridad Alimentaria: Evaluación Estratégica de Nutrición y Abasto. México.
- CONEVAL. (2015). Diagnóstico sobre alimentación y nutrición. Informe ejecutivo. México, DF.
- CONEVAL. (2016). Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social. Medición de la pobreza. México. Disponible en: https://www.coneval.org.mx/Medicion/MP/Paginas/Pobreza_2016.aspx
- CONEVAL. (2018). Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social. Evolución de las líneas de bienestar y de la canasta básica. Disponible en: <https://www.coneval.org.mx/Medicion/MP/Paginas/Lineas-de-bienestar-y-canasta-basica.aspx>
- FAO y OPS. (2017). Panorama de la Seguridad Alimentaria y Nutricional en América Latina y el Caribe. Santiago, Chile.
- FAO. (2012). Escala Latinoamericana y Caribeña de Seguridad Alimentaria (ELCSA): Manual de usos y aplicaciones.
- FAO. (2016). Panorama de la Seguridad Alimentaria y Nutricional en Mesoamérica 2016. Panamá.
- López, R. (2015). Pobreza alimentaria, seguridad alimentaria y consumo alimentario: una aproximación para el caso de México. *Revista Chilena de Economía y Sociedad*. Chile, 31-48.
- Salvador, G., De la Cruz, J., Pérez, C., y Aranceta, J. (2015). Escalas de evaluación de la seguridad alimentaria en el hogar. *Revista Española de Nutrición Comunitaria*. 21(Supl. 1), 270-276
- SEDESOL. (2016). Informe anual sobre la situación de pobreza y rezago social.

Torres, A J, Hernández-Cantú, M. (2017). Determinantes de la pobreza en México: una aproximación teórico-empírica. Políticas Sociales Sectoriales. Agosto 2016-Julio 2017 / Año.3, No. 3. México.

Sección 6. Química y Bioquímica de los Alimentos

Caracterización físicoquímica de una galleta libre de gluten

Rivera-Rivera M.^{*1};Valencia-Pérez M. P.¹;Carmona-García R.¹; Godínez Ruiz M.¹;
Carlos- Martínez G.¹.

¹Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica. Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tuxtepec. Avenida Dr. Víctor Bravo Ahuja s/n. Col. 5 de Mayo. C.P. 68350. Tuxtepec, Oaxaca, México.

e-mail:monica_ri_ri@hotmail.com

Resumen

El objetivo de este proyecto es la caracterización físicoquímica de una galleta libre de gluten. Se elaboró la galleta utilizando una mezcla de harinas no convencionales como son fibra de piña, arroz (*Oryza sativa* L.) y maíz (*Zea mays* L. *ssp. Mays*). Se determinó su químico proximal a diferentes tiempos durante un periodo de 50 días. Los resultados se analizaron mediante un análisis de ANOVA donde se observa que el mayor componente son los carbohidratos, en el caso de las grasas estas se ven incrementadas posiblemente por enranciamiento que sufren las grasas durante el periodo de almacenamiento. Con respecto a la humedad se mantuvo en un rango de 5.1 a 5.5% probablemente por el tipo de materia prima utilizada. Con los resultados obtenidos se pretende ofrecer un alimento que responda a cuestiones de salud como lo es la alergia al trigo o la enfermedad celiaca y el aprovechamiento de los residuos agroindustriales de la piña.

Palabras clave: Gluten, celiaca, gliadinas, glutenina

Abstract

The objective of this project is the physicochemical characterization of a gluten-free cookie. The biscuit was elaborated using a mixture of unconventional flours such as pineapple fiber, rice (*Oryza sativa* L.) and corn (*Zea mays* L. ssp *Mays*). Its proximal chemical was determined at different times during a period of 50 days. The results were analyzed by means of an ANOVA analysis where it is observed that carbohydrates are the major component, in the case of fats these are possibly increased by rancidity suffered by fats during the storage period. Regarding humidity, it was maintained in a range of 5.1 to 5.5%, probably due to the type of raw material used. With the results obtained it is intended to offer a food that responds to health issues such as wheat allergy or celiac disease and the use of pineapple agroindustrial waste.

Keywords: Gluten, celiac, gliadins, glutenin

1. Introducción

1.1 Cereales

Los cereales han jugado un papel muy importante en la historia de la civilización, y son la base de la nutrición en gran parte del mundo, ocupando un lugar importante en la pirámide nutricional. La alimentación de muchos pueblos a lo largo de la Historia se ha sustentado de forma mayoritaria en las cosechas de cereales. Son fuente de energía y se pueden consumir de muy diferentes formas; el grano entero, en forma de harinas y en formas de bebidas. Sin embargo, pese a los beneficios que reportan a la salud estos pueden causar alergias e intolerancias alimenticias, siendo de especial interés la intolerancia o sensibilidad al gluten produciendo una enfermedad autoinmune frecuente y compleja, cuya principal localización es el intestino, constituyendo la Enfermedad Celiaca (Hernández *et al.*, 2011).

1.2 Gluten

El gluten representa casi un 80% de las proteínas que se encuentran en el trigo (*Triticum*), centeno (*Secale cereale*), algunas variedades de avena (*Avena sativa*) y está compuesta de gliadina (proteína que confiere flujo viscoso a la masa) y glutenina (confiere elasticidad y extensibilidad a la masa). El gluten es responsable de la elasticidad de la masa de harina, lo que permite su fermentación, así como la consistencia elástica y esponjosa de los panes y masas horneadas (Mamani y Molina, 2016). La eliminación del gluten, especialmente en las formulaciones de pan, origina masas líquidas que generan panes con textura disgregable y otros defectos asociados al color y sabor. Por ello, la fabricación de productos de panificación libre de gluten requiere el uso de ingredientes poliméricos que mimeticen la funcionalidad del gluten durante el proceso de panificación.

Las gliadinas son prolaminas (compuestos con abundancia de glutamina y prolina) que tienen propiedades inmunotóxicas, sobre todo la alfa gliadina, un péptido de 33 aminoácidos que resiste la acción de las proteasas del intestino humano (Hernández *et al.*, 2011). Abarcan desde diarrea en los casos más frecuentes hasta osteoporosis en los casos más severos. Al ingerir alimentos que contienen gluten, el sistema inmunológico del enfermo genera una respuesta inadecuada de los linfocitos T en el intestino delgado, lo que produce una inflamación crónica de la mucosa del yeyuno y daños en las vellosidades intestinales las cuales son las responsables de la absorción de los nutrientes, por lo que su atrofiamiento se traduce en una mala absorción de los nutrientes, ocasionando carencias nutricionales como anemia, déficit de vitaminas, hipocalcemia, etc., a pesar de que el enfermo siga una alimentación equilibrada (Picon, 2014).

1.3 Celiaca

La enfermedad celíaca (EC) se caracteriza por una inflamación crónica de la mucosa del intestino delgado por intolerancia al gluten, que resulta en atrofia vellositaria, malabsorción y síntomas clínicos que pueden manifestarse en la niñez y la adultez (Cerezal, 2011). Una dieta sin gluten equivale a la eliminación, en cualquier tipo de alimentos del: trigo, avena, centeno y cebada, así como sus harinas. El celíaco debe basar su dieta en alimentos naturales: legumbres, carnes, pescados, huevos, frutas, verduras, hortalizas y cereales sin gluten, tales como arroz y maíz. El desarrollo de productos seguros para la población celiaca es un campo extenso de estudio, pues se ha identificado que alrededor del 3% de la población mundial padece esta patología (Hoyos, 2015).

Entre los cereales considerados aptos para ser consumidos por la población celíaca (maíz, arroz, sorgo) y que han sido objetos de estudios para intentar sustituir al trigo en la formulación de productos panificados (Sánchez *et*

al., 2008), adicionados con fibras, antioxidantes y/o minerales con la finalidad de mejorar su aceptación sensorial y propiedades funcionales potenciales.

1.4 Galleta

Las galletas son productos de consistencia más o menos dura y crocante, de forma variable, obtenidas por una mezcla de harina, grasas comestible y agua, adicionada o no con azúcares y otros ingredientes debidamente autorizados, sometido a un proceso de amasado y posterior tratamiento térmico, caracterizado por su bajo contenido de agua (Villalta, 2012). Las galletas son actualmente uno de los productos de gran demanda y de bajo costo de producción, que por ser un alimento que permite saciar el hambre, se considera un buen vehículo para hacer llegar a la población una propuesta alimenticia de alto valor nutritivo (Mamani y Molina, 2016).

1.5 Maíz

El maíz (*Zea mays L. ssp. Mays*), perteneciente a la familia de las gramíneas, es una planta anual de gran talla, dotada de un amplio sistema radicular fibroso. El maíz es en la actualidad el cereal con mayor producción mundial, tanto al trigo como al arroz. En el grano de maíz existen tres partes bien diferenciadas: pericarpio, endospermo y germen. El principal componente es el endospermo, con aproximadamente 85% en peso, seguido por el germen, 10% en peso, y finalmente el pericarpio, 5% en peso (León, 2007).

El grano y la harina completa de maíz se consideran buenas fuentes de energía principalmente por su alto contenido en hidratos de carbono (almidón), mientras que las proteínas y la fibra dietética son también componentes importantes, aunque son pobres en minerales. La molienda por vía seca se obtiene principalmente la harina de maíz y proporciona a las masas capacidad de absorción de agua sin aportar firmeza a la misma. La utilización de harina de maíz en panificación es limitada por carecer de las proteínas que componen al

gluten. Por este motivo no se puede lograr el volumen y la calidad de textura que se obtiene con la harina de trigo (León, 2007), por lo cual debe combinarse con harinas panificables (Hoyos, 2015).

1.6 Arroz

El arroz (*Oryza sativa* L.) es una planta anual, de la familia de las gramíneas. El consumo de arroz blanco en México actualmente ocupa el cuarto lugar en la dieta de granos básicos el cual es de 7.0 kg per cápita después del maíz, frijol y trigo (Ortega, 2014). El arroz como el resto de los cereales, es rico en hidratos de carbono complejos, es fuente de proteínas y vitaminas B, y no contiene colesterol. El hierro, el fósforo, el potasio y el magnesio son los minerales más importantes de este cereal.

El arroz además de consumirse como grano entero puede ser ampliamente usado en la fabricación de harinas mediante la molienda seca. Las harinas de arroz tienen la misma composición química que los granos de donde proceden (León, 2007). Sin embargo, las harinas integrales de arroz tienen una vida media muy corta debido a la presencia de lipasa y lipooxigenasa que liberan y oxidan ácidos grasos, confiriendo rancidez y sabor amargo a los productos. En los últimos años el uso de la harina de arroz en panificación se ha ido incrementando progresivamente, motivado por el aumento de la incidencia de la celiaca. Los únicos cereales considerados seguros son el arroz y el maíz.

1.7 Piña

La piña (*Ananas Comosus*) pertenece a la familia bromeliáceas, una familia muy grande de las regiones tropicales de América (una especie es originaria de África). De acuerdo con Salinas *et al.*, (2017) datos emitidos por la SIAP, en 2015 México obtuvo una producción total de 840,486 Ton; Veracruz es el principal estado productor (552,396 Ton), le sigue Oaxaca con 112,573 Ton, y en tercer lugar Tabasco con 8% de la producción que obtiene Veracruz.

Durante el procesamiento agroindustrial se generan residuos sólidos de esta fruta correspondientes al corazón, la corona y la cáscara, equivalente a un 45% del total de cada fruta procesada (Montoya y Duran, 2017). La utilización de estos residuos como una fuente alternativa de materiales de mayor valor agregado, resultaría ventajosa desde el punto de vista económico y ambiental. Los polvos obtenidos a partir de subproductos de esta fruta ha sido de interés general ya que presentan alto contenido de fracciones de fibra dietética soluble e insoluble, a las que se han relacionado con muchos beneficios para la salud (Hoyos, 2015) y los cuales son útiles y aplicables para enriquecer los alimentos, reemplazar harinas, aumentar la de fibra dietética de alimentos, desarrollo de productos saludables bajos en calorías, colesterol y grasa (Vega, 2017), como es el caso de las galletas. En cáscara de piña se ha encontrado valores de fibra dietética de 70,6%, asociada a un elevado contenido de miricetina, principal polifenol identificado y que puede ser el responsable de la actividad antioxidante encontrada en este subproducto (Ramírez y Pacheco, 2009).

1.8 Vida útil de un alimento

La vida útil de un alimento es el periodo en el que conserva la calidad alimenticia y sus características sensoriales. Los empaques permiten al alimento prolongar el tiempo de vida de anaquel, mejor rendimiento, mantiene su sabor y ofrece una mejor presentación (López, 2017). Actualmente, se cuenta con varios tipos de empaques clasificados según su material, su utilización varía dependiendo del producto a empacar y sus características de almacenamiento o anaquel. Los polietilenos (PE) son polímeros termoplásticos, formados por la polimerización de etileno, y es el plástico más importante usado en envases y embalajes. Se clasifica en tres grupos principales: PEBD (polietileno de baja densidad): 0,910 a 0,925 g cm⁻³, PEMD (polietileno de densidad media): 0,926 a 0,940 g cm⁻³ y PEAD (polietileno de alta densidad): 0,941 a 0,965 g cm⁻³; se caracterizan por su excelente flexibilidad, buena resistencia al impacto,

maquinabilidad, resistencia a aceites, resistencia a químicos, sellabilidad al calor (Canahua, 2017).

El objetivo de este proyecto es la caracterización fisicoquímica de una galleta libre de gluten enriquecida con fibra de piña (*Ananas comosus*). Se elaboró la galleta utilizando una mezcla de harinas no convencionales como son fibra de piña, arroz (*Oryza sativa* L.) y maíz (*Zea mays* L. *ssp. Mays*).

2. Materiales y Métodos

2.1 Materiales

Harina de arroz, harina de maíz, harina de fibra de cáscara de piña, sal, saborizante (Sabor coco), mantequilla, charolas, espátulas, moldes, horno, báscula, bolsas de polietileno y celofán.

2.2 Método

Elaboración de galleta sin gluten

La galleta se elaboró de acuerdo a la siguiente formulación (8-40-60) que corresponde al porcentaje de harina de fibra de cáscara de piña, harina de arroz y harina de maíz. Para calcular el porcentaje de los ingredientes de la galleta se tomo como base la suma de la harina de arroz más la de harina de maíz como el 100%.

Se incorporaron todos los ingredientes en una mesa previamente limpia y desinfectada formando una mezcla homogénea, posteriormente se pesaron 5 g de la mezcla y se colocaron en moldes de 2 cm. de diámetro. Posteriormente las galletas se colocaron en charolas metálicas y se introdujeron en un horno para su cocción por 20 min. a una temperatura de 120 °C. Las galletas se dejaron enfriar para después proceder a realizar las pruebas pertinentes y su empaquetamiento.

Empaquetado y almacenaje de galletas sin gluten

Se elaboraron 150 galletas, las cuales se empaquetaron en 5 bolsas de polietileno cada bolsa contenía 30 galletas. Las bolsas se conservaron a temperatura ambiente (30 °C) por un periodo de 50 días.

Análisis químico proximal de galletas sin gluten

Se evaluó el químico proximal de la galleta de acuerdo a los métodos de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1997). Determinación de humedad, cenizas, grasas, proteínas y carbohidratos por diferencia de peso. Los resultados fueron analizados utilizando el paquete MINITAB, versión 17.

3. Resultados y discusión

Los resultados de los análisis químico proximal en el día uno, día veinticinco y día cincuenta (T_1 , T_{25} , T_{50}) de la galleta se indican en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición químico proximal en g/100 B.H. de la galleta en el día uno (T_1).

Análisis Químico Proximal	
Componente %	Galleta B.H
Humedad	5.11±0.09
Cenizas	0.75±0.15
Grasas	19.98±0.70
Proteína	7.78±0.13
Carbohidratos	66.38±0.00

Los resultados son el promedio \pm desviación estándar de análisis realizado por triplicado.

En la Tabla 1 se observa que el componente que se encuentra en mayor proporción son los carbohidratos con el 66.38%, seguido de grasas, proteínas, humedad y cenizas. Con respecto al porcentaje de humedad el valor obtenido esta por arriba de los valores reportados por Pareyt y Delcour (2008), que indican que la humedad de una galleta debe de estar en un rango de 1-5%.

Tabla 2. Composición química proximal en g/100 B.H. de la galleta en el día 25 (T_{25}).

Análisis Químico Proximal	
Componente %	Galleta B.H
Humedad	5.19 \pm 0.10
Cenizas	0.76 \pm 0.12
Grasas	20.31 \pm 0.40
Proteína	7.69 \pm 0.11
Carbohidratos	66.05 \pm 0.10

Los resultados son el promedio \pm desviación estándar de análisis realizado por triplicado.

En la Tabla 2 se observa que el %humedad y el %grasa aumentó con respecto a los datos de la Tabla 1, esto podría deberse al tipo de empaque y a las condiciones climáticas que pueden ser factores determinantes en la vida de anaquel de la galleta.

Tabla 3. Composición químico proximal en g/100 B.H. de la galleta en el día 50 (T₅₀).

Análisis Químico Proximal	
Componente %	Galleta B.H
Humedad	5.21±0.12
Cenizas	0.75.±0.03
Grasas	20.98±0.20
Proteína	7.01±0.11
Carbohidratos	66.05±0.04

Los resultados son el promedio ± desviación estándar de análisis realizado por triplicado.

En la Tabla 3, el porcentaje de humedad y de grasas se ve aumentado con respecto a los valores obtenidos en la Tabla 1. En el caso del porcentaje de grasas pudiera deberse a que las grasas provocan el enranciamiento o rancidez de las galletas, lo que provocó un aumento en el porcentaje de grasas. En relación al porcentaje de humedad se muestra un aumento, pudiéndose deber a factores como manejo de la muestra, tipo de empaque y el periodo de almacenamiento.

4. Conclusiones

En general el componente que se encuentra en mayor porcentaje son los carbohidratos, seguido de grasas, proteínas, humedad y cenizas.

El porcentaje de humedad de la galleta sin gluten se encuentra en un rango de 5.11 a 5.21%, ligeramente por arriba de lo establecido por Pareyt y Delcour, 2008, que es de 1-5% de humedad.

El porcentaje de grasas se ve incrementado, esto podría deberse a la rancidez o enranciamiento de las galletas en el día 50, provocado por la humedad o el aire.

5. Referencias

- Canahua, S. D. A. y Ronald, R. M. (2017). Construcción y evaluación de un equipo de medición de permeabilidad al oxígeno para envases flexibles.
- Cerezal, M. P., Urtuvia, G. V., Ramírez, Q. V., y Arcos, Z. 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.
- Hernández-Lahoz, C., Mauri-Capdevila, G., Vega-Villar, J., y Rodrigo, L. (2011). Neurogluten: patología neurológica por intolerancia al gluten. *Revista de Neurología*. 53(5), 287-300.
- Hoyos, S. D., Peña, P., y Giselle, A. (2015). Utilización de harinas compuestas de maíz y garbanzo adicionadas con fibra de cáscara de piña para sustitución de harina de trigo en productos de panificación [recurso electrónico](Doctoral dissertation).
- León, A. E., Rosell, C. M., Gómez, P. M., Brites, C., Haros, M., Trigo, M. J., y Collar, C. (2007). De tales harinas, tales panes. Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica. ISEKI-Food.

- López, P. H. P. (2017). Establecimiento de un sistema de inspección y ensayo por variables y atributos del laboratorio de extrusión en una empresa de empaques flexibles (Doctoral dissertation, Universidad de San Carlos de Guatemala).
- Mamani, D. E. M., y Molina T. C. G. (2016). Calidad proteica y grado de satisfacción de la galleta elaborada a base de mezclas de harina de tarwi, cuchucho, cañihua y gluten, Puno, julio–octubre 2015.
- Montoya-Pérez, L., y Durán-Herrera, J. E. (2017). Producción de Hidrógeno a partir de la fermentación de residuos agroindustriales de la piña. *Revista Tecnología en Marcha*. 30(3), 106-118.
- Ortega, A. R. (2014). Manual para la producción de semilla de arroz.
- Pareyt, B., y Delcour, J. A. (2008) The role of wheat flour constituents, sugar and fat in low moisture cereal based products: A review o sugar snap cookies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 48(4), 824-839.
- Picón, P. J. (2014). *Estudio de la influencia del tipo de harina en el desarrollo de galletas sin gluten*. Trabajo de fin de Máster. E.T.S. Ingenierías Agrarias, Campus de la Yutera, Universidad de Valladolid, España. 33 p.
- Ramírez, A., y Pacheco, D. E. (2009). Propiedades funcionales de harinas altas en fibra dietética obtenidas de piña, guayaba y guanábana. *Interciencia*. 34(4), 293-298.
- Salinas-Cruz, E., Espinosa-Paz, N., Martínez-Sánchez, J., y Cadena-Iñiguez, P. (2017). Análisis competitivo de los cultivos de piña (*Annanas comosus* L.), Maíz (*Zea mays* L.) y Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) En la Frailesca, Chiapas, México. *Agroproductividad*, 10(9), 101-105.
- Sánchez, H. D., González, R. J., Osella, C. A., Torres, R. L., y De la Torre, M. A. G. (2008). Elaboración de pan sin gluten con harinas de arroz extrudidas. Elaboration of bread without gluten from extruded rice flours. *CYTA-Journal of Food*. 6(2), 109-116.

- Vega, C. O. A. (2017). *Extracción y caracterización estructural de un PHA, obtenido de residuos de cáscaras de yuca y piña mediante procesos de fermentación; y su aplicación en la fabricación de fibras por electrospinning*. Tesis de Doctorado. Universidad de Antioquia, Medellín. 163 p.
- Villalta, J. G. (2012). *Propuesta para la elaboración de galletas como colación escolar a base de harina de soya, maíz y okara*. Doctoral dissertation, Universidad de Guayaquil. Facultad Ingeniería Química.

Caracterización por espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier de aislados proteicos de *Lupinus angustifolius*

Lara-Rivera, A.H.¹, García-Alamilla, P.², Lagunes-Gálvez, L.M.² Rodríguez-Macias, R.¹, García-López, P.M.¹, Zamora-Natera, J.F.¹

¹Centro Universitario Ciencias Biológicas Agropecuarias. Departamento de Botánica y Zoología. Universidad de Guadalajara. Zapopan, Jalisco. México. C.P. 45110. ²División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carretera Villahermosa-Teapa Km 25, Ra. La Huasteca, 2da secc., Centro, Tabasco, México. C.P. 86280.

e-mail:pedro.garciaa@ujat.mx

Resumen

La soya en el mundo representa la principal fuente de proteínas, por lo que la industria alimentaria está en búsqueda de nuevas fuentes de proteínas vegetales. Entre las especies más probables se encuentran las leguminosas del género *Lupinus*. El objetivo de investigación fue caracterizar por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier aislados de *Lupinus angustifolius* (Haags Blaue, Sonate, Probor, Borlu, Boregine and Boruta) cultivadas en Jalisco, México. Las variedades de *L. angustifolius* fueron proporcionadas por la compañía Saatzucht Steinach GmbH. Se utilizó un Perkin Elmer modelo Spectrum One, empleando un ATR de diamante. Las muestras fueron analizadas en 4000-400 cm^{-1} con 16 scans y resolución de 4 cm^{-1} . Las características vibracionales se compararon con albúmina. Las señales principales de absorción infrarroja en los aislados coinciden con las de albúmina con excepción a 1162 cm^{-1} . El espectro mostró vibración de extensión C=O de amida I y vibraciones de flexión N-H, vibración de extensión C-N y del C-C de Amida II, además de Amida III y vibraciones de extensión asimétrica y simétrica de PO_2^- de ácidos nucleicos. En la región de huella dactilar se aplicó la segunda derivada. En el análisis se ubicaron picos en albúmina que no están presentes en los aislados y de igual forma en

Boregine con respecto a los otros aislados. Picos identificados para Boregine a 1704, 1689, 1640, 1626 cm^{-1} y no encontrados en otros aislados de *Lupinus*, corresponden a la banda de Amida I de proteínas y enlaces de deformación de agua H-O-H, así como asociados a extensión carbonilo. FT-IR fue aplicada para encontrar diferencias y similitudes entre albúmina y aislados proteicos de *Lupinus*, mostrando tener potencial para la identificación de Amida I, II y III y asociados.

Palabras clave: *Lupinus angustifolius*, aislados proteicos, espectroscopia FT-IR.

Abstract

Soy in the world represents the main source of protein, however, the food industry is in search of new sources of vegetable proteins. Among the most likely species are the legumes of the genus *Lupinus*. The objective of the research was to characterize by infrared spectroscopy with Fourier transform (FT-IR) isolated from six varieties of *Lupinus angustifolius* (Haags Blaue, Sonate, Probor, Borlu, Boregine and Boruta) cultivated in Jalisco, Mexico. The varieties of *L. angustifolius* were provided by the company Saatzucht Steinach GmbH. For the characterization, a Perkin Elmer Spectrum One model was used, using a diamond ATR. Samples were analyzed in 4000-400 cm^{-1} with 16 scans and resolution of 4 cm^{-1} . The vibrational characteristics of the functional groups were compared with albumin. The main signals of infrared absorption in the isolates coincide with those of albumin with the exception of a peak at 1162 cm^{-1} . The spectrum showed vibration of C = O extension of amide I and N-H bending vibrations, C-N extension vibration and Amida II C-C vibration, in addition to Amida III and vibrations of asymmetric and symmetric extension of PO_2^- of nucleic acids. In the fingerprint region, the second derivative was applied. In the analysis, albumin peaks were located that are not present in the isolates and in the same way in Boregine with respect to the other isolates. Likewise, peaks identified for Boregine at 1704, 1689, 1640, 1626 cm^{-1} and not found in other *Lupinus* isolates, correspond to the Amida I band of proteins and water deformation bonds H-O-H, as well as associated with carbonyl extension. FT-IR was applied to find differences and similarities between albumin and protein isolates of *Lupinus*, showing potential for the identification of Amida I, II and III and associated.

Keywords: *Lupinus angustifolius*, aislados proteicos, espectroscopia FT-IR.

1. Introducción

La soya es a nivel mundial la principal fuente de proteína, sin embargo, la industria alimentaria se encuentra en la búsqueda de nuevas fuentes de proteínas de origen vegetal de calidad nutricional y características funcionales (Lara *et al.*, 2017; Schumacher *et al.*, 2011; Saastamoinen, 2013). Entre las especies con mayor posibilidades de competir se encuentran las leguminosas del género *Lupinus* (López y Fuentes, 1986; Lizarazo *et al.*, 2014). Por su alto contenido de proteínas y por las nuevas variedades con bajo contenido de alcaloides, el cultivo se ha extendido a otras regiones del mundo para su empleo en la nutrición animal y humana (Sujak *et al.*, 2006; Yeheyis *et al.*, 2012; Lizarazo *et al.*, 2014). Estas especies son llamadas lupinus dulce y la variedad predominante es el *Lupinus angustifolius*. Los mayores beneficios del lupinus dulce incluye: disminución de la presión arterial, mejora en la función del intestino, estimulación del crecimiento de microbiota del colon, menor riesgo de cáncer de colon, control de los niveles de glucosa y mejor en la salud cardiovascular (Rajesh *et al.*, 2015). De esta manera, la obtención de aislados proteicos de lupinus mediante la precipitación isoelectrica es una alternativa para la producción comercial de ingredientes alimentarios. En la actualidad, la industria alimentaria ha mostrado un creciente interés por los aislados proteicos, debido a sus propiedades funcionales como son: capacidad de absorción de agua, capacidad de absorción de aceite, emulsificación, espumado y gelificación. Estas propiedades son esenciales para determinar los posibles usos de los mismos como ingredientes alimentarios. Dichas propiedades podrían ser consideradas como el resultado de los distintos cambios conformacionales o de las distintas interacciones que tienen lugar entre los componentes del alimento, tales como las interacciones entre proteínas, proteínas y polisacáridos, lípidos, compuestos fenólicos ó ácido fítico (Patane *et al.*, 2004). Además constituyen la base funcional de diversos productos principalmente de bajo contenido proteico y alto contenido de grasa. Sin embargo, hay poca información disponible sobre

caracterización vibracional de aislados proteicos de lupinus. En investigaciones se ha reportado que el uso de la espectroscopía en el infrarrojo mediano ha demostrado ser una herramienta útil para el análisis cualitativo y cuantitativo de muestras complejas, sin la necesidad de etapas previas de separación, proporcionando un mapeo de la composición química y estructural de los mismos. Además, es un detector casi ideal para ser acoplado a sistemas con flujo (Edzuan, Majid y Bong, 2015; Gallignani, Torres, Ayala y Brunetto, 2008).

El objetivo de la presente investigación fue caracterizar por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier los aislados proteicos de seis variedades obtenidos de *Lupinus angustifolius* cultivados en el estado de Jalisco, México.

2. Materiales y Métodos

2.1 Material vegetal

Se utilizaron semillas de seis variedades de *L. angustifolius* (Haags Blaue, Sonate, Probor, Borlu, Boregine y Boruta) las cuales fueron proporcionadas por la compañía alemana Saatzucht Steinach GmbH dedicada al mejoramiento genético. Estas semillas se sembraron y cultivaron durante el periodo otoño/invierno de 2014/2015 bajo condiciones de riego en suelos agrícolas del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara en Zapopan, Jalisco, México. El sitio está ubicado en las coordenadas geográficas 20° 44' 47" de latitud norte y 103° 30' 43" W a una altitud de 1.523 msnm. Se caracteriza por un clima templado húmedo con lluvias en verano, con precipitaciones que van desde 700 a 1400 mm por año y una temperatura media anual de 12.0 a 18.0 °C, con la presencia de heladas (García, 1988).

2.2 Obtención de aislados proteicos

Después de cosechar las semillas cada variedad se molió por separado con un molino de cuchillas (IKA) hasta obtener una harina con un tamaño de

partícula de 2 mm. La harina obtenida se sometió a un proceso de desgrasado mediante extracción tipo Soxhlet, utilizando como solvente hexano (Vioque *et al.*, 2001). La muestra desgrasada se utilizó para la obtención de los aislados proteicos. El aislado de proteínas se llevó a cabo mediante el método de precipitación isoeléctrica (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2007). Se realizó una dispersión de 100 g L⁻¹ en Na₂SO₃ (0.025%) y se ajustó a pH 9.0 usando NaOH (1 N). Inmediatamente se agitó durante una hora a temperatura ambiente y fue centrifugada a 10,000 rpm durante 10 min. El sobrenadante se acidificó a un pH 4.5 usando HCl (1 N). Éste se sometió a centrifugación a 10,000 rpm durante 10 min a 4 °C, recuperando ahora el precipitado. Un proceso de lavado con agua destilada se aplicó al precipitado y se utilizó NaOH (1 N) para llevarlo a un pH de 7. El precipitado fue liofilizado y almacenado a 4 °C.

2.3 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier.

El estudio de espectroscopía de Infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR por sus sigla en Inglés) se realizó en un Perkin Elmer Spectrum One model, con un ATR de diamante controlado por software para Windows ©. Las muestras de los aislados proteicos de las seis variedades fueron analizadas en la región de 4000-400 cm⁻¹ con un barrido de 16 scans por espectro a 4 cm⁻¹ de resolución. Los datos generados en el espectro fueron exportados en formato ASCII y analizado con el software Origin Pro 8.

3. Resultados y Discusión

Análisis cualitativo de espectro IR de diferentes aislados proteicos de Lupinus

Los cambios en características vibracionales de los grupos funcionales fueron analizadas utilizando FT-IR para los seis aislados proteicos de Lupinus y se comparan con una muestra de albúmina grado reactivo en la Figura 1. Los espectros normales entre los seis aislados y la albúmina presentaron similitud en la posición de las bandas y picos de mayor intensidad a 3277, 1634, 1536, 1394,

1232 y 1075 cm^{-1} . La banda ancha señalada con 3276 cm^{-1} estaría asociada al grupo de las aminas y las subsecuentes con 2962, 2931 y 2874 cm^{-1} en función del número de hidrógenos que el nitrógeno tenga. El espectro de la albúmina mostró 12 señales que se diferencian en función de su intensidad, destacando los previamente mencionados, además de un hombro entre 750 y 500 cm^{-1} . En el espectro de albúmina se presentó una señal en un pico a 1162 cm^{-1} , no encontrándose en los espectros de los aislados de *Lupinus*, el cual, está asociada posiblemente a un modo de extensión C-O de grupos de serina, treonina y tirosina de proteínas (Movasaghi *et al.*, 2008). En la Tabla 2 se muestran todas las frecuencias y sus asignaciones correspondientes a la albúmina del espectro de la Figura 1 y con el que se comparan los espectros de *Lupinus*.

Tabla 2. Asignación de las frecuencias del espectro FTIR en albúmina

Frecuencia (cm^{-1})	Modo vibracional
3276	Simétrico O-H extensión
2962	Asimétrico CH_3 extensión
2931	C-H extensión, Asimétrico CH_2 extensión
2874	Simétrico CH_3 extensión, C-H, N-H extensión
1634	C=C del Uracilo, C=O extensión
1536	C=N, N-H, C=C extensión
1452	Asimétrico CH_3 flexión
1394	Simétrico CH_3 flexión
1308	Amida III

1232	Asimétrico (PO_2^-) extensión, Amida III
1162	C-OH extensión asociado a residuos de proteína celular
1075	Simétrico (PO_2^-) extensión

En la región de vibración de extensión en albúmina se localizan cuatro señales, destacando por su intensidad a 3277 cm^{-1} , la cual, es apreciada de igual forma en Boregine, a diferencia de los otros aislados donde la señal es de mucha menor intensidad. En esta región la señal corresponde a un modo de vibración de extensión simétrico OH, mientras que las otras señales a 2958 , 2931 y 2874 cm^{-1} corresponden a vibraciones C-H, y de bandas de vibraciones asimétricas y simétricas del grupo CH_3 y vibración asimétrica del grupo CH_2 . En la región de doble enlace del espectro infrarrojo se encontraron dos picos a 1634 y 1536 cm^{-1} presentes en todos los aislados de Lupinus y en albúmina, que corresponden a vibración de extensión C=O de amida I y vibraciones de flexión N-H, vibración de extensión C-N y del C-C de Amida II (Rajesh et al., 2015; Liu et al., 2014). Siendo estas bandas más intensas en albúmina y en el aislado Boregine.

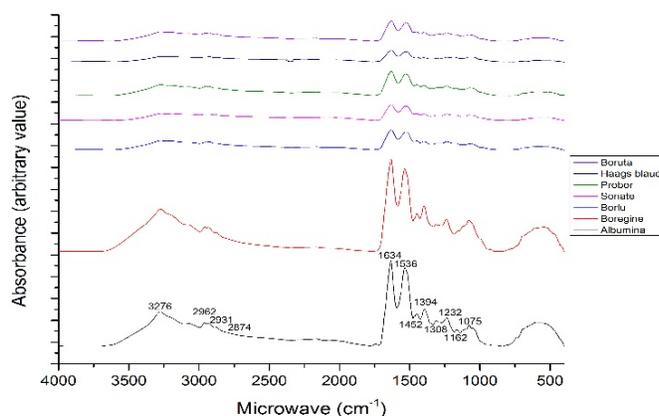


Figura 1. Espectro de FR-IR para los seis aislados proteicos de *Lupinus* cultivados en México.

En la región de huella dactilar ($1500-600\text{ cm}^{-1}$), el análisis por FT-IR provee información concerniente a la estructura secundaria de las proteínas (Sivam *et al.*, 2013). En esta región en el espectro de albúmina se identificaron seis picos (Cuadro 3), encontrándose también en los aislados de lupinus, diferenciándose por la intensidad de los picos, principalmente Boregine. En esta región se identifica vibración de amida III a 1452 , 1309 y 1232 cm^{-1} (Liu *et al.*, 2014, Movasagui *et al.*, 2008), a 1452 cm^{-1} corresponden a vibraciones de flexión asimétrica del grupo CH_3 , mientras que a 1232 y 1079 cm^{-1} a vibraciones de extensión asimétrica y simétrica de PO_2^- de ácidos nucleicos. En esta región el espectro resulta complejo, pueden presentarse picos ocultos o traslapados y por la definición de las señales es conveniente aplicar un análisis de la segunda derivada del espectro infrarrojo para encontrar picos ocultos dentro del mismo intervalo.

Análisis de la segunda derivada del espectro infrarrojo

El análisis de la segunda derivada del espectro infrarrojo tiene como finalidad encontrar diferencias en los espectros de FT-IR. Los espectros de la segunda derivada de los aislados se presentan en la Figura 2 y 3. Muchos picos ocultos o traslapados fueron divididos en dos o más y otros encontrados en la región de exploración dentro del intervalo de $1800-1500\text{ cm}^{-1}$ (Figura 2). En el análisis de la segunda derivada se ubicaron picos en albúmina que no están presentes en los aislados y de igual forma en Boregine con respecto a los otros aislados. A 1629 cm^{-1} se presenta un pico en albúmina que no está presente en ningún aislado de proteína en este estudio, incluyendo Boregine, que es asignado a la región Amida I (Movasagui *et al.*, 2008), además a 1520 , 1409 , 1394 cm^{-1} presente en albúmina y Boregine pero ausente en los demás aislados proteicos de lupinus asignados a Amida II y torsión simétricas del grupo metil de

proteínas. Una señal a 1714 cm^{-1} fue identificado en todos los aislados con excepción de Boregine y Albúmina asignados a vibración del grupo carbonilo C=O de tiamina (Movasagui *et al.*, 2008). Por otro lado picos identificados para Boregine a 1704, 1689, 1640, 1626 cm^{-1} y no encontrados en otros aislados de lupinus corresponden a la banda de Amida I de proteínas y enlaces de deformación de agua H-O-H, así como asociados a extensión carbonilo. Si bien hay mucha similitud entre Boregine y Albúmina no implica que sean iguales, diferenciándose principalmente por el pico a 1629 cm^{-1} y 1714 cm^{-1} previamente mencionado.

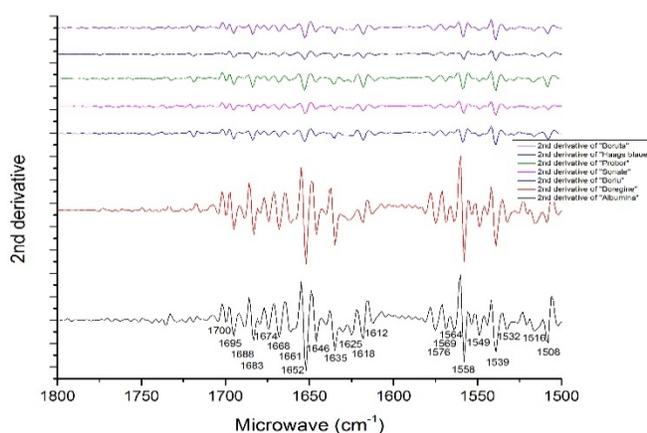


Figura 2. Segunda derivada del espectro de FT-IR de los aislados proteicos de *Lupinus* en el intervalo de $1800\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$.

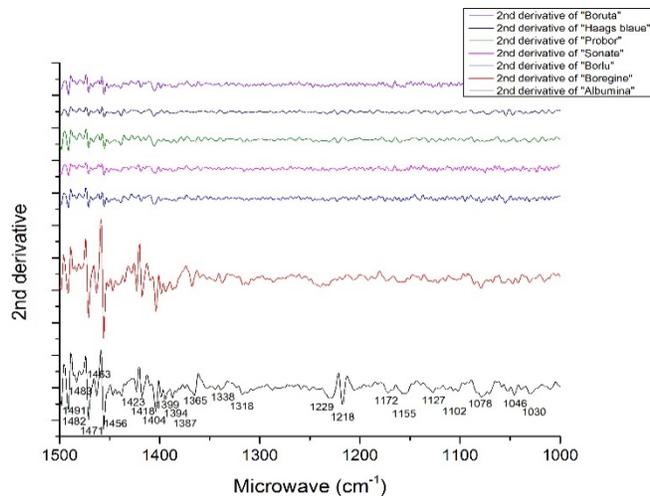


Figura 3. Segunda derivada del espectro de FT-IR de los aislados de *Lupinus* en el intervalo de 1000-1500 cm^{-1}

4. Conclusiones

La composición química proximal de la harina mostró diferencia significativa entre las variedades de *L. angustifolius* evaluadas, con valores de proteína de 28.40 en Boruta a 36.61% en Probor. La espectroscopia de FT-IR se aplicó para encontrar similitudes y diferencias entre albúmina y aislados proteicos de *Lupinus*, encontrándose similitudes con excepción de un pico a 1162 cm^{-1} , resaltando el potencial de la técnica para la identificación de amida I, II y III y de enlaces asociados.

5. Referencias

- Edzuan, A. M. F., Majid, N. A. A., y Bong, H. L. (2015). Physical and Chemical Property Changes of Coffee Beans during Roasting. *American Journal of Chemistry*. 5(3A), 56–60.
- Gallignani, M., Torres, M., Ayala, C., y Brunetto, M. (2008). Determinación de cafeína en café mediante espectrometría infrarroja de transformada de Fourier. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad de Zulia*. 31(2), 159–168.

- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 4ta. Edición, Offset Larios. México.
- Lara-Rivera, A. H., García-Alamilla, P., Lagunes-Gálvez, L. M., Rodríguez-Macías, R., García-López, P. M., y Zamora-Natera, J. F. (2017). Functional Properties of *Lupinus angustifolius* Seed Protein Isolates. *Journal of Food Quality*, 3.1-8.
- Liu, X., Zhang, L., Wei, S., Chen, S., Ou, X., and Lu, Q. (2014). Overoxidized polyimidazole/graphene oxide copolymer modified electrode for the simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, uric acid, guanine and adenine. *Biosensors and Bioelectronics*. 57, 232-238.
- Lizarazo, C.I., Lampi, A., Liu, J., Sontag-Strohm, T., Piironen, V. y Stoddard, F. L. (2014). Nutritive quality and protein production from grain legumes in a boreal climate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 95, 2053–2064.
- Lopez-Bellido, L. y Fuentes, M. (1986). Lupin crop as an alternative source of protein. *Advances in Agronomy*. 40, 239-295.
- Martínez-Villaluenga, C., G. Urbano, J.M. Porres, J. Frías y, C. Vidal-Valverde. (2007). Improvement of food intake and nutritive utilization of protein from *Lupinus albus* var Multolupa protein isolates supplemented with ascorbic acid. *Food Chemistry*. 103, 944–951.
- Movasaghi, Z., Rehman, S., y Rehman, D.I. (2008). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*. 43(2), 134-179.
- Patanè, C., Lacoconi, E., y Raccuia, S. A. (2004). Physico-chemical characteristics, water absorption, soaking and cooking properties of some Sicilian populations of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 55(7), 547-554.

- Rajesh, T. S., Philips, M., Rao, K. S., y Reddy, N. (2015). Antioxidant activities and characterization of polysaccharides isolated from the seeds of *Lupinus angustifolius*. *Industrial Crops and Products*. 74, 950-956.
- Saastamoinen, M., Euroola, M. y Hietaniemi, V. (2013). The chemical quality of some legumes, peas, fava beans, blue and white lupins and soybeans cultivated in Finland. *Journal of Agricultural Science and Technology*. B. 3, 92-100.
- Schumacher, H., Paulsen, H. M., Gau, A. E., Link, W., Jürgens, H. U., Sass, O. y Dieterich, R. (2011). Seed protein amino acid composition of important local grain legumes *Lupinus angustifolius* L., *Lupinus luteus* L., *Pisum sativum* L. and *Vicia faba* L. *Plant Breeding*. 130, 156–164.
- Sivam, A. S., Sun-Waterhouse, D., Perera, C. O., y Waterhouse, G. I. N. (2013). Application of FT-IR and Raman spectroscopy for the study of biopolymers in breads fortified with fibre and polyphenols. *Food Research International*. 50(2), 574-585.
- Sujak, A., Kotlarz, A. y Strobel, W. (2006). Composition and nutritional evaluation of several lupin seeds. *Food Chemistry*. 98, 711-719.
- Vioque, J., Sanchez, V. R., Pedroche, J., Del Mar, Y. M. y Millán, F. (2001). Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados proteicos. *Grasas y aceites*. 52 (2), 127-131.
- Yeheyis, L., Kijora, C., Van Santen, E. y Peters, K. J. (2012). Sweet Annual Lupins (*Lupinus* spp.); Their Adaptability and Productivity in Different Agro-ecological Zones of Ethiopia. *Journal of Animal Science Advances*. 2, 201-215.

Cinética de degradación de los compuestos bioactivos del extracto de semillas annatto (*Bixa orellana* L.) a diferentes condiciones de almacenamiento

A.M Naranjo-Durán^{1*}, J. Quintero-Quiroz² y G.L. Ciro-Gómez¹

¹Programa de Ofidismo/Escurpionismo, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Sede de investigación universitaria SIU Calle 62 #52-59 torre 2 laboratorio 631; Universidad de Antioquia; Medellín-Colombia

²Diseño y Formulación de Medicamentos, Cosméticos y Afines, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Ciudad universitaria, Calle. 62 #52-59 Universidad de Antioquia; Medellín-Colombia.

e-mail: amaria.naranjo@udea.edu.co

Resumen

El extracto de las semillas de annatto es fuente de compuestos polifenólicos y carotenoides (bixina), denominados compuestos bioactivos (CB), sin embargo, su estabilidad disminuye por factores ambientales. Debido a esto, el objetivo de este estudio fue evaluar la degradación de los CB del extracto a diferentes condiciones de almacenamiento. Se utilizó un diseño experimental multifactorial categórico cuyos factores fueron: condición de almacenamiento (Luz/Oscuridad) y temperatura (6-25-37 °C), se realizó seguimiento cada 2 días durante 33 días; cuantificando los CB del extracto; las muestras almacenadas en oscuridad presentaron velocidades específica de degradación de los CB (K) menores que las muestras almacenadas en presencia de luz, del mismo modo las energías de activación, fueron aproximadamente 50% menores para las almacenadas en oscuridad. Según el análisis estadístico, los factores y su interacción lineal, tienen incidencia estadísticamente significativa sobre el contenido de fenoles totales al día 33; con entre la muestra almacenada a 6 °C y las otras temperaturas sobre el contenido de fenoles totales. Para la bixina, solo

la temperatura tiene incidencia significativa, mostrando que a 6°C hay una mayor cantidad al día 33. Concluyendo que, ambos factores estudiados, inciden sobre degradación de los CB del extracto, con condición adecuada de almacenamiento a 6 °C y en oscuridad.

Palabras clave: Annatto, estabilidad, compuestos bioactivos, bixina y fenoles totales.

Abstract

The extract of annatto seeds is an important source of polyphenolic and carotenoids compounds (bixin), bioactive compounds (BC), however, its stability decreases by environmental factors. The aim of this study was to evaluate the degradation of the BC from the extract to different storage conditions. We used a categorical multifactorial experimental design whose factors were: storage condition (light/dark) and temperature (6-25-37 °C). Follow-up was carried out every 2 days for 33 days; quantifying BC; The samples stored in darkness showed specific rates of degradation of the CB (K), lower than the samples stored in the presence of light, in the same way the activation energies, were approximately 50% lower for those stored in darkness. According to the statistical analysis, the factors and their linear interaction, have statistically significant incidence on the content of polyphenols at day 33; with difference between the sample stored at 6 °C and the other temperatures on the content of polyphenols. For bixin, only the temperature has significant incidence, showing that at 6 °C there is a greater amount per day 33; and concluded that, both factors, affect the degradation of the CB of the extract, with adequate storage condition at 6 °C and in darkness.

Keywords: Annatto, stability, bioactive compounds, bixin, poliphenols.

1. Introducción

La *Bixa orellana* L conocida comúnmente como achiote o annatto es un arbusto originario de las Antillas y de Suramérica, ampliamente cultivado por la pulpa rojo-naranja que cubre sus semillas, es utilizado en América latina y el caribe como pigmento natural en arroz, aceites y otros alimentos (Oboh et al., 2011). El extracto obtenido de sus semillas tiene una enorme aplicación en la industria alimentaria principalmente como colorante natural, destacándose su aplicación en productos como mantequillas, quesos, refrescos, productos de panadería y confitería (Taham et al., 2015); adicionalmente, este extracto es rico en diferentes fitoquímicos, principalmente carotenoides como la bixina, la cual corresponde al 80% de los carotenos totales ((Shahid-ul-Islam et al., 2016), y en menor proporción norbixina y otros con menor relevancia como cryptoxantina, luteína, zeaxantina y metilbixina; además posee compuestos polifenólicos (Viuda-Martos et al., 2012), tales como: hypolaetina, y ácido cafeico (Chisté et al., 2011). Adicionalmente una gran cantidad de propiedades biológicas han sido descritas en la literatura tales como actividades antimicrobianas, anti-fúngicas, antioxidantes, anti-inflamatoria y anticancerígena (Shahid-ul-Islam et al., 2016); la mayoría de estos fitoquímicos son los responsables de las propiedades biológicas del extracto de annatto.

Los carotenoides son pigmentos amarillos, rojos o anaranjados, conocidos por su actividad antioxidante y su gran potencial como colorantes naturales; se caracterizan por tener una estructura que presenta enlaces dobles conjugados, determinando su naturaleza insaturada, lo que explica su capacidad de provocar reacciones de auto-oxidación cuando están expuestos al ambiente y su capacidad de absorción de luz, etc. (Butnariu, 2016). Por otro lado, la importancia de los polifenoles radica en la reconocida capacidad antioxidante y antimicrobiana, contra microorganismos de importancia en la industria de alimentos, tales como: *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, la estabilidad de estos fitoquímicos puede

verse afectada por condiciones ambientales como temperatura y exposición a la luz y al oxígeno; es por esto que el objetivo de este estudio fue evaluar las condiciones de almacenamiento del extracto obtenido de las semillas de annatto, con el fin de estudiar la cinética de degradación de los compuestos biológicamente activos a diferentes condiciones de almacenamiento.

2. Materiales y Métodos

2.1. Materiales

Las semillas de annatto se compraron frescas en la plaza minorista de Medellín-Colombia; el etanol (Merck®, Alemania), el diclorometano (Merck®, Alemania), el reactivo de Folin-Ciocalteu (Merck®, Alemania) y carbonato de sodio (Merck®, Alemania) fueron adquiridos grado reactivo.

2.2. Obtención del extracto

Las semillas se secaron a una temperatura constante de $37 \pm 0.2^\circ\text{C}$ durante 24 h, posteriormente fueron sometidas a un proceso de extracción por lixiviación utilizando etanol como solvente, bajo las siguientes condiciones: pH de 4.0, relación semillas: solvente de 1:5 y etanol al 80% (v/v); en agitación constante durante 48h a temperatura ambiente. La torta o extracto sólido obtenida de la filtración fue almacenada a diferentes condiciones según el diseño experimental que se muestra a continuación.

2.3. Diseño experimental

El extracto sólido de semillas de annatto fue sometido a las siguientes condiciones de almacenamiento: temperatura de refrigeración (6°C), temperatura ambiente promedio en Medellín, Colombia (25°C) y temperatura óptima de crecimiento de microorganismos mesófilos (37°C). Para tal fin, se utilizó un diseño experimental multifactorial categórico cuyos factores fueron: temperatura de almacenamiento a tres niveles diferentes (6, 25 y 37°C) como

factor numérico, y como factor categórico se estudió la ausencia o presencia de luz. Las variables respuestas evaluadas fueron: la constante de velocidad de reacción (k), la pérdida de compuestos fenólicos y de bixina con respecto al tiempo de almacenamiento. Las muestras fueron tomadas cada 2 días durante 33 días, a las cuales se les cuantificó el contenido en compuestos fenólicos y de bixina en cada una de las unidades experimentales.

Cuantificación de compuestos polifenólicos de los extractos almacenados

Los polifenoles totales se cuantificaron usando el método de Folin-Ciocalteu; a 20 μ L de muestra se le adicionó 1580 μ L de agua destilada, 100 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu y 300 μ L de una solución de Na_2CO_3 al 20%; la solución se dejó en reposo y en oscuridad durante 2 h. Pasado este tiempo fue leída la absorbancia a 725nm en un espectrofotómetro (UV-1700, Shimadzu Europe®), este procedimiento se realizó por triplicado, utilizando ácido gálico como compuesto de referencia. Los resultados fueron expresados en miligramo equivalente de ácido gálico por litro de extracto (Rubio-Senent *et al.*, 2017).

Cuantificación de bixina de los extractos almacenados

8 mg de muestra se diluyeron en diclorometano y seguidamente fue llevada a un volumen de 10 ml; de la solución anterior se realizaron las diluciones correspondientes hasta alcanzar un valor de absorbancia de la muestra menor o igual a 0,15 a 470 nm en un espectrofotómetro (UV-1700, Shimadzu Europe®). La concentración de bixina en la muestra fue determinada con la Ley de Lambert-Beer utilizando un coeficiente de absortividad ($E_{1cm}^{1\%}$) de 2826 (Barbosa *et al.*, 2005); el procedimiento se realizó por triplicado y se expresó como porcentaje de bixina.

2.6. Determinación de los parámetros cinéticos de degradación térmica de los compuestos biológicamente activos del extracto de semillas de annatto

Los resultados obtenidos durante el almacenamiento del extracto de semillas de annatto fueron ajustados a la ecuación de Arrhenius (Ec.1) y al factor de aceleración Q 10 (Ec.2) (Fратиanni *et al.*, 2016).

$$k = k_0 * e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad \text{Ec. 1}$$

Dónde: E_a , es energía de activación (kcal mol^{-1}); k , es la constante adimensional de velocidad; k_0 , es la constante de velocidad en un tiempo cero; R , es la constante universal de los gases ($0,0019872 \text{ kcal mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$), T , la temperatura absoluta (K).

$$Q_{10} = \left(\frac{k_1}{k_2}\right)^{\frac{10}{t_1-t_2}} \quad \text{Ec 2}$$

Dónde: k_2 ; es la constante de velocidad de degradación de los compuestos bioactivos a un tiempo 2 (t_2) y k_1 es la constante de velocidad de degradación de los compuestos bioactivos a un tiempo 1 (t_1).

2.7. El análisis estadístico

Los resultados experimentales fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) para determinar efectos estadísticamente significativos ($P < 0,05$) de los factores estudiados sobre las variables respuestas. Se determinaron diferencias significativas entre los niveles de los factores, por contrastes entre medias.

3. Resultados y Discusión

El comportamiento cinético de la degradación de los compuestos fenólicos y la bixina durante los 33 días de almacenamiento del extracto sólido, a las condiciones mencionadas anteriormente se describen en las Figuras 1 y 2

respectivamente, las cuales demuestran que existe una degradación de ambos compuestos bioactivos con respecto al tiempo y unas variaciones según la temperatura de almacenamiento del extracto y la condición de oscuridad o luz a la cual fue almacenado; estos resultados obtenidos concuerdan con los resultados del trabajo realizado por Knebel *et al.* (2018) quienes encontraron tiempos de vida media para cianidina un polifenol proveniente del jugo de manzana, hasta de 84 días almacenado a 4 °C, hasta de 15 días almacenado a 20 °C y sólo de 7 días cuando se almacenaba a 37 °C, comprobando el efecto que tiene, la temperatura de almacenamiento sobre la estabilidad de los fenoles totales; por otro lado, también coincide con en el estudio realizado por Knebel *et al.*, (2018) almacenaron calabaza deshidratada rica en carotenoides, a 4, 25 y 40 °C bajo atmósfera controlada con un flujo (N₂), presentando mayor contenido de carotenoides la muestra almacenada a 4 °C en atmósfera modificada con (N₂).

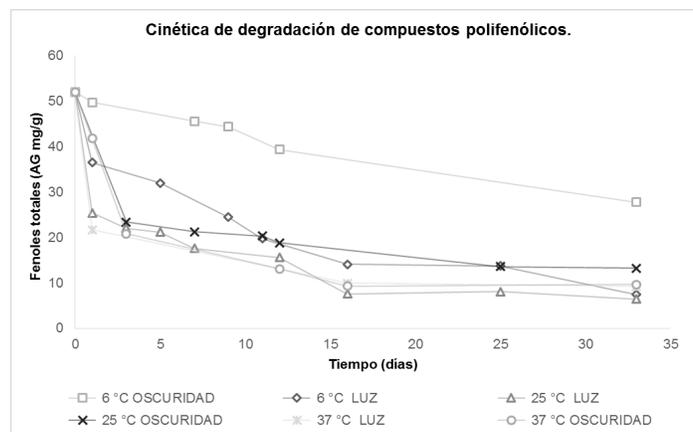


Figura 1. Cinética de degradación de los compuestos fenólicos a diferentes condiciones de almacenamiento.

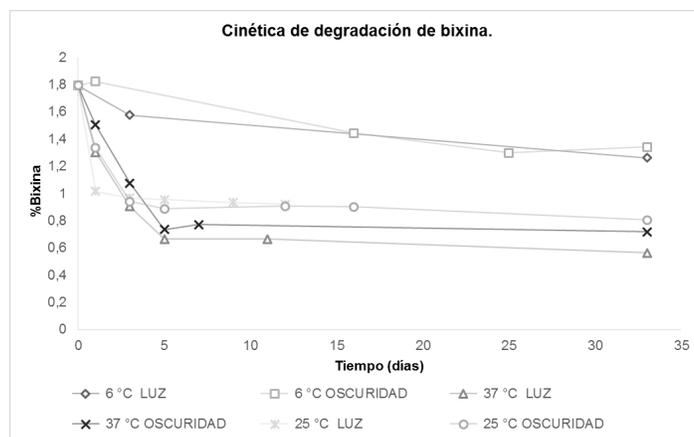


Figura 2. Cinética de degradación de la bixina a diferentes condiciones de almacenamiento.

Las velocidades de reacción K que se describen en la Tabla 1; se refieren a la velocidad específica en la que se degradan cada uno de los compuestos bioactivos presentes en el extracto; las muestras almacenadas en oscuridad presentaron valores de K más pequeñas que las muestras almacenadas en presencia de luz; valores similares se encontraron con las de energías de activación las cuales son aproximadamente 50% menores para todas las muestras almacenadas en oscuridad; indicando la cantidad de energía necesaria para comenzar las reacciones de degradación: estos resultados son de gran importancia para comprender los mecanismo de degradación de los compuestos bioactivos presentes en el extracto.

Tabla 1. Parámetros cinéticos de degradación de compuestos bioactivos.

		Fenoles totales		Bixina	
Con	Tempe	Energía de		K	Energ
dición	ratura °C	activación			ía de
					activación

Luz	6	0,0133	0,0	10500
	,87	(Kcal mol ⁻¹)	13	,58 (Kcal mol ⁻¹)
	25		0,0	
	,91		43	
	37		0,0	
	,94		24	
Osc uridad	6	0,0075	0,0	5781,
	,72	(Kcal mol ⁻¹)	16	55 (Kcal mol ⁻¹)
	25		0,0	
	,78		18	
	37		0,0	
	,08		21	

Los resultados del análisis de varianza demuestran que, tanto la temperatura como el almacenamiento en oscuridad y en presencia de luz, y la interacción lineal entre ellos, tienen un efecto estadísticamente significativo (valores $p < 0,05$) sobre el contenido de fenoles totales en el día 33 de almacenamiento. El contenido de fenoles totales del extracto es mayor en condiciones de oscuridad para las tres temperaturas de almacenamiento (ver Figura 3), del mismo modo Sun *et al.* (2018) concluyen que la exposición a la luz de un extracto de espinaca rico en compuestos polifenólicos pueden influir en la estabilidad de estos y sobre su capacidad antioxidante. Adicionalmente, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la muestra almacenada a 6 °C con respecto a las otras dos temperaturas, sobre el contenido de fenoles totales; del mismo modo Knebel *et al.* (2018) concluyen que, la estabilidad de la

capacidad antioxidante y de los compuestos polifenólicos es mayor cuando una muestra de puré de kiwi rica en polifenoles se almacena a 5 °C.

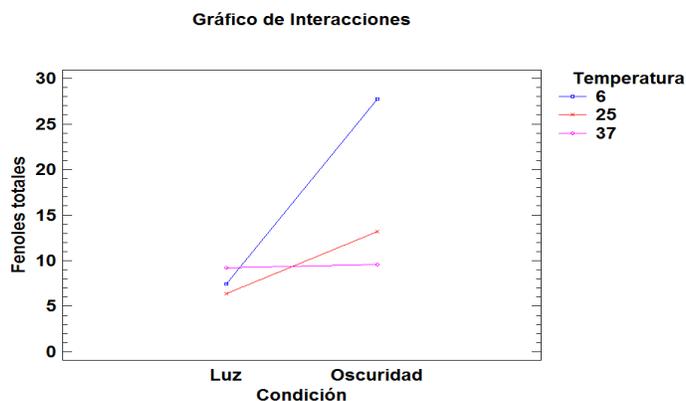


Figura 3. Gráfico de interacciones para fenoles totales.

Con respecto al contenido de bixina en el extracto para el día 33, el análisis estadístico de los resultados demostró que solo la temperatura tiene incidencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) sobre la bixina, mostrando nuevamente que la muestra almacenada a 6 °C es la que presenta una mayor cantidad de bixina total al día 33. Adicionalmente en las Figuras 1 y 2, la condición de almacenamiento que presenta mayor concentración de compuestos activos es aquella que se amacenoó a 6 °C en completa oscuridad; resultados que coinciden con el trabajo realizado por Lobato *et al.* (2015); quienes encontraron que tanto la temperatura como la presencia de luz tienen efecto sobre la estabilidad de la bixina y que a mayor temperatura la velocidad de degradación también es mayor.

4. Conclusiones

Según los resultados obtenidos, los dos factores estudiados, tanto temperatura de almacenamiento como exposición a la luz tienen efecto sobre degradación de las compuestos bioactivos presentes en el extracto de semillas de annatto, obteniendo parámetros cinéticos que permiten describir el

comportamiento de la degradación de los compuesto bioactivos estudiados, adicionalmente se puede observar que la temperatura tiene mayor importancia sobre la estabilidad de estos durante el almacenamiento; logrando concluir que, la condición más adecuada de almacenamiento para el extracto de semillas de annatto es: temperatura de 6 °C y en total oscuridad, para conservar así, su la mayor cantidad de compuestos bioactivos en el tiempo.

5. Referencias

- Barbosa, M. I. M., Borsarelli, J., C. D. y Mercadante, A. Z. (2005). Light Stability of Spray-Dried Bixin Encapsulated with Different Edible Polysaccharide Preparations. *Food Research International*. 38(8–9), 989–94.
- Butnariu, M. (2016). Methods of Analysis (Extraction, Separation, Identification and Quantification) of Carotenoids from Natural Products. *Journal of Ecosystem and Ecography*. 6(2), 1–19. Disponible en: <http://www.omicsonline.org/open-access/methods-of-analysis-extraction-separation-identification-and-quantification-of-carotenoids-from-natural-products-2157-7625-1000193.php?aid=77160>.
- Chisté, R., Yamashita F., Gozzo F. C., y Zerlotti, M. A. (2011). Simultaneous Extraction and Analysis by High Performance Liquid Chromatography Coupled to Diode Array and Mass Spectrometric Detectors of Bixin and Phenolic Compounds from Annatto Seeds. *Journal of Chromatography A*. 1218(1), 57–63.
- Fратиanni, A. (2016). Kinetics of Carotenoids Degradation and Furosine Formation in Dried Apricots (*Prunus armeniaca* L.). *Food Research International*. 99 (Parte 2), 862-867.
- Knebel, T., Braun, P., y Dietrich, H. (2018). Degradation Kinetics of Anthocyanins and Polyphenols during Storage of Red Apple Juice Produced from Red-Fleshed Apples. *European Food Research and Technology*. 1–10. Disponible en:

<http://link.springer.com/10.1007/s00217-018-3086-4>. Consultado 30 de julio de 2018

Lobato, B. S. K., Paese, K., Casanova, F.J., Stanisçuaski, G. S., Jablonski, A. , De Oliveira, R. A. (2015). Evaluation of Stability of Bixin in Nanocapsules in Model Systems of Photosensitization and Heating. *LWT. Food Science and Technology*. 60(1), 8–14. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643814006008>.

Consultado el 11 de abril de 2017

Oboh, G., Toyin, L., Akomolafe, S., Adefegha, A., y Abayomi, O. A. (2011). Inhibition of Cyclophosphamide-Induced Oxidative Stress in Rat Brain by Polar and Non-Polar Extracts of Annatto (*Bixa orellana*) Seeds. *Experimental and Toxicologic Pathology. Official Journal of the Gesellschaft Für Toxikologische Pathologie*. 63(3), 257–62.

Rubio-Senent, F., Fernández-Bolaños, J., García-Borrego, A., Lama-Muñoz, A., y Rodríguez-Gutiérrez, G. (2017). Influence of pH on the Antioxidant Phenols Solubilised from Hydrothermally Treated Olive Oil by-Product (Alperujo). *Food Chemistry*. 219, 339–45.

Sun, F., Yaru, Y., y Long, L. (2018). The Evaluation of Antioxidant Properties and Stability of Polyphenols from *Spinacia Oleracea*. 9, 8–13.

Taham, T., Cabral, F. A., y Barrozo, A. S. M. (2015). Extraction of Bixin from Annatto Seeds Using Combined Technologies. *The Journal of Supercritical Fluids*. 100, 175–83.

Viuda-Martos, M., Ciro-Gómez, G. L Ruiz-Navajas, Y., Zapata-Montoya, J. E., Sendra, E., Pérez-Álvarez, J. A., Fernández-López, J. (2012). In Vitro Antioxidant and Antibacterial Activities of Extracts from Annatto (*Bixa orellana* L.) Leaves and Seeds. *Journal of Food Safety*. 32(4), 399–406.

Sección 7. Seguridad Alimentaria

Cultivo de microalgas aisladas del distrito de riego 03 para el desarrollo de métodos de biorremediación

¹López-Valdez, L. P.; ¹Aguilar-Arteaga, K.*; ²López-Molina, A.; ²Conde Mejía, C.;
¹Díaz Batalla, L.; ¹Hernández-Martínez, V.; ³Gutiérrez Alcántara, E. J.

¹Universidad Politécnica de Francisco I. Madero. Domicilio conocido, Tepatepec, Hidalgo. C.P. 42660. Tel (738)7241174 Ext. 167. ²Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica Multidisciplinaria de Jalpa de Méndez, Carr. Villahermosa-Comalcalco km. 27, Jalpa de Méndez, Tabasco 86200, México.

³Facultad de Ciencias Químico- Biológicas, Universidad Autónoma de Campeche, Buenavista, 24039 Campeche, Camp.

Correo electrónico: kaguilar@upfim.edu.mx

Resumen

Las microalgas son organismo fotosintéticos con tamaños entre 1 y 400 mm, recientemente utilizados en tratamientos de biorremediación de diferentes efluentes residuales. El agua residual del distrito de riego (DR03) contiene altas cantidades de materia orgánica, nitrógeno, fósforo además de metales pesados y contaminantes emergentes, debido a las descargas domésticas e industriales. Siendo utilizada, sin tratamiento, para riego agrícola en 13 municipios del estado de Hidalgo. El presente proyecto propone el uso de agua residual del DR03 como substrato para el cultivo de microalgas, siendo alternativa para la biorremediación, así como la aplicación de la biomasa microalgal en la producción de biocombustibles.

Palabras clave: Aguas residuales, biorremediación, microalgas, metales pesados, esterilización, mixotróficas.

Abstract

Microalgae are photosynthetic organisms with sizes between 1 and 400 μ m, they have recently been used in bioremediation treatments of different residual effluents. The wastewater from the irrigation district (DR03) contains high amounts of organic matter, nitrogen, phosphorus as well as heavy metals and emerging pollutants, due to domestic and industrial discharges. Wastewater is used, without treatment, for agricultural irrigation in 13 towns into Hidalgo State, México. This project proposes the use of wastewater from DR03 as a substrate for microalgae cultivation, being an alternative for bioremediation, as well as the application of microalgal biomass in the production of biofuels.

Keywords: Bioremediation, heavy metals, microalgae, mixotrophic, sterilization.

1. Introducción

Las microalgas (MA) son un organismo fotosintético presente en diversos ecosistemas, principalmente encontrados en entornos acuosos (Suganya *et al.*, 2016). Se ha comprobado su capacidad para la absorción de metales pesados, así como la disminución de DQO, DBO₅, sólidos suspendidos, nitrógeno, fósforo, entre otros (Yu *et al.*, 2017). El cultivo de MA tiene diversos retos uno de ellos es la factibilidad económica para la producción a gran escala de biomasa microalgal aprovechable, por lo que existe un creciente interés en el uso de aguas residuales de diferentes orígenes, como sustratos de crecimiento (Kozlova *et al.*, 2007).

La ineficiencia, así como costos elevados, de los métodos de tratamiento de aguas residuales convencionales brindan la oportunidad para proponer sistemas de tratamientos nuevos, eficientes y de bajo costo. Las MA actualmente están siendo aplicadas para el tratamiento de aguas residuales gracias a su capacidad de eliminar materia orgánica, metales pesados, nutrientes y a su capacidad para fijar CO₂ y producir O₂ (Oswald y Gotaas, 1957; Barh *et al.*, 2011; Pires *et al.*, 2013). Por otro lado, la biomasa producida en estos sistemas de biorremediación de diferentes efluentes, tiene un uso potencial como alimento, biofertilizantes y biocombustible (Park y Craggs, 2011).

De acuerdo a los requerimientos de energía y fuente de carbono, las MA se dividen en cuatro grupos: fototróficas, heterotrófica, mixotróficas y fotoheterotróficas (Brennan y Owende, 2010). Su desarrollo requiere: una fuente de energía, principalmente luz solar, una fuente de carbono orgánico o inorgánico, micro y macro nutrientes, vitaminas, así como condiciones adecuadas de pH y temperatura (Li *et al.*, 2008). Las MA pueden crecer sobre una variedad de sustratos. El presente proyecto se enfoca en el crecimiento de MA en aguas negras que ha demostrado el crecimiento no selectivo sino más bien da la

oportunidad del crecimiento de una infinidad de especies con altas tasas de biorremediación (Aishvarya *et al.*, 2015).

El consorcio microalgal estudiado y aislado de los canales del DR03, inmerso en el Valle del Mezquital, presenta una adaptación a las condiciones de contaminación de los efluentes del DR03, por lo que son una alternativa para procesos de biorremediación. Se evaluaron las condiciones de crecimiento bajo condiciones de aireación, y bajo estrés químico, utilizando concentraciones conocidas de metales pesados.

2. Materiales y Métodos

2.1 Zona de Estudio y Muestreo

Se colectaron muestras de agua residual dentro del DR03 cuya ubicación geográfica se muestra en la Figura 1. Las muestras de agua residual fueron colectadas del canal “Requena”, Tula Módulo 1, ($20^{\circ}13'29.8''N$ $99^{\circ}05'23.2''W$).

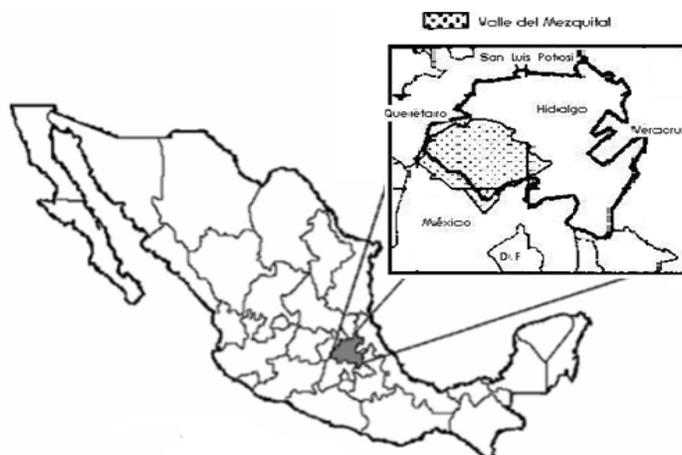


Figura 1. Ubicación geográfica del Valle del Mezquital.

2.2 Caracterización de las muestras de agua residual

Análisis fisicoquímicos

Para el análisis de las muestras utilizadas como sustrato se midieron los siguientes parámetros: Temperatura, conductividad, turbidez, sólidos totales, DQO y pH.

Preparación del inóculo inicial

Utilizando 1 L de agua residual, previamente filtrada y suministrando aeración con un compresor de aire de 2 W y una intensidad luminosa continua de 5280 lumens, en un tiempo total de 120 h de cultivo.

Para la realización de los experimentos se emplearon recipientes de vidrio de 1 L. Las condiciones de operación fueron las siguientes: agitación constante de entre 25 a 35 rpm (paleta de agitadores); fotoperiodo de 12:12 h de luz: oscuridad. Para posteriormente evaluar el crecimiento microalgal se utilizaron las condiciones encontradas por Rosas-Escamilla (Rosas-Escamilla, 2018).

Cultivo mixotrófico en condiciones de estrés químico

Se realizaron experimentos de crecimiento en condiciones de estrés, adicionando concentraciones conocidas de metales pesados (Cd, Cr y Pb). Para la preparación de la solución multiestandar de Metales Pesados se realizaron una solución madre tomando 100 μl . de todas los estándares de Cr, Pb y Cd de 1000 mg L⁻¹ aforando en un matraz de 10 ml paso siguiente se tomó 500 μl y nuevamente se llevó a un matraz de 10 ml.

Las curvas de crecimiento de las microalgas, se obtuvieron por conteos directos determinando el número de células ml⁻¹ así como la medición de la absorbancia a una λ de 660 nm con un espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 10S Series UV-Visible Spectrophotometers.

Para el crecimiento se realizó un pretratamiento de esterilización en autoclave a 120 °C durante 15 min. a las muestras de agua residual con la finalidad de eliminar la microflora presente y evaluar el efecto del consorcio

cultivado inicialmente. Posteriormente se eliminaron los sólidos por decantación, preparando 3 réplicas con condiciones controladas y 3 con condiciones restringidas de aireación, todas con un volumen de 200 ml. con relación de 90-10% de inóculo inicial. En el primer caso se empleó un compresor de aire de 2 W y se sometió una intensidad luminosa continua de 5280 lumens en ciclos de luz oscuridad de 12 h en ambos casos y agitación constante a temperatura ambiente de 24 °C aproximadamente.

La densidad celular (células ml⁻¹) fue medida utilizando una cámara de Neubauer de 0.1 mm de profundidad hasta alcanzar el inicio de la fase estacionaria, muestra de 1 ml del cultivo de las microalgas, preservándolas en una solución de lugol. La velocidad de crecimiento en la fase exponencial y el tiempo de duplicación fueron calculados según Wood A, Everroad R, Wingard L. (2005), de la siguiente manera:

$$\text{Velocidad de crecimiento de la Población } (r) = \text{Ln} \frac{N_t}{N_o} \frac{1}{\Delta t}$$

Donde:

No= tamaño de la población al inicio de un intervalo de tiempo,

Nt= tamaño de la población al final de un intervalo de tiempo, y

Δt = intervalo de tiempo ($t_f - t_o$) en días.

Tiempo de duplicación (T_2) expresado en h / división celular:

$$T_2 = \frac{0.6931}{r}$$

Donde:

$$\ln 2 = 0.6931$$

Determinación de metales pesados

La medición de metales pesados requiere un pre-tratamiento de las muestras, en base a la NMX-AA-051-SCFI-2016, las muestra se filtraron a través de una membrana de poro 0.45 μm , 5 ml de la muestra de agua residual inicial y 5 ml de ácido nítrico concentrado se depositaron en tubos de TeflonTM, para su posterior digestión en autoclave durante 1 hora a 100 °C a 1 atm de presión. Las digestiones fueron aforadas a un volumen de 10 ml. Todas las muestras fueron cuantificadas contra blancos de referencia y curva de calibración de 0 a 100 ppb para cada uno de los metales. Las muestras de biomasa recolectada fueron calcinadas a 600 °C durante 2 h en una mufla. Las cenizas fueron digeridas con 5 ml de HNO_3 y posteriormente las soluciones fueron aforadas a un volumen final de 10 ml. La determinación de Pb, Cr, Cd se realizó con un espectrofotómetro de emisión con fuente de plasma marca Perkin-Elmer (USA) modelo óptima 8300 en matriz de ácido nítrico.

3. Resultados

Caracterización de las muestras de agua residual del DR03

La Tabla 1 muestra los resultados de la caracterización de las muestras colectadas en donde los parámetros se presentan como el promedio de las repeticiones realizadas en cada análisis (n=3).

Es importante mencionar que los valores promedio de pH fueron de entre 7.9 y 9.1, catalogando a las muestras como muestras alcalinas. Este parámetro es importante para el crecimiento de las MA, de acuerdo a Rosas-Escamilla (2018) las mejores condiciones de pH para el crecimiento y cultivo de MA es 9. Lo anterior indica que las muestras poseen las características adecuadas de acidez para ser utilizadas como sustrato de crecimiento sin la necesidad de ajustar el pH. Por otro lado la conductividad eléctrica (CE) se relaciona con la salinidad, los valores tomados *in situ* de los distintos puntos de muestreo muestran conductividades altas indicando elevadas concentraciones de iones, lo cual produce una salinización progresiva de los suelos. Se presentan temperaturas promedio de 20.6 °C. La turbidez, DQO y sólidos totales que presentan las muestras representa la concentración de los contaminantes presentes que además son un indicativo de la complejidad de las matrices.

Tabla 1. *Parámetros fisicoquímicos determinados en agua residual del DR03.*

	pH	Conductividad $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$	Temperatura $^{\circ}\text{C}$	Turbidez NTU	DQO mg L ⁻¹	SST mg L ⁻¹
Pro	8.36	1679	20.62	24	21	17
medio				3	0	1
Mín	7.87	920	18.8	13	14	34
imo					4	
Máx	9.13	2245	22.0	53	38	28
imo				4	9	7

Las DER para todos los casos fueron menores al 5%. La Tabla 2 muestra las concentraciones de metales pesados en las muestras utilizadas como sustrato de crecimiento de MA. Considerando como uno de los parámetros indicadores para evaluar la eficiencia del método o métodos desarrollados para la biorremediación de efluentes de diferente composición. La cuantificación de metales pesados se llevará también a cabo en las aguas tratadas con MA para evaluar su capacidad bioacumuladora.

Tabla 2. Concentraciones de metales pesados en muestras de agua residual.

Muestra	Cd $\mu\text{g L}^{-1}$ (DER, n=3)	Cr $\mu\text{g L}^{-1}$ (DER, n=3)	Pb $\mu\text{g L}^{-1}$ (DER, n=3)
Promedio	0.97 (2.69)	0.66 (3.30)	0.76 (2.10)
Mínimo	0.66 (0.01)	0.20 (0.01)	0.28 (0.01)
Máximo	1.32 (17.15)	1.08(23.32)	1.03 (10.76)

Límites permisibles Cd: 0.5ppm, Cr hexavalente: 1200 en base seca y Pb: 10 ppm. No Reportado (NR). Las DER para estos resultados están todos por debajo del 5% para n=3.

Las concentraciones encontradas para las aguas tratadas fueron menores al límite de detección ($\text{LOD}=0.001 \mu\text{g L}^{-1}$). Mientras que las concentraciones encontradas en la biomasa fueron en promedio para Cd de $90 \mu\text{g Kg}^{-1}$, $250 \mu\text{g Kg}^{-1}$ y para Pb de $120 \mu\text{g kg}^{-1}$, considerando una masa de ceniza de 100 mg. Las DER de las mediciones están por debajo del 15%.

Análisis del crecimiento del consorcio microalgal en agua residual.

La Figura 2 muestra la variación del pH del medio de cultivo hasta el final de la etapa estacionaria bajo condiciones de aireación e iluminación en ciclos 12:12 y en condiciones de estrés por metales pesados. La evolución del pH en estas condiciones es similar a las reportadas por otros autores, encontrando que el pH de los medios de cultivo de MA, aumentan en basicidad. Lo anterior nos indica que la adición de concentraciones conocidas de metales pesados no influye en el comportamiento del cultivo evaluado.

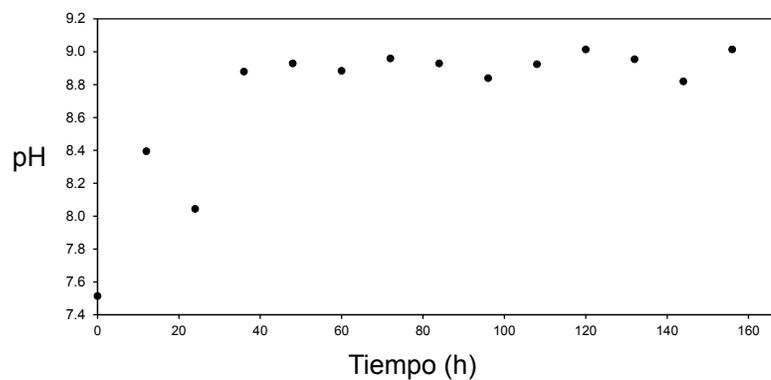


Figura 2. Variación del pH del medio de cultivo hasta el final de la etapa estacionaria bajo condiciones de aireación e iluminación en ciclos 12:12 y en condiciones de estrés por metales pesados (Cd, Cr y Pb).

Por otro lado el % de OD tiene la misma tendencia del pH, aumentando respecto al tiempo. Mientras que la DQO inicial promedio de las aguas residuales utilizadas fue de 326 mg L⁻¹ y el final a tiempos superiores a las 168 h fue de 220 mg L⁻¹, representando un 31% de remoción de DQO.

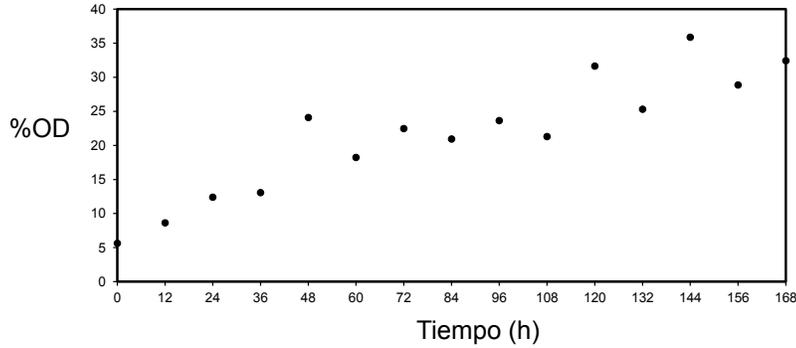


Figura 3. Variación del %OD hasta el final de la etapa estacionaria en condiciones aireación y estrés por metales pesados.

La Figura 4 muestra la curva de crecimiento en función de la densidad celular en condiciones de aireación y bajo estrés por metales pesados. Mostrando una etapa de adaptación de entre las 0 y las 84 h, mientras que la etapa exponencial se encuentra entre las 84 y las 192 h bajo estas condiciones se logra incrementar la velocidad de crecimiento así como disminuir el tiempo de duplicación. Estos resultados son relevantes para la optimización posterior de sistemas de biorremediación basados en reactores por lote.

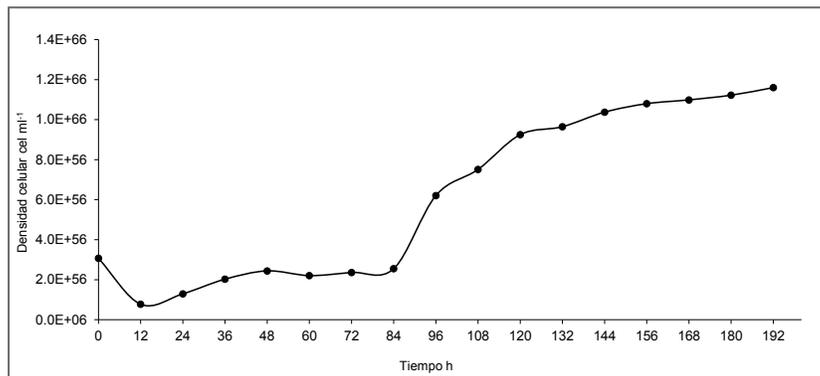


Figura 4. Curva de crecimiento hasta la etapa exponencial en condiciones de aireación, fotoiluminación, ciclos 12:12 y estrés por metales pesados.

En la Figura 5, se muestra la curva de crecimiento microalgal en condiciones de aireación restringida expresado (cel ml⁻¹) x 10⁶, cuando el pH inicial fue de 8.6, donde es posible observar las principales etapas de crecimiento del consorcio: etapa de adaptación (0 a 192 h), exponencial (192 a 408 h), estacionaria (408 a 504 h) para posteriormente iniciar la fase de declive o muerte.

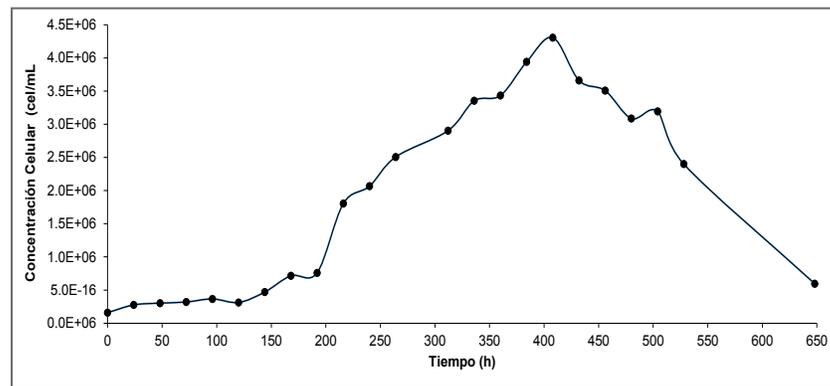


Figura 5. Curvas de crecimiento en condiciones de aireación restringida.

La tasa de crecimiento de la población mostró un efecto significativo sobre el tiempo de duplicación en la fase exponencial del agua residual (Tabla 5). En condiciones controladas se observó el mayor crecimiento con valores de $r= 0.37$, y $T_2=1.89$ h por división celular en los cultivos. Por otro lado, en condiciones ambientales $r= 0.23$, y $T_2=3.07$ h.

Tabla 5. Velocidad de crecimiento y tiempo de duplicación obtenidos en la fase exponencial de los cultivos.

	Condiciones de aireación	Condiciones de aireación

		restringida	
Velocidad de crecimiento de la población (r)	de	0.37	0.23
Tiempo de duplicación (T2)		1.89	3.07
(División celular/h)			

Las DER fueron para n=3 menores al 5%.

Correlación de densidad celular y densidad óptica

Se encontró una correlación expresada como $R^2 = 0.991$ calculada a partir del modelo lineal mostrado en la Figura 6 entre la densidad óptica a 660 nm contra la concentración celular expresada $(\text{cel ml}^{-1}) \times 10^6$. Considerando sólo la fase estacionaria ya que en los puntos posteriores (etapa de declive) existe la interferencia con otras especies adsorbentes, así como la formación de aglomerados celulares entre otros aspectos. Con este modelo fue posible determinar con precisión los parámetros de crecimiento en función de la absorbancia.

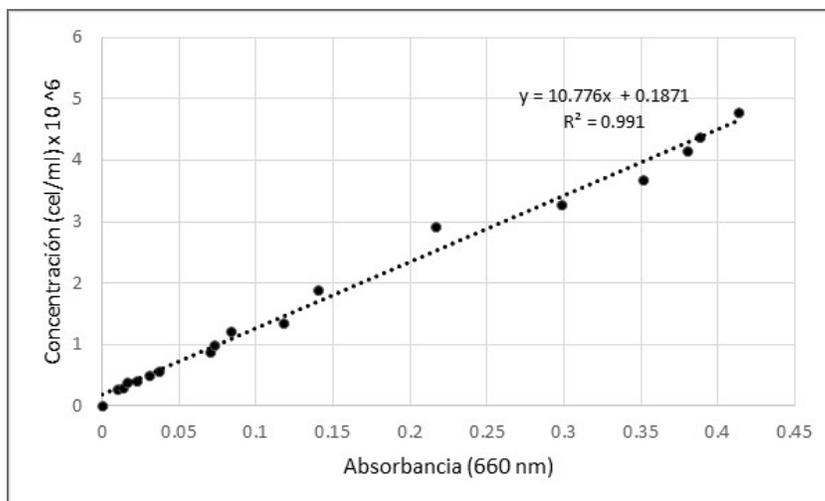


Figura 6. Correlación entre la densidad óptica o absorbancia contra la concentración celular en $\text{cel ml}^{-1} \times 10^6$.

4. Conclusiones

Las características fisicoquímicas y microbiológicas mostradas por las muestras analizadas evidencian cierta tendencia, esto es relevante para la estandarización del proceso de biorremediación.

La presencia de metales pesados sugiere que los procesos desarrollados deberán ser capaces de remover o disminuir su concentración.

Bajo las dos modalidades de crecimiento con aireación y aireación restringida, se observó una reducción significativa de DQO.

Los modelos cinéticos propuestos permiten hacer el seguimiento de la cinética de crecimiento. De esta forma los parámetros cinéticos determinados permiten establecer las bases para el diseño de fotobiorreactores para el escalamiento del proceso a nivel industrial en condiciones de aireación y fotoiluminación, mostrando una mayor velocidad de crecimiento y menor tiempo de duplicación de la población de MA.

El modelo lineal que correlaciona la densidad óptica y la densidad celular mostró un factor de correlación de 0.9910, permitiendo seguir el crecimiento en función de la absorbancia a 660 nm.

5. Referencias

- Aishvarya, V., Jena, J., Pradhan, N., Panda, P. K, y Sukla, L. B. (2015). Microalgae: Cultivation and Application. *Environmental Microbial Biotechnology*. 289-311.
- Barh, M., Stams, A, J. M., De La Rosa, F., García-Encina, P. A. y Munoz, R. (2011). Assesing the influence of the carbon oxidation reduction state on organic pollutant biodegradation. *Alga-bacterial photobioreactors Applied Microbiology and Biotechnology*. 1527-1536.

- Brennan, L., y Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae a review of technologies for production processing and extractions of biofuels and coproducts. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14(2), 5557-577.
- Kozlova, T.A., Hardy, B. P., Krishna, P., y Levin, D. B. (2007). Effect of phytohormones on growth and accumulation of pigments and fatty acids in the microalgae *scenedesmus quadricauda*. *Algal Research*. 325-334.
- Li, Q., Du, W., y Liu D. (2008). Perspectives of microbial oils for biodiesel production. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 80(5), 749-756.
- Oswald, W. J., y Gotaas, H. B. (1957). Photosynthesis in Sewage Treatment. *Transactions American Society Civil Engineers*. 122, 73-105.
- Park, J. B., y Craggs, R. J. (2011). Algal production in wastewater treatment high rate algal ponds for potential biofuel use. *Water Science and Technology*, 63(10), 2403-2410.
- Pires, J. C. M., Alvim-Ferraz, M. C. M., Martins, F. G. y Simoes, M. (2013). Wastewater treatment to enhance the economic viability of microalgae culture. *Environmental Science and Pollution Research International*. 20(8), 5096-5105.
- Rosas-Escamilla, D. A. (2018). *Cultivos mixotrófico de microalgas en diferentes sustratos*. México: Universidad Politécnica de Francisco I. Madero.
- Suganya, T., Varman, M., Masjuki, H., y Renganathan, S. (2016). Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: a biorefinery approach. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 55, 909-941.
- Wood, A., Everroad R., y Wingard, L. (2005). Measuring growth rates in microalgal cultures. In: Anderser R. USA: Elsevier Academic Press, 1-13.

Yu, K. L., Ong, H. C., Ling, T. C., Lan, J. C., Chen, W. H., y Chang, J. S. (2017). Microalgae from wastewater treatment to biochar-feedstock preparation and conversion technologies energy. *Conversion and Management*. 150, 1-13.

DIRECTORIO DE INSTITUCIONES PARTICIPANTES

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Dr. José Manuel Piña Gutiérrez
Rector

Dra. Dora María Frías Márquez
Secretaria de Servicios Académicos

M.C. Raúl Guzmán León
Secretario de Investigación, Posgrado y Vinculación

M.A. Rubicel Cruz Romero
Secretario de Servicios Administrativos

L.C.P. Elena Ocaña Rodríguez
Secretaria de Finanzas

División Académica de Ciencias Agropecuarias

Ph.D. Roberto Antonio Cantú Garza
Director

Dra. Nadia Florencia Ojeda Robertos
Encargada del despacho de Investigación

Dr. Carlos Alberto Corzo Sosa
Coordinador de Docencia

Dr. José Nava Ayala
Coordinador de Difusión Cultural y Extensión

M.A. Ramiro Olivé López
Coordinador Administrativo

**Centro Regional para Producción Más Limpia
Instituto Politécnico Nacional**

Dr. Facundo Joaquín Márquez Rocha
Director

COMITÉ CIENTÍFICO DE LA PUBLICACIÓN

Dr. Pedro García Alamilla

Dra. Laura Mercedes Lagunes Gálvez

M.C. Dora Centurión Hidalgo

M.A. Judith Espinosa Moreno

Dra. Eloísa López Hernández

Dra. Angélica Alejandra Ochoa Flores

Dra. Edith Miranda Cruz

Dra. Rosa Ma. Salinas Hernández

Dr. José Rodolfo Velázquez Martínez

Dr. César Márquez Quiroz

Dr. Armando Gómez Vázquez

Dr. Efraín de la Cruz Lázaro

Dra. Madeleine Hidalgo Morales

Dr. Víctor José Robles Olvera

Dr. Facundo Joaquín Márquez Rocha

Semblanza de los Editores

Dr. Pedro García Alamilla

Doctor en Ciencias en Alimentos y en Mecánica de Materiales de Medios Porosos en un convenio de cooperación entre el Instituto Tecnológico de Veracruz en México y por la Universidad de Montpellier II en Francia. Maestro en Ciencias en Ing. Química por la Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa e Ing. Químico por el Instituto Tecnológico de Villahermosa. Profesor de tiempo completo de la Licenciatura Ingeniería en Alimentos desde el 2007 a la fecha e integrante del Núcleo Académico Básico del programa de Maestría en Ciencias Agrolimentarias de la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT). Su especialidad cubre los aspectos de deshidratación de alimentos. Sus intereses se centran actualmente sobre la modelación de transferencia de masa y calor durante los procesos de deshidratación de alimentos, optimización de procesos a través de metodología de superficie de respuesta y aprovechamiento de residuos agroalimentarios. Actualmente pertenece al Sistema Nacional de Investigadores (SNI) nivel 1, al Sistema Nacional de Consultores PYME, Sistema Estatal de Investigadores y Perfil Deseable PRODEP.

Dra. Laura Mercedes Lagunes Gálvez

Doctora en Ciencias en Alimentos por la Escuela Nacional Superior de Industrias Agrícolas y Alimentarias (E.N.S.I.A.) en Massy, Francia. Maestra en Ciencias de los Alimentos por el Instituto Tecnológico de Veracruz y Químico Farmacéutico Biólogo por la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Veracruzana. Adscrita desde 2012 a la fecha, como Profesora de Tiempo Completo a la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Docente del Programa Educativo de Ingeniería en Alimentos y del Programa de Maestría en Ciencias Agroalimentarias de la DACA. En investigación, posee experiencia en temas relacionados con deshidratación y tecnología de alimentos. Ha fungido como Responsable y/o colaboradora de diversos proyectos de investigación y participado en la dirección y/o codirección de tesis, así como en la publicación de artículos científicos. Actualmente cuenta con el reconocimiento del Perfil Deseable PRODEP y pertenece al Sistema Estatal de Investigadores.

Dra. Edith Miranda Cruz

Doctora en Ciencias, por la Universidad de Salamanca, España, cursando el programa doctoral de Alimentación y Medio Ambiente: Aspectos Sanitarios y Analíticos, en el Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Maestra en Ciencias con Especialidad en Edafología por el Colegio de Posgraduados-Campus Montecillos e Ingeniero Bioquímico Industrial por la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa. Adscrita como Profesora Investigadora de Tiempo Completo en la División Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (desde el año 2009 a la fecha). Inicia sus actividades de investigación participando en

diversos proyectos en los Laboratorios de Fomento Industrial (LANFI), Laboratorio de Fertilidad de Suelos y Laboratorio de Química de Suelos del Colegio de Posgraduados-Campus Montecillos. Actualmente desarrolla investigación en el ámbito de la Inocuidad y Calidad Alimentaria, así como actividades de docencia en nivel licenciatura y posgrado. Ha participado en diversos proyectos de investigación como Responsable y/o Colaboradora, así como en la dirección y co-dirección de Tesis de Licenciatura y Posgrado. Cuenta con la publicación de diversos Artículos Científicos y Capítulos de Libros.

CONSEJO DIVISIONAL EDITORIAL

Ph. D. Roberto Antonio Cantú Garza

Presidente

Dra. Nadia Florencia Ojeda Robertos

Secretario

Vocales por Programa Educativo:

Dr. Metodio Nicolás Sánchez Vite

M.C. Lenin Rangel López

Dra. Martha Alicia Perera García

Ingeniería en Acuacultura

Dr. César Márquez Quiroz

M.C. Álvaro Marín Aguilar

Ingeniería en Agronomía

Dr. José Rodolfo Velázquez Martínez

Dra. Ma. Esther Pavón Jiménez

Dra. Angélica Alejandra Flores Ochoa

Dr. Pedro García Alamilla

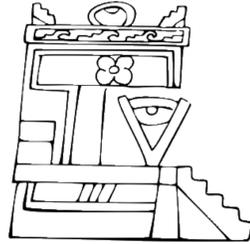
Ingeniería en Alimentos

Dr. Ricardo Alfonso García Herrera

Dr. Alfonso Juventino Chay Canul

M.C. Guadalupe Arjona Jiménez

Medicina Veterinaria y Zootecnia



Difusión y Divulgación
Científica y Tecnológica

José Manuel Piña Gutiérrez
Rector

Raúl Guzmán León
Secretario de Investigación, Posgrado y Vinculación

Andrés González García
Director de Difusión y Divulgación Científica y Tecnológica

Calíope Bastar Dorantes
Jefa del Departamento Editorial de Publicaciones No Periódicas

*Esta obra se terminó de editar el 11 de noviembre de 2019, en en el
Laboratorio de Ingeniería de Procesos de la División Académica de Ciencias
Agropecuarias de la UJAT. Km 25 de la carr. fed. 195, tramo Villahermosa-
Teapa. Ra. La Huasteca, 2ª sección, C.P. 86298, Centro, Tabasco, México. Tel.
+52 (993) 358 1500, extensión 6630.*