



Memoria

Mesa 4 - Química



Editores

Dr. Eleazar Aguirre Mandujano

Dra. Landy Hernández Rodríguez

M.C. Jaime Rocha Quiroz

**Dra. Blanca Elizabeth Hernández
Rodríguez**



ÍNDICE

Obtención de biodiesel de semillas de calabaza criolla (<i>Cucurbita maxima</i>) como una alternativa sustentable con el medio ambiente. Propuesta de su mecanismo de reacción mediante cálculos DFT	5
Hacia una Agricultura más Inteligente y Sostenible: Aplicación de la Inteligencia Artificial en el Estudio de los Hongos Entomopatógenos y sus Metabolitos	21
Extracción de taninos, compuestos fenólicos y flavonoides a partir de vainas de vainilla: Efecto del tipo de disolvente y proceso de secado	32
Proteínas alergénicas de chapulines del centro de México.....	39
Cambios en la composición fisicoquímica y ácidos grasos durante la maduración del queso de prensa de Cuajinicuilapa, Guerrero.	43
Desvelando los secretos de la herbolaria mexicana con IA: Un análisis exhaustivo de datos a través de NLP, clustering y topic modeling	49
Identificación de hongos fitopatógenos en maguey para producción de mezcal.....	63
Propiedades funcionales de la proteína de semilla de calabaza (<i>Cucurbita argyrosperma</i>).....	71
Control de temperatura de un destilador para producción de mezcal artesanal	78
Identificación por RMN de fracciones enriquecidas en ciclopéptidos obtenidas de las semillas de <i>Annona diversifolia</i> Saff.	88
Efecto del pretratamiento con ultrasonido sobre la composición de celulosa y hemicelulosa de residuos sólidos de la producción de mezcal	97
Análisis por infrarrojo cercano (FT-NIR) y componentes principales (PCA) de maíz morado (<i>Zea mays</i> L.) de Ixtenco, Tlaxcala.....	104
Efecto de la modificación en las propiedades funcionales en aislado de proteína de huauzontle.....	111
Obtención del aceite de semillas de calatola (<i>Calatola mollis</i>) y su transformación a biodiésel como alternativa sustentable con el medio ambiente	122
Efecto de la temperatura de extracción sobre las propiedades funcionales y fisicoquímicas de la goma de semilla de chirimoya	135



Efecto del tostado sobre las propiedades fisicoquímicas y bioactivas en bebidas de café (<i>Coffea arabica</i> L.)	148
La química computacional como una herramienta de apoyo al trabajo experimental de la Química orgánica.....	157
Propiedades fisicoquímicas, estructurales y digestibilidad de almidón de maíz cacahuacintle modificado con OSA.....	162
Análisis de las propiedades repelentes del aceite esencial de la madera de Cedrela odorata proveniente del Chiapas.....	176
Microemulsión de linalool (2,6-dimetil-2,7-octadien-6-ol) empleando proteínas de chapulín (<i>Sphenarium purpurascens</i>) como material de pared	184



Obtención de biodiesel de semillas de calabaza criolla (*Cucurbita maxima*) como una alternativa sustentable con el medio ambiente. Propuesta de su mecanismo de reacción mediante cálculos DFT

Benito Reyes Trejo¹, Lino Joel Reyes Trejo², Sara Suarez Torrez², Carol Yolanda Santana Cortés^{*2}

Mesa 4: Química.

Resumen

En los últimos años, el aumento constante de la población mundial y la industrialización ha provocado una mayor demanda de combustibles fósiles; además, su sobreexplotación ha causado impactos ambientales, por lo que, se han buscado fuentes alternas de energía como el biodiésel. En búsqueda de nuevas materias primas para la producción de biodiésel, en este trabajo, se obtuvo biodiésel a partir de aceite de semillas de calabaza (*Cucurbita máxima*) y su evaluación fisicoquímica. Los resultados experimentales mostraron que el contenido de aceite de las semillas de calabaza extraído por Soxhlet como por maceración fue 51.33 % y 27.38 %, respectivamente. El aceite se caracterizó y se obtuvo biodiésel por medio de una reacción de transesterificación alcalina con un rendimiento entre 85.45 % y 88.46 %. El perfil de ácidos grasos del aceite mostró que está compuesto principalmente de ácidos linoleico (54.8%), oleico (22.4%) y palmítico (11.6%). Todas las propiedades medidas del biodiésel producido cumplieron con los requisitos de calidad según EN 14214; por lo que, podría utilizarse como combustible alternativo.

Palabras clave: Calabaza, *Cucurbita maxima*, aceite, biodiésel

Abstract

In recent years, the constant increase in the world population and industrialization has led to a greater demand for fossil fuels, in addition, their overexploitation has caused environmental impacts, so alternative energy sources such as biodiesel have been sought. In the search for new feedstocks for biodiesel production, in this work, biodiesel was obtained from pumpkin seed oil (*Cucurbita maxima*) and its physicochemical evaluation. The experimental results showed that the oil content of pumpkin seeds extracted by Soxhlet and maceration was 51.33% and 27.38%, respectively. The oil was characterized and biodiesel was obtained through an alkaline transesterification reaction with a yield between 85.45% and 88.46%. The fatty acid profile of the oil showed that is composed primarily of linoleic (54.8%), oleic (22.4%) and palmitic acids. All of the measured properties of the produced biodiesel were accorded to the quality requirements according to EN 14214; therefore, it could be used as an alternative fuel.

Keywords: Pumpkin, *Cucurbita máxima*, oil, biodiésel

¹ Laboratorio de productos naturales, Departamento de preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma de Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Estado de México, C.P. 56230.

Correo: (BRT) benijovi@yahoo.com.mx

² Laboratorio 208, División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Coyoacán, Ciudad de México. C.P. 04510

Correo: (LJRT) linoj23@quimica.unam.mx, (SST) miztisuares@gmail.com, (CYSC) carol.ys.cortes@gmail.com

1. Introducción

El aumento de la población mundial y la industrialización han provocado una mayor demanda energética. Una de las principales fuentes mundiales de energía son los combustibles fósiles, los cuales han sido explotados a un ritmo mucho más rápido provocando un mayor desabasto, además, la sobreexplotación y uso de los combustibles fósiles por parte de los seres humanos ha planteado graves problemas ambientales y ha causado impactos negativos en la Tierra; por lo tanto, en los últimos años se han buscado fuentes alternativas de energía, por ejemplo, aquellas provenientes de energías renovables; solar, eólica, hidroeléctrica, o biocombustibles, como el biodiésel.

El uso de biodiesel ha sido ampliamente reconocido como un agente importante en la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero, además, tiene una gran similitud con el diésel fósil convencional. Podemos definir al biodiesel como ésteres etílicos o metílicos de ácidos grasos de cadena larga obtenidos a partir de aceites vegetales o grasas animales mediante el proceso de transesterificación, ver figura 1 (Reyes et al., 2014).

En el caso de las semillas de calabaza criolla (*Cucurbita maxima*), se utiliza principalmente en la elaboración de alimentos en algunos países, pero, en otros no son utilizadas, por lo que, se convierten en residuos de la calabaza. Estas semillas generan un gran interés por su alto contenido de aceite que oscila entre el 40% y el 60% (Kuppusamy et al. 2022), por lo cual, la utilización de esta semilla para la producción de biodiesel facilita tanto la diversificación en la producción de biocombustibles como la conversión de residuos agrícolas en fuentes de energía sostenibles. Se ha planteado que el aceite de la semilla de calabaza podría presentar características fisicoquímicas adecuadas y sería viable en la producción de un biodiesel que cumpla con estándares de calidad adecuados para su uso. El propósito principal del presente trabajo es la obtención de biodiésel a partir de aceite obtenido de la semilla de calabaza (*Cucurbita maxima*), y su evaluación fisicoquímica para obtener los parámetros de calidad que cumplan con las normas internacionales para ser considerado como un combustible sustentable para el medio ambiente.

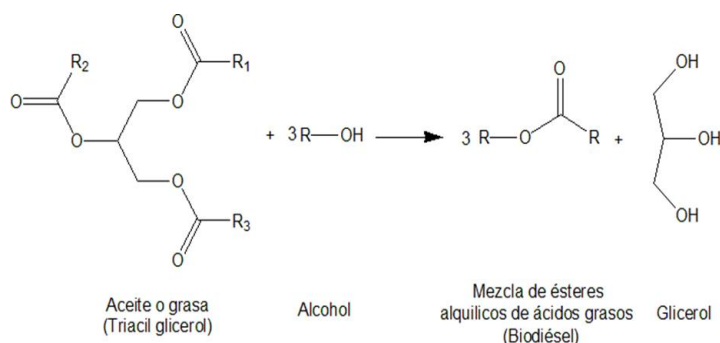


Figura 1. Reacción general de transesterificación en medio básico para la obtención de biodiesel



2. Materiales y métodos

2.1. Recolección de materia prima

Las semillas de calabaza criolla (*Cucurbita maxima*) se obtuvieron en julio del 2023 en el local 34 de la nave C de la central de Abasto ubicada en Ecatepec de Morelos, Estado de México

2.2. Selección y limpieza de semillas

Las semillas calabaza criolla (*Cucurbita maxima*) se separaron de manera manual de las impurezas propias de la calabaza, posteriormente, con ayuda de una pinza de punto fino, se realizó el descascarillado manual de las semillas de para obtener las almendras.

2.3. Caracterización física de las semillas

Se tomó una muestra de 30 semillas de calabaza (*Cucurbita maxima*) a las cuales se les determinó el largo, ancho y grosor con un vernier, y también se midió la masa empleando una balanza analítica SCIENTECH SA80. Además de dichas mediciones físicas, se determinó el porcentaje de humedad de las semillas moliendo una muestra de 5 g en una licuadora convencional y usando una termobalanza OHAUS MB35 a una temperatura de 80 °C para obtener dicho resultado.

2.4. Molienda y tamizado

Se realizó la molienda mecánica de las semillas de calabaza criolla (*Cucurbita maxima*) con ayuda de una licuadora convencional marca OSTERIZER, una vez molido, el polvo obtenido se pasó a través de un tamiz numero 12 (1.70 mm).

2.5. Extracción de aceite

Para la extracción de aceite de semilla de calabaza se realizaron dos métodos que se describen a continuación:

2.5.1. Extracción de aceite por Soxhlet. La extracción de aceite por Soxhlet se realizó siguiendo el procedimiento de la norma NMX-F-089-S-1978 por triplicado utilizando 30 g de una muestra molida de semilla de calabaza y 350 mL de hexano, la mezcla obtenida de disolvente y aceite se secó con Na_2SO_4 anhidrido.

2.5.2. Extracción por maceración. Para dicho método, se colocó 1243.1 g de semilla molida en un recipiente de vidrio y se adicionaron 2000 mL de hexano, se dejó reposar con agitación ocasional durante tres días; después de transcurrir el tiempo, por medio de decantación se obtuvo el extracto, se filtró para después secarlo con Na_2SO_4 anhidro. Por otro lado, el bagazo restante se adiciono el hexano y se repitió el procedimiento de maceración por dos veces más.

2.5.3. Separación del disolvente. El aceite con disolvente obtenido en ambos métodos (Soxhlet y maceración) se separó por medio de un evaporador rotatorio al vacío Büchi R-114 a 60 °C, las trazas de hexano se evaporaron a temperatura ambiente en campana de extracción de gases.

2.6. Obtención de biodiésel

Para la obtención de biodiésel, se colocó en un matraz bola de fondo plano de dos bocas 15 g de aceite y se precalentó a 60 °C, posteriormente, se adiciono 7.5 mL de metanol y 0.18 g de KOH (relación 50 % metanol y 1.2 % KOH respecto al peso del aceite). La reacción se llevó a cabo a 65 °C durante 1 h a 600 rpm. Al finalizar la reacción, se dejó reposar en embudo de separación durante 24 h para la separación de fases entre el biodiésel y la glicerina. Una vez que se separaron, se



continuo con el lavado del biodiésel empleando agua a 65° C hasta pH neutro, finalmente, el biodiesel lavado fue secado con Na₂SO₄ anhidro. El proceso se realizó por triplicado.

2.6.1. Mezclas. Para comparar el diésel y el biodiésel se prepararon mezclas en diferentes proporciones (B50, B60, B70, B80 y B90). La denominación del biodiesel puro es B100 y las mezclas de diésel/biodiésel se denominan “B”, seguida de un número “X” que indica el porcentaje de biodiésel mezclado en el diésel (Monteiro et al., 2023).

2.7. Caracterización de aceite, biodiésel, diésel petroquímico y mezclas diésel: biodiésel

2.7.1. Índice de acidez (IA). Se estimó colocando 0.5 g de muestra a matraz Erlenmeyer de 125 mL, en seguida, se adicionaron 20 mL de etanol al 95 % (v/v) previamente neutralizado y tres gotas de fenolftaleína, posteriormente, la mezcla se calentó en baño de agua a 60 °C para titularse con una solución de KOH 0.0023 N utilizando fenolftaleína como indicador (Nielsen, 2017). Se registró el volumen de KOH y se calculó de acidez usando la ecuación 1.

$$IA \left[\frac{mg_{KOH}}{g_{muestra}} \right] = \frac{mL_{KOH} \times N_{KOH} \times 56.102}{g_{muestra}} \quad (1)$$

2.7.2. Índice de yodo (IY). Se colocó 0.1 g de muestra en matraz Erlenmeyer de 125 mL, al que se adicionaron 5 mL de diclorometano y 10 mL de reactivo de Wijs, dejando reposar 30 min tapado con agitación ocasional y en la oscuridad. Transcurrido el tiempo se adicionó 8 mL de KI al 15% y 50 mL de agua destilada recién hervida y fría. La mezcla se tituló con una solución de Na₂S₂O₃ 0.1 N de acuerdo con NMX-F-152-SCFI-2011. Este procedimiento se efectuó por triplicado y se registró el volumen de Na₂S₂O₃ y se calculó utilizando la ecuación 2.

$$IY \left[\frac{g_{I_2}}{100 g_{muestra}} \right] = \frac{(mL_{Na_2S_2O_3(blanco)} - mL_{Na_2S_2O_3(muestra)}) \times N_{Na_2S_2O_3} \times 0.1269}{m_{muestra}} \times 100 \quad (2)$$

2.7.3. Viscosidad dinámica y cinemática, y densidad. Los valores se obtuvieron introduciendo 4.0 mL de muestra a un viscosímetro Anton Paar Stabinger SVM 3000 y modificando la temperatura desde 20 °C hasta 90 °C en intervalos de 10 °C.

2.7.4. Calor de combustión. Se utilizó el Calorímetro Isoperibólico Parr 6400 colocando 0.5 g de muestra directamente en la porta muestra del equipo, vinculando la muestra con el alambre de ignición por medio de un hilo de ignición, después el soporte de la muestra se colocó en la bomba para iniciar con el proceso de combustión.

2.7.5. Resonancia Magnética Nuclear ¹H del aceite y biodiésel. Para el análisis se utilizaron 0.05 g de muestra la cual se disolvió en Cloroformo deuterado (CDCl₃). El análisis fue realizado en el espectrómetro Agilent NMR 400.

2.7.6. Cromatografía de gases del biodiésel. La composición de ésteres metílicos de ácidos grasos de biodiesel se determinó mediante cromatografía de gases. Para esto la muestra se analizó en cromatógrafo de gases Agilent 6890, equipado con una columna AT-FAME 30m x 0.25 mm y 0.25 μm de espesor de película y un detector de ionización de flama (FID), con flujo de hidrógeno de



1.8 mL/min. La temperatura de horno fue 180 °C en 10 °C/min hasta 230 °C, midiéndose el porcentaje de esteres.

3. Resultados y discusión

3.1. Caracterización de semillas de calabaza

Las semillas de calabaza son blancas amarillentas opacas por la cáscara, y al retirar esta, la almendra presenta un color verde y al partir la semilla, se observa que el centro es blanco. En cuanto a sus dimensiones, una vez medidas y pesadas semillas, se realizó la estadística correspondiente para determinar el promedio y desviación estándar de los valores de largo, ancho, grosor y masa de una muestra de 30 semillas de calabaza (Tabla 4).

Tabla 1. Resultados de características físicas de semillas de calabaza (*Cucurbita maxima*)

Dimensión	Valor de semillas de calabaza con cáscara	Valor de semillas de calabaza sin cáscara
Largo* (cm)	1.86±0.11	1.66±0.24
Ancho* (cm)	1.05±0.26	0.95±0.06
Grosor* (cm)	0.29±0.04	0.23±0.04
Masa* (g)	0.2956±0.0510	0.2263±0.0443

*Valores promedio de una muestra de 30 semillas de calabaza ± desviación estándar

Los valores obtenidos son similares a los presentados por Fedko et al. (2020) para semillas de calabaza (*Cucurbita maxima*) variedades Hokkaido, Gómez y Blue Kuri. Mientras que, el contenido de humedad promedio de las semillas de calabaza fue de 4.14±0.23 %, valor por debajo del 9 % de humedad, lo que indica un almacenamiento adecuado para semillas contenidas en sacos de plástico de acuerdo con SAGARPA (2016). Además, se recomienda un bajo contenido de humedad, debido a que, los ácidos grasos son más susceptibles a oxidarse en presencia de agua

3.2. Extracción de aceite

Para extraer el aceite de la semilla de calabaza, se realizó el método por Soxhlet y método por maceración. Para la extracción por Soxhlet, se obtuvo un rendimiento de 51.33 % (m/m) mientras que el rendimiento de aceite de semillas de calabaza obtenido por maceración fue de 27.38% (m/m), el cual es menor al rendimiento obtenido por Soxhlet, debido a que, las condiciones de extracción eran diferentes y, por lo tanto, la temperatura y la agitación aumenta la extracción del aceite (Atabani et al. 2012).

3.3. Caracterización de aceite

Para conocer si el aceite puede ser utilizado para la obtención de biodiesel, es necesario realizar algunas pruebas previas. En la Tabla 2 se pueden observar los resultados de la caracterización del aceite obtenido de las semillas de calabaza.

3.3.1. Índice de acidez del aceite

El índice de acidez es la cantidad necesaria de KOH para neutralizar los ácidos grasos presentes en el aceite, por lo que, es necesario realizar esta prueba para saber si el aceite es apto para una transesterificación básica, ya que, un índice de acidez mayor al 3 %, indica una mayor cantidad de ácidos grasos libres, provocando un menor rendimiento de la reacción, debido a la formación de



jabones (Atabani et al. 2012). En el caso del aceite de semillas de calabaza el porcentaje de acidez se determinó en base al ácido linoleico, debido a que, es el ácido graso predominante (Fedko et al. 2020). En la tabla 2 se muestran los resultados del porcentaje de acidez para el aceite extraído por Soxhlet y por maceración. A pesar de la diferencia de los valores, ambos aceites presentan un porcentaje de acidez por debajo de 3%, por lo que, se podrá realizar la reacción transesterificación básica para la obtención de biodiésel.

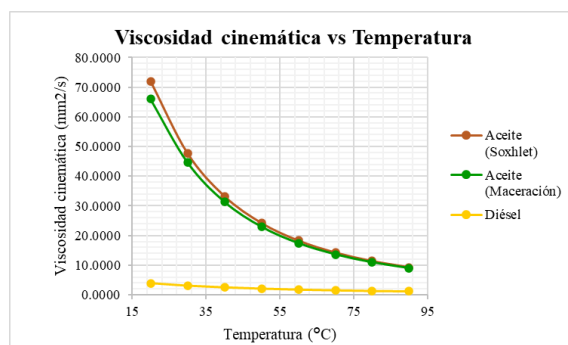
3.3.2. Índice de yodo del aceite

El índice de yodo está relacionado con el contenido de ácidos grasos insaturados presentes en el aceite, un valor más bajo implica un menor grado de insaturación (Fedko et al. 2020). El índice de yodo para el aceite extraído por Soxhlet y el aceite extraído por maceración se muestran en la tabla 2. Este parámetro se debe considerar para la elección del aceite para obtener biodiesel, porque es un indicativo de la estabilidad, ya que, altos valores indican mayor sensibilidad a los procesos de oxidación y un menor periodo de utilidad (Luque y Melero, 2012). El límite de índice de yodo para biodiesel es de 120 gI₂/ 100 g muestra de acuerdo con la norma EN 14214 (Atabani et al. 2012), tomando en cuenta esto, si se desea producir biodiesel de semilla de calabaza a mayor escala, este parámetro no sería una limitación.

3.3.3. Densidad y viscosidad del aceite

La densidad obtenida a 20 °C del aceite de semilla de calabaza extraído por el método Soxhlet y maceración son valores prácticamente idénticos (Tabla 2), por lo que, el método de extracción no interfiere con la densidad del aceite. Por otra parte, la densidad obtenida del diésel petroquímico (0.8366 g/cm³) es menor a la densidad del aceite de calabaza, porque la densidad del aceite se ve afectada de acuerdo con el tipo de ácidos grasos presentes (longitud y grado de insaturación).

En cuanto a la viscosidad, es una medida de la fricción interna o resistencia de un aceite a fluir (Demirbas, 2005). En la tabla 2 se muestran los valores obtenidos de la viscosidad cinemática a 40 °C del aceite de calabaza extraído por Soxhlet y por maceración, los cuales son valores cercanos a 35.6 mm²/g reportado por Schinas, et al. (2009) para el aceite de semilla de calabaza (*Cucurbita pepo* L). A medida que aumenta la temperatura del aceite, su viscosidad disminuye, como se observa en la Gráfica 1, además, la viscosidad del aceite de semilla de calabaza es más de diez veces mayor a la obtenida del diésel petroquímico, lo que representa uno de los principales factores para el procesamiento del aceite para obtener biodiésel y así disminuir la viscosidad, debido a que, este parámetro influye directamente en el funcionamiento del motor (Atabani et al., 2012).



Gráfica 1. Viscosidad cinemática del aceite y biodiésel petroquímico

3.3.4. Calor de combustión del aceite

El calor de combustión representa la energía liberada durante la combustión, este valor es importante debido a que un valor más bajo se refleja en el aumento del consumo de combustible de los automóviles (Andrade et al. 2011). Los valores obtenidos para el aceite de semillas de calabaza extraído por Soxhlet y por maceración se muestran en la tabla 2. Estos valores se encuentran por debajo del valor obtenido para el diésel petroquímico (45.9 kJ/g), así mismo, los valores son similares a lo reportado por Schinas, et al. (2019) para aceite de semilla de calabaza *Cucurbita pepo* L. (38.08 kJ/g).

Tabla 2. Características fisicoquímicas del aceite obtenido de semillas de calabaza (*Cucurbita máxima*) y Diesel petroquímico

Tipo de extracción	*Índice de acidez (mg KOH/g muestra)	*Porcentaje de acidez (% Ac. Linoleico)	*Índice de Yodo (g I ₂ / 100 g muestra)	Densidad a 20 °C (g/cm ³)	Viscosidad a 40°C (mm ² /s)	Calor de combustión (kJ/g)
Soxhlet	1.78±0.04	0.88±0.02	115.15±0.59	0.9190	33.251	39.46
Maceración	0.74±0.01	0.37±0.01	114.99±0.89	0.9192	31.352	39.48

* Valores promedio de pruebas que se realizaron por triplicado

3.4. Obtención de biodiésel

Para la obtención de biodiesel, se realizó la reacción de transesterificación alcalina, la cual fue monitoreada por medio de cromatografía de capa fina (CCF) utilizando como eluyente Hexano/AcOEt/AcOH (9.0:1.0:0.1) y como revelador yodo. Una vez obtenido el biodiesel se pesó y determinó su rendimiento el cual fue de 88.46±0.75% (m/m) para biodiésel obtenido a partir de aceite extraído Soxhlet y 85.45±0.61% (m/m) para biodiésel obtenido a partir de aceite extraído por maceración. Para conocer si la reacción de transesterificación básica se realizó de manera completa, se determinó el espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ¹H del aceite y biodiésel (Figura 2 y 3). Al comparar el espectro obtenido del biodiésel con el espectro del aceite, se observan que las señales de 4.0 a 4.4 ppm, indicativas de la presencia de hidrógenos base del glicerol, no se

encuentran en el espectro del biodiésel, en cambio aparece la señal a 3.7 ppm que corresponden a los protones metoxi de los ésteres metílicos (Braga et al., 2024)

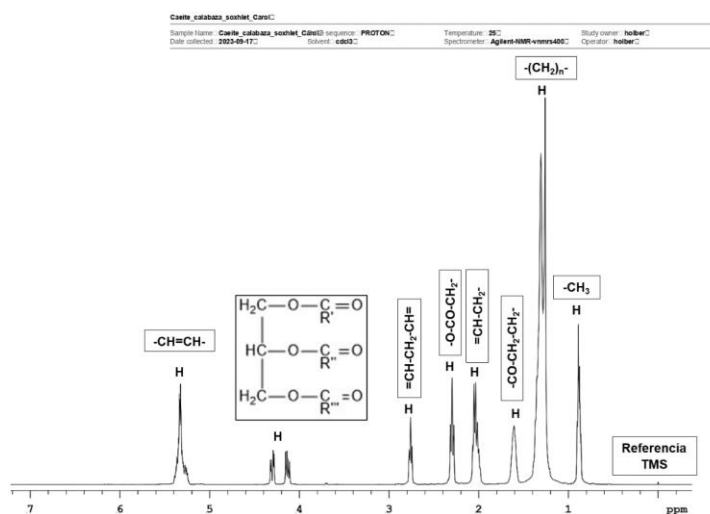


Figura 2. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear ^1H (RMN- ^1H , CDCl_3 , TMS) de aceite de semilla de calabaza (*Cucurbita maxima*)

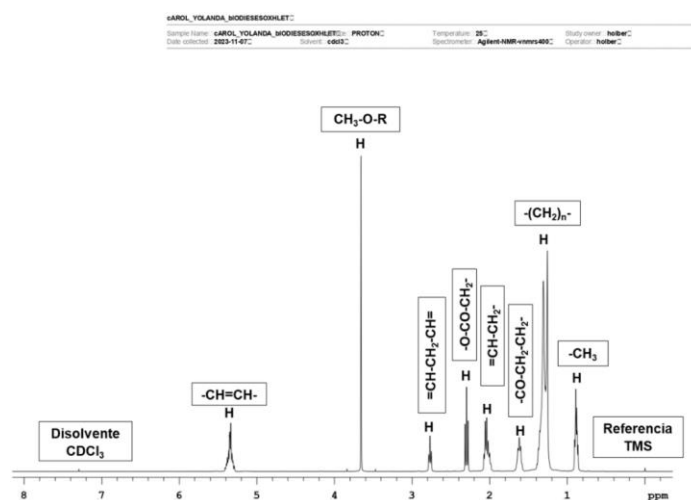


Figura 3. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear ^1H (RMN ^1H , CDCl_3 , TMS) de biodiésel obtenido de aceite de semilla de calabaza (*Cucurbita maxima*)



3.5. Caracterización de biodiésel

Para conocer si el biodiésel obtenido a partir de las semillas de calabaza (*Cucurbita maxima*) pueda ser considerado como una alternativa para su uso como combustible viable, se realizaron diferentes pruebas fisicoquímicas. Los valores obtenidos se compararon con valores obtenidos para el biodiesel petroquímico y con las especificaciones establecidas por las normas internacionales (Tabla 3).

3.5.1. Índice de acidez del biodiésel

En la tabla 3 se muestran los valores de índice de acidez obtenidos para el biodiésel a partir del aceite extraído por método de Soxhlet y maceración. Estos valores se encuentran dentro de los límites máximos establecidos por las normas EN 14214 y ASTM D6751. Es importante considerar que el índice de acidez es una medida de la cantidad de ácidos grasos libres en el biodiésel, por lo que, un valor alto puede provocar una corrosión grave en el sistema de suministro de combustible de un motor y causar bloqueos en el filtro del motor (Atabani et al. 2012).

3.5.2. Índice de yodo del biodiésel

En cuanto a los valores de índice de yodo del biodiesel obtenido a partir de aceite de semilla de calabaza (ver Tabla 3) son inferiores al límite permitido por la norma EN 14214. Un valor alto indica un mayor grado de insaturación, lo que hace susceptible al biodiesel a la oxidación, causando la formación de productos insolubles que causan problemas dentro del sistema de combustible (Meher et al. 2006).

3.5.3. Densidad y viscosidad del biodiésel

Los valores de densidad para biodiésel de aceite extraído por Soxhlet y para biodiésel de aceite extraído por maceración se muestran en la tabla 3. Estos valores se encuentran dentro del intervalo establecido por la norma europea EN 14214 (0.860-0.900 g/cm³). Es importante mencionar que los valores de densidad obtenidos son mayores que la densidad del diésel petroquímico el cual presenta un valor de 0.8411 g/cm³ a 20 °C

En cuanto a la viscosidad, es uno de los parámetros importantes para el biodiésel en cuanto a su uso, ya que, puede afectar el funcionamiento del equipo de inyección de combustible, particularmente a bajas temperaturas cuando el aumento de la viscosidad afecta la fluidez del combustible (Atabani et al. 2012). Los resultados obtenidos para la viscosidad cinemática a 40 °C determinados para biodiésel se observan en la Tabla 3. Ambos valores se encuentran dentro del intervalo establecido por las normas EN 14214 y ASTM D6751. En cuanto al diésel, presentó una viscosidad menor de 2.5494 mm²/s en comparación del biodiésel debido a su menor masa molecular y estructura química (Rizwanul et al., 2020).

3.5.4. Calor de combustión del biodiésel

En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos de calor de combustión. Estos valores cumplen con la norma EN 14214 al tener un valor por arriba del mínimo. Es importante mencionar que los valores de calor de combustión obtenidos son menores que el valor obtenido de diésel petroquímico (45.89 kJ/g) debido a su composición, porque el biodiésel presenta una mayor cantidad de oxígeno (Beyene et al., 2024). Este valor es importante debido a que afecta el transporte y almacenamiento de combustible, un combustible con un mayor calor de combustión puede proporcionar una



distancia de transporte más larga con un tanque de combustible de almacenamiento más pequeño (Gülüm y Bilgin, 2015).

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas del biodiésel del aceite de calabaza y diésel

Prueba	Biodiésel Soxhlet	Biodiésel Maceración	Diésel	Norma EN 14214	Norma ASTM D6751
*Índice de acidez (mg KOH/g muestra)	0.23±0.01	0.11±0.02	0.19±0.01	0.5 máx	0.5 máx
*Índice de yodo (g I ₂ / 100 g muestra)	115.64±0.29	114.15±0.64	9.57±0.58	120 máx	---
Densidad a 20 °C (g/cm ³)	0.8820	0.8790	0.8411	0.860-0.900	---
Viscosidad a 40 °C (mm ² /s)	4.1807	4.1691	2.5494	3.5-5.0	1.9-6.0
Calor de combustión (kJ/g)	40.12	39.82	45.89	35.0 min	---

*Valores promedio de pruebas que se realizaron por triplicado

3.5.5. Cromatografía de gases

Por medio de un análisis por cromatografía de gases, se estableció la composición en ácidos grasos del biodiesel. Mostrando un 77.2 % de ácidos grasos insaturados, el 19.0 % de ácidos grasos saturados y un 3.8 % de ácidos grasos no identificados, siendo el ácido linoleico y el ácido oleico los más abundantes como se muestra en la tabla 4.

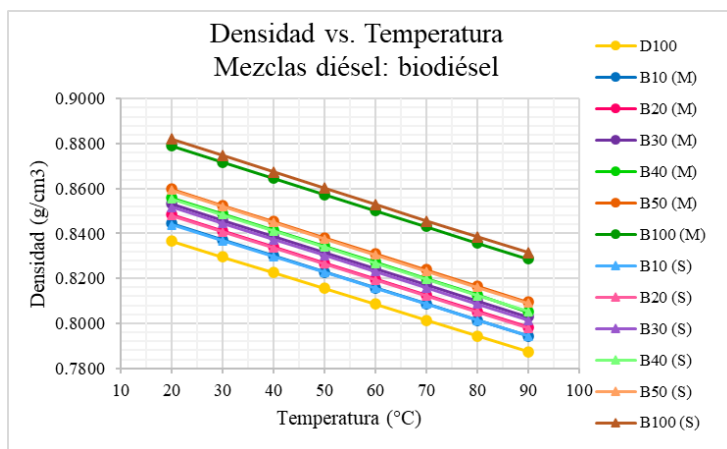
Tabla 4. Perfil de ésteres metílicos de ácidos grasos del biodiésel de semilla de calabaza

Ácido graso	Estructura	Porcentaje (%)
Linoleico	C 18:2	54.8
Oleico	C 18:1	22.4
Palmítico	C 16:0	11.6
Esteárico	C 18:0	7.4
No identificado	---	3.8

3.6. Caracterización de mezclas diésel: biodiésel

El biodiésel se puede usar puro (B100) en motores donde el fabricante aprueba dicho uso, pero se usa más a menudo mezclado con el diésel petroquímico, por lo que, se prepararon mezclas de diésel petroquímico con biodiésel obtenido a partir de la semilla de calabaza en proporciones 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 y 50:50 (diésel: biodiésel v/v) y se determinaron las propiedades fisicoquímicas a cada mezcla (densidad, viscosidad y calor de combustión).

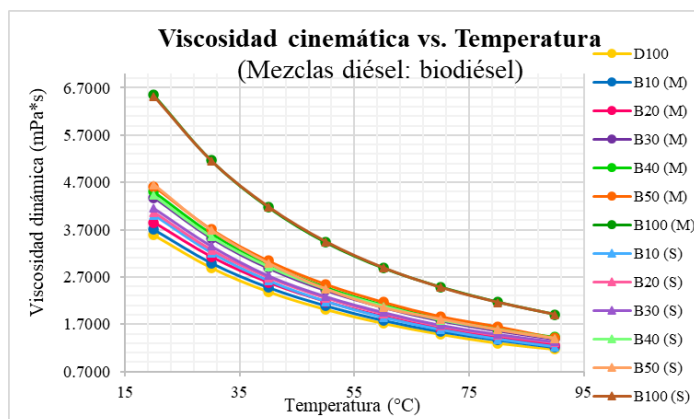
Las variaciones de las densidades de las mezclas de combustible (B10, B20, B30, B40, B50) con respecto a su porcentaje de biodiésel (X) para diferentes temperaturas se presentan en la gráfica 2, también se muestra los valores del diésel petroquímico (D100) y el biodiesel obtenido (B100). Como se puede observar, todas las mezclas de combustible siguen una tendencia similar, es decir, las densidades aumentan al tener un mayor porcentaje de biodiésel para una temperatura específica. Por otro lado, se puede ver que la densidad disminuye al aumentar la temperatura.



Gráfica 2. Densidad de las mezclas diésel: biodiésel.

(S): biodiesel de aceite extraído por Soxhlet; (M): biodiesel de aceite extraído por maceración

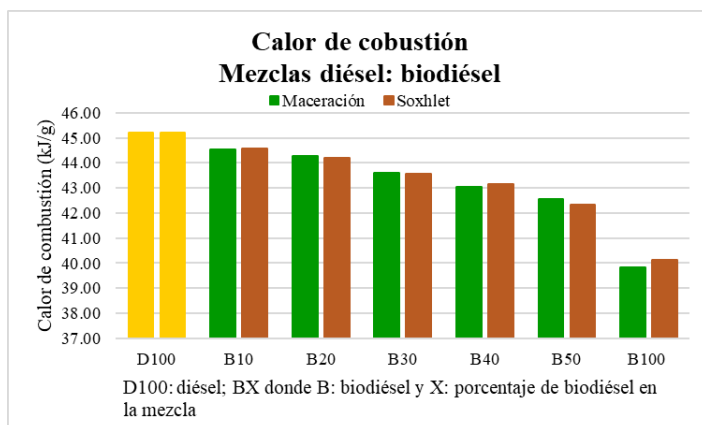
En cuanto a la viscosidad cinemática presentada en las gráficas3, se observa que los valores aumentan a medida que incrementa la cantidad de éster metílico en la mezcla de combustible, debido a que, este parámetro está relacionado con la longitud de cadena de los ésteres metílicos de los ácidos grasos (número de átomos de carbono) y por el grado de insaturación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos (Demirbas, 2008).



Grafica 3. Viscosidad cinemática de las mezclas diésel: biodiésel

(S): biodiesel de aceite extraído por Soxhlet; (M): biodiesel de aceite extraído por maceración

En la gráfica 4 se presentan los valores de calor de combustión para cada una de las mezclas diésel: biodiésel. Los resultados de las mezclas son ligeramente superiores al del biodiésel, pero inferior al del combustible diésel petroquímico, por lo que, los valores disminuyen al aumentar el porcentaje del biodiésel obtenido.



Gráfica 4. Calor de combustión de las mezclas diésel: biodiésel

Las mezclas más utilizadas de diésel: biodiésel son aquellas que contienen un porcentaje menor al 20% de biodiesel, por lo que, la norma ASTM D7467 establece las especificaciones de viscosidad cinemática para el intervalo de mezclas B6 a B20 el cual es de 1.9-4.1 mm²/s a 40 °C (U.S. Department of Energy, 2023). De acuerdo con estas especificaciones, todas las mezclas se encuentran dentro del intervalo de viscosidad.

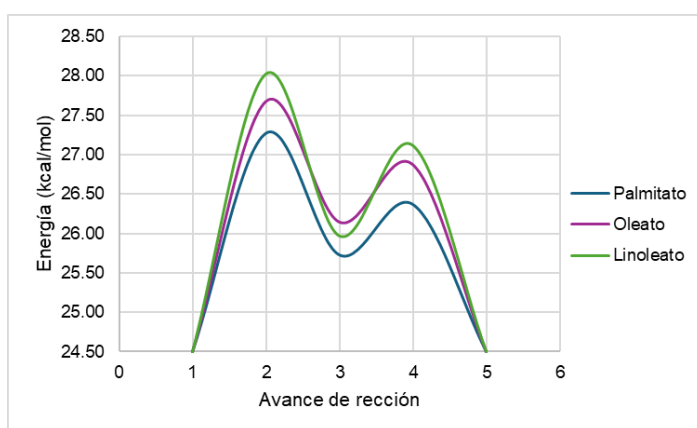
3.7. Propuesta de mecanismo de reacción de transterificación básica mediante calculos DFT

En este trabajo también se estudió el mecanismo de la reacción de transterificación catalizada por bases, empleando como modelo los ésteres propílicos de los ácidos grasos linoleico, oleico y palmítico, principales componentes de los triglicéridos del aceite de la semilla de calabaza (*Cucurbita máxima*). Los cálculos se realizaron con el método semi-empírico PM3, empleando el software *Gaussian 16W* y el visualizador *Gauss view 6.0* (Frisch et al., 2016).

Este mecanismo de reacción para la transterificación catalizada por bases se formuló en dos principales pasos. El primer paso de la reacción consiste en un ataque nucleofílico del anión metóxido sobre el grupo carbonilo del éster propílico para formar un intermediario tetraédrico. El segundo paso es la descomposición de este intermediario para dar lugar a la formación del éster metílico y el anión propóxido.

El estudio semi empírico a nivel PM3 del mecanismo de la reacción se realizó optimizando las geometrías y las energías de todos los puntos estacionarios relevantes en la superficie de energía potencial de la reacción de transterificación.

En la gráfica 5, se presentan los perfiles de energía de las tres reacciones de transesterificación básica estudiadas en este trabajo. Como se observa en la gráfica, la formación del intermediario tetraédrico muestra una mayor energía de activación que la de su descomposición para formar el éster metílico. Lo cual indica que el primer paso es el más lento y el determinante de la velocidad de reacción para los tres ésteres propílicos estudiados. Lo anterior está en controversia con lo obtenido en otro estudio teórico semiempírico (AM1), el cual establece que el segundo paso es el determinante de la reacción de transesterificación de monoacilglicéridos en medio básico (Tapanes et al., 2008). Es importante señalar que otros estudios similares han establecido al primer paso como el determinante de la reacción (Huppes et al. 2013)



Gráfica 5. Perfil de energía de la reacción de transesterificación de los ésteres propílicos con anión metóxido calculada con el programa *Gauss view 6.0* y *Gaussian 16W* empleando cálculos semi-empíricos PM3

Es importante mencionar que, aunque los cálculos semi-empíricos PM3 realizados en este estudio pudieron explicar partes importantes del mecanismo de la reacción de transesterificación básica para la obtención de biodiésel, queda pendiente el estudio de esta reacción con los triglicéridos presentes en el aceite de la semilla de calabaza (*Cucurbita máxima*) utilizando cálculos de mayor nivel.

4. Conclusiones

1. Las semillas de calabaza criolla (*Cucurbita maxima*) contienen un alto contenido de aceite obteniendo un porcentaje de rendimiento de 51% para extracción por Soxhlet y 27% por maceración
2. El aceite de las semillas de calabaza (*Cucurbita maxima*) extraído por Soxhlet y por maceración son 0.88 ± 0.02 % ác. linoleico y 0.37 ± 0.01 % ác. linoleico respectivamente, por lo que, son adecuados para una transesterificación básica al ser un valor menor al 3%.
3. El rendimiento obtenido de biodiesel a nivel laboratorio fue de 88.46 ± 0.75 % (m/m) para extracción por Soxhlet y 85.45 ± 0.61 % (m/m) para maceración.



4. Los valores obtenidos de índice de acidez, índice de yodo, densidad, viscosidad cinemática y de calor de combustión del biodiésel de semilla de calabaza (B100) cumplen con la norma europea EN 14214, así mismo, los valores de acidez y densidad cumplen con la norma ASTM D6751.
5. Las mezclas de diésel: biodiésel cumplen con las especificaciones de viscosidad cinemática, ASTM D7467.

5. Agradecimientos

Se agradece a la Dirección de Apoyo a la Docencia, en el ámbito del Programa de Apoyo a proyectos para Innovar y mejorar la Educación (PAPIME), titulado como; Integración de la química computacional al trabajo experimental de la química orgánica con clave DGAPA-UNAM (Proyecto PAPIME: PE201724)

6. Literatura citada

6.1. Libros

- Luque, R., Melero, J. (2012). *Advances in Biodiesel Production*. United Kingdom. Woodhead Publishing. p.101
- Nielsen, S. (2017). *Food Analysis*, 5th ed. USA. Springer.

6.2. Revistas

- Andrade, R., Faria, E., Silva, A., Araujo, W., Jaime, G., Costa, K., Prado, A. (2011). Heat of combustion of biofuels mixed with fossil diesel oil. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*: 106, 469–474. <https://doi.org/10.1007/s10973-011-1408-x>
- Atabani, A., Silitonga, A., Badruddin, I., Mahlia, T., Masjuki, H., Mekhilef, S. (2012). A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*: 16 (4), 2070-2093. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.003>
- Beyene, D., Bekele, D., Abera, B. (2024). Biodiesel from blended microalgae and waste cooking oils: Optimization, characterization, and fuel quality studies. *AIMS Energy*: 12(2), 408-438. <https://doi.org/10.3934/energy.2024019>
- Braga, E., Damasceno, L., Sousa, C., Silva, L., Cavalcante, M., Nascimento, T., Ríos, M. (2024). 1H NMR and UV-Vis as Analytical Techniques to Evaluate Biodiesel Conversion and Oxidative Stability. *Fuels*; 5(1), 107-122. <https://doi.org/10.3390/fuels5010007>
- Dermibas, A. (2008). Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections. *Energy Conversion and Management*: 49(8), 2106-2116. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2008.02.020>
- Fedko, M., Kmiecik, D., Siger, A., Kulczyński, B., M., Kobus-Cisowska, J. (2020). Comparative characteristics of oil composition in seeds of 31 Cucurbita varieties. *Journal of Food Measurement and Characterization*: 14, 894–904. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00339-6>
- Gülüm, M., Bilgin, A. (2015). Density, flash point and heating value variations of corn oil biodiesel–diesel fuel blends. *Fuel Processing Technology*: 134, 456-464. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2015.02.026>



- Huppel, A., Kuhnen, C., Claudino, S., Dall'Oglio, E., Sousa, P. (2013). DFT study of alkaline-catalyzed methanolysis of pentylic acid triglyceride: Gas phase and solvent effects. *Fuel*: 107, 387-393. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.11.028>
- Kuppasamy, S., Muthushwamy, P., Kumarasamy, M., Subramanian, S. (2022). Analysis of the Emissions and Performance of a Diesel Engine Using Pumpkin Seed Oil Methyl Ester with Different Injection Pressures. *Fluid Dynamics & Materials Processing*: 19(4), 1003-1014. <https://doi.org/10.32604/fdmp.2022.022262>
- Meher, L., Sagar, D., Naik, N. (2006). Technical aspects of biodiesel production by transesterification. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*: 10 (3), 248-268. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2004.09.002>
- Monteiro, L., Zoio, P., Carvalho, B., Fonseca, L., Calado, C. (2023). Quality Monitoring of Biodiesel and Diesel/Biodiesel Blends: A Comparison between Benchtop FT-NIR versus a Portable Miniaturized NIR Spectroscopic Analysis. *Processes*: 11, 1071. <https://doi.org/10.3390/pr11041071>
- Reyes, B., Guerra, D., Zuleta, H., Cuevas, J., Reyes, L., Reyes, A., Rodríguez, J. (2014). Annona diversifolia seed oil as a promising non-edible feedstock for biodiesel production. *Industrial Crops and Products*. 52, 400-404. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.005>
- Rizwanul, I., Ong, H., Mahlia, T., Mofijur, M., Silitonga A., Rahman S., Ahmad, A. (2020). State of the Art of Catalysts for Biodiesel Production. *Frontiers in Energy Research*; 8(101). <https://doi.org/10.3389/fenrg.2020.00101>
- Schinas, P., Karavalakis, G., Davaris, C., Anastopoulos, G., Karonis, D., Zannikós, F., Stournas, S., Lois, E. (2009). Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed oil as an alternative feedstock for the production of biodiesel in Greece. *Biomass and Bioenergy*; 33 (1), 44-49. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2008.04.008>
- Tapanes, N., Gomes, D., Mezquita, J., Ceva, O. (2008). Transesterification of Jatropha curcas oil glycerides: Theoretical and experimental studies of biodiesel reaction. *Fuel*: 87 (10-11), 2286-2295. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2007.12.006>

6.3. Referencias electrónicas

- Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; et al. (2016). Gaussian 16, Revision C.01. *Gaussian* [En línea], Wallingford. Disponible en: <https://gaussian.com> [último acceso 6 de septiembre del 2024]
- SAGARPA (2016). Almacenamiento y conservación de granos y semillas, *Somos semilla* [Archivo PDF], México. Disponible en: <http://somossemilla.org/wp-content/uploads/2017/06/Almacenamiento-de-semillas.pdf> [Último acceso el 1 de septiembre de 2024]
- Secretaría de Economía. (2011). NMX-F-152-SCFI-2011. Alimentos - aceites y grasas vegetales o animales - determinación del índice de yodo por el método ciclohexano – método de prueba. [En línea], México. Disponible en: <https://studylib.es/doc/9095699/nmx-f-152-scfi-2011> [Último acceso el 26 de agosto 2024]
- SEGOB. (1978). NMX-F-089-S-1978. Determinación de extracto etéreo (método Soxhlet) en alimentos. alimentos-determinación del éter extracto (Soxhlet). Normas mexicanas. Dirección general de normas. [En línea], México. Disponible en: <https://tinyurl.com/2xeaz754> [Último acceso el 1 de septiembre del 2024]



- U.S. Department of Energy (2023). ASTM Biodiesel Specifications [En línea]. Disponible en: <https://afdc.energy.gov/fuels/biodiesel-specifications> [Último acceso el 20 de agosto del 2024]



Hacia una Agricultura más Inteligente y Sostenible: Aplicación de la Inteligencia Artificial en el Estudio de los Hongos Entomopatógenos y sus Metabolitos

Luis Germán López Valdez¹

Mesa 4: Química.

Resumen

Este estudio recopiló y analizó resúmenes de artículos científicos sobre hongos entomopatógenos, enfocándose en las tendencias actuales, los investigadores más prolíficos a nivel global y en México, así como en los metabolitos secundarios tanto a nivel nacional como internacional, utilizando las bases de datos SCOPUS y PubMed. Tras la depuración de los datos mediante la librería *pandas* de Python, se aplicaron técnicas de *Machine Learning* (ML) no supervisado para realizar análisis de conglomerados (*clustering*) y procesamiento de lenguaje natural (*NLP*), con el fin de identificar tendencias y nuevas conexiones en la ecología y biodiversidad de estos hongos, prestando especial atención a México. Los hallazgos preliminares tienen el potencial de fomentar el uso responsable de estos hongos en la agricultura sostenible.

Palabras clave:

Hongos entomopatógenos, Metabolitos secundarios, Procesamiento de lenguaje natural (NLP), Machine Learning (ML), Agricultura sostenible, Innovación agrícola, Control de plagas.

Abstract

This study collected and analyzed abstracts of scientific articles on entomopathogenic fungi, focusing on current trends, the most prolific researchers globally and in Mexico, as well as secondary metabolites at both national and international levels, using the SCOPUS and PubMed databases. After cleaning the data using Python's *pandas* library, unsupervised Machine Learning (ML) techniques were applied to perform clustering analysis and natural language processing (NLP) to identify trends and new connections in the ecology and biodiversity of these fungi, with particular attention to Mexico. The preliminary findings have the potential to promote the responsible use of these fungi in sustainable agriculture.

Keywords:

Entomopathogenic fungi, Secondary metabolites, Natural Language Processing (NLP), Machine Learning (ML), Sustainable agriculture, Agricultural innovation, Pest control.

¹ Departamento de preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma de Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Estado de México, C.P. 56230.
Correo: llopezv@chapingo.mx



Introducción

Este estudio aborda los desafíos ambientales, agrícolas y socioeconómicos mediante el uso responsable de recursos naturales y prácticas sostenibles. Los hongos entomopatógenos y sus metabolitos secundarios ofrecen soluciones para el control de plagas, reduciendo el uso de pesticidas químicos y promoviendo la agricultura sostenible. A través de herramientas avanzadas como la inteligencia artificial y el análisis de grandes conjuntos de datos, se busca impulsar la innovación tecnológica y científica en México, contribuyendo a la seguridad alimentaria, el desarrollo rural y la conservación del medio ambiente.

Antecedentes

Hongos entomopatógenos

Los insectos representan una preocupación significativa para la salud humana y la agricultura debido a su capacidad para transmitir enfermedades y dañar cultivos. Ante esto, el uso excesivo de insecticidas ha demostrado tener efectos adversos en la salud y el medio ambiente, lo que ha impulsado la búsqueda de alternativas más sostenibles. Entre estas alternativas, se destacan los hongos entomopatógenos, (*Berestetskiy, A. & Hu, Q. 2021*) capaces de combatir las poblaciones de insectos perjudiciales de manera natural. Ejemplos de estos hongos incluyen *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Lecanicillium-Akanthomyces* spp. (*McKinnon, A. C. et al 2017; Peng, Z.-Y. et al. 2022; Nicoletti, R. & Becchimanzi, A. 2020*). Además de su efecto patogénico directo sobre los insectos, estos hongos pueden producir metabolitos secundarios que influyen en su fisiología. (*Shikano, I. 2017; Francis, F. et al. 2022*). Aunque el uso de hongos entomopatógenos en el control de plagas no es nuevo, su potencial aún no se ha explorado completamente. (*Mantzoukas, S. et al. 2022; Hong, S. et al. 2024*). Es importante destacar que estos microorganismos ofrecen una alternativa prometedora que puede ayudar a abordar los problemas asociados con el uso excesivo de productos químicos en la agricultura, (*Lawler, S. P. 2017; Rust, M. K. et al. 2016*) contribuyendo así a la protección del medio ambiente y la salud pública. (*Jeschke, P. 2021; Bihal, R. et al. 2023*)

Inteligencia artificial en esta investigación

La inteligencia artificial (IA) ha revolucionado numerosas industrias, y sus aplicaciones en el análisis de datos no son una excepción. En los últimos años, los algoritmos de procesamiento del lenguaje natural (NLP) y aprendizaje automático (ML) se han empleado ampliamente para facilitar información relevante mediante el análisis de grandes volúmenes de datos no estructurados en diversos dominios. (*Siddiqui, T., & Amer, A. Y. A. 2023*) Aquí, ofrecemos una visión general de estas investigaciones, destacando sus contribuciones a diversos campos, incluyendo la planificación urbana, la gestión del transporte, la investigación del comportamiento de los viajeros, (*Li, W. et al 2024*) experiencias descriptivas de degustación de alimentos, (*Hamilton, L. M., & Lahne, J. 2020*) análisis de datos genómicos, (*Shim, H. 2019*) categorización de notas médicas, (*Zelina, P. et al. 2023*) clasificación de documentos biomédicos, (*Kesiku, C. Y. et al. 2022*) asociaciones de genes relacionados con el cannabis, (*Jackson, T. J., & Chakraborty, S. 2023*) biología sintética, (*Meier, F. et al. 2023*) y otras áreas. Además, exploramos los trabajos existentes sobre topic modeling y clustering, que están directamente relacionados con nuestro enfoque en NLP y clustering. (*Gupta, M., & Gupta, P. 2019; Limwattana, S., & Prom-on, S. 2021*)



Metodología

Se realizó una búsqueda sistemática de la literatura existente en las bases de datos SCOPUS y PubMed utilizando el término "entomopathogenic". Dado que este estudio se centra en el contenido de los Abstracts, se filtraron los datos para recuperar únicamente: DOI, Abstract, Autores, Título, Journal y año de publicación. El enfoque estuvo exclusivamente en artículos, excluyendo revisiones, minirrevisiones, capítulos de libros, artículos de conferencias, encuestas breves, erratas, notas, cartas, libros y editoriales.

Con la base de datos inicial, se llevó a cabo un proceso de ingeniería de datos para adaptar el formato, lo que permitió aplicar algoritmos de inteligencia artificial como Machine Learning (ML), Procesamiento de Lenguaje Natural (NLP) y técnicas de visualización. Esto facilitó la extracción y análisis de información relevante e innovadora que, de otro modo, no sería fácilmente identificable por un investigador.

Resultados y discusión

Los resultados que enseguida se presentan, están de acuerdo con los datos recopilados y procesados en esta investigación.

- Revistas que más han publicado investigación de hongos entomopatógenos. Fig. 1.
- Los autores más prolifero en la investigación sobre hongos entomopatógenos en el mundo. Fig. 2.
- Los autores más prolifero en la investigación sobre hongos entomopatógenos en México. Fig. 3.
- Los hongos entomopatógenos más estudiados en el mundo Fig. 4.
- Los hongos más estudiados en México Fig. 5.
- La formación de conglomerados de acuerdo con una técnica de procesamiento de lenguaje natural y la aplicación de reducción de dimensiones con PCA y t-SNE. Fig. 6.

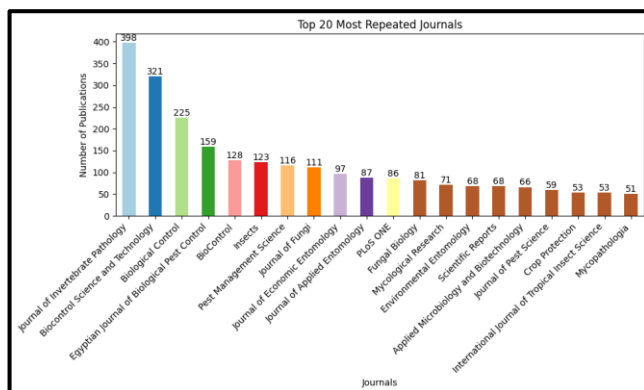


Figura 1. Las 20 revistas que más publican investigaciones de hongos entomopatógenos.

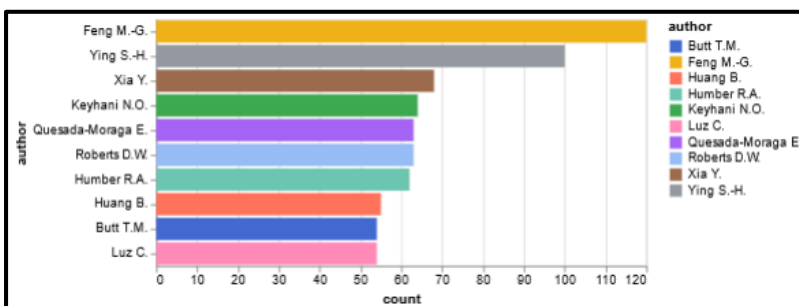


Figura 2. Los 10 autores más prolíferos en la investigación sobre hongos entomopatógenos.

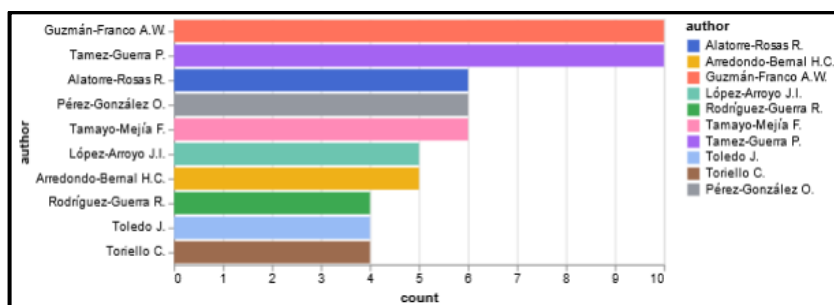


Figura 3. Los 10 autores más prolíferos en la investigación sobre hongos entomopatógenos en México.

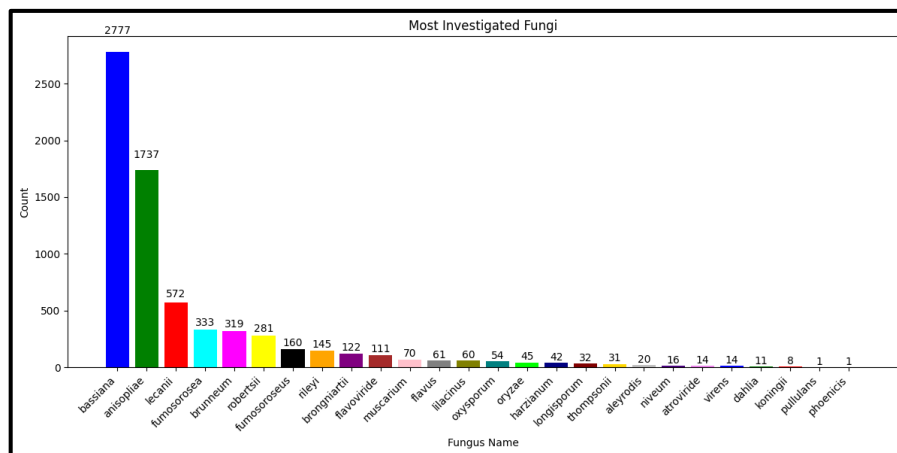


Figura 4. Gráfica de las especies de hongos entomopatógenos más estudiadas en el mundo.

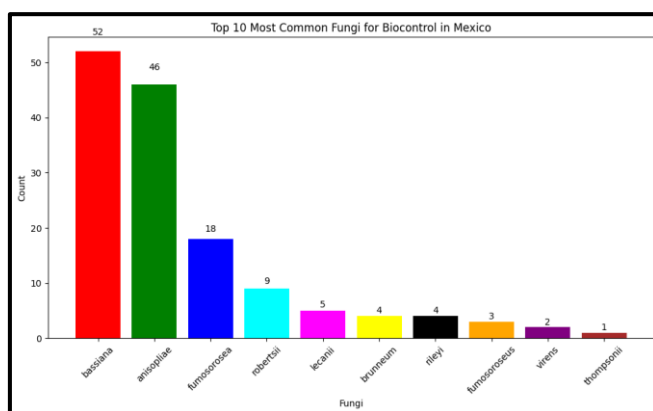


Figura 5. Gráfica de las especies de hongos entomopatógenos más estudiadas en México.

Conglomerados, agrupamientos (clusters)

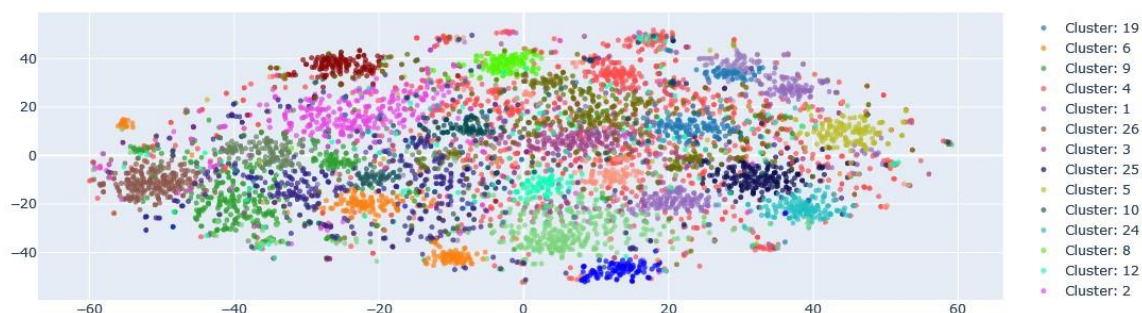


Figura 6. Agrupamiento de la literatura sobre hongos entomopatógenos con PCA, t-SNE y K-Means

Modelado de temas (Topic modeling)

Cluster 19:

Este grupo aborda temas relacionados con especies de ácaros, hongos entomopatógenos y su aplicación en el control biológico de plagas. Se destacan estudios sobre el uso de especies de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para controlar ácaros (*Tetranychus urticae*) y otros



insectos, así como el desarrollo de formulaciones microencapsuladas y mezclas químicas para mejorar la efectividad de estos hongos en ambientes específicos como la región de Pampa. También se explora la preñez y la mortalidad en varias especies depredadoras y de presa bajo diferentes condiciones experimentales.

Cluster 6:

Este grupo se enfoca en compuestos químicos y su actividad biológica, así como la síntesis de nuevos compuestos para el control de plagas e insectos. Se discuten estudios sobre moléculas producidas por hongos como *Cordyceps* y *Paecilomyces*, con un enfoque en su estructura química y actividad biológica en células aisladas. También se analiza el uso de técnicas avanzadas de espectroscopía para la caracterización de metabolitos y la síntesis de compuestos nuevos, destacando su potencial en la agricultura y la biotecnología.

Cluster 9:

Este grupo explora la expresión genética en hongos entomopatógenos, como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, y su relación con la virulencia en insectos huéspedes. Se analizan los genes mitocondriales, las proteínas y las toxinas que estos hongos producen, con un enfoque en cómo afectan a diferentes especies de insectos plaga. También se explora la relación entre los hongos y los sistemas inmunitarios de sus huéspedes, así como las respuestas moleculares involucradas en la infección.

Cluster 4:

Este grupo se centra en la aplicación de hongos entomopatógenos para el control de plagas agrícolas y de insectos específicos, como las cucarachas, el mango y los gorgojos. Además, se investigan otros insectos plaga, como *Diaphorina citri* y *Anthonomus eugenii*, con énfasis en el uso de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para su manejo. También se exploran las propiedades de estos hongos en el contexto de tratamientos agrícolas sostenibles.

Cluster 1:

Este grupo discute los estudios sobre hongos del suelo, principalmente *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, y su uso en el control biológico de plagas en cultivos. Se menciona la diversidad de especies de hongos y su efectividad en diferentes regiones agrícolas, además de su relación con otros microorganismos del suelo. Los estudios destacan la importancia de estos hongos en la biodiversidad y en los ecosistemas agrícolas, así como su aplicación para el manejo integrado de plagas.

Cluster 26:

Este grupo analiza estudios moleculares sobre genes y proteínas asociados con hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana*. Se investiga la conidiación, la virulencia y la resistencia al estrés en estos hongos, con un enfoque en los mecanismos de crecimiento y la producción de esporas. También se exploran estudios sobre proteínas y compuestos que intervienen en la virulencia de los hongos y su capacidad para infectar insectos.



Cluster 3:

Este grupo aborda estudios sobre la mortalidad y el control de insectos plaga como resultado de la aplicación de hongos entomopatógenos. Se enfoca principalmente en la efectividad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en condiciones de campo y laboratorio, evaluando el impacto en diferentes etapas de desarrollo de insectos como larvas y adultos. También se estudian los mecanismos de infección y muerte en insectos como cucarachas y larvas de escarabajos.

Cluster 25:

Este grupo se centra en el uso de hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en plantas, investigando su papel como endófitos y su potencial para mejorar el crecimiento de las plantas y su resistencia a plagas. Los estudios destacan la colonización de las raíces por estos hongos, así como su interacción con el sistema inmunológico de las plantas, y su posible uso en la biofertilización y protección biológica.

Cluster 5:

Este grupo discute el uso de nematodos y hongos entomopatógenos en el control de plagas en el suelo. Se investigan especies como *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema carpocapsae*, además de hongos como *Beauveria bassiana*, para el control de larvas de insectos y otros organismos del suelo. Los estudios exploran la interacción entre nematodos y hongos, así como su efectividad en diferentes condiciones ambientales.

Cluster 10:

Este grupo examina los efectos de extractos vegetales y hongos entomopatógenos en el control de plagas. Se investigan extractos de plantas y su combinación con *Beauveria bassiana* para aumentar la mortalidad de insectos plaga. También se estudian los mecanismos de acción de estos extractos en las células de insectos, con un enfoque en la interacción entre los hongos y los compuestos vegetales para mejorar el control biológico.

A través del análisis de los 6,293 documentos que conforman nuestra base de datos, hemos logrado identificar los siguientes hallazgos:

1. Revistas con mayor número de publicaciones sobre hongos entomopatógenos:

Journal of Invertebrate Pathology (Elsevier)
Biocontrol Science and Technology (Taylor & Francis)
Biological Control (Elsevier).

2. Autores más prolíficos a nivel mundial: Los investigadores con mayor número de publicaciones sobre hongos entomopatógenos a nivel global son:

Feng M.-G., Ying S.H., y Xia Y., todos ellos de China.



3. Autores y regiones más destacados en México en la investigación de hongos entomopatógenos:

- **Colegio de Postgraduados, Estado de México:**
 - Ariel W. Guzmán-Franco
 - Raquel Alatorre-Rosas
 - Víctor H. Pérez-González
 - Fernando Tamayo-Mejía
 - **Universidad Autónoma de Nuevo León:**
 - Patricia Tamez-Guerra
 - **Campo Experimental General Terán-INIFAP, Nuevo León:**
 - J. Isabel López-Arroyo
 - **Universidad Autónoma de Nuevo León:**
 - Raúl Rodríguez-Guerra
 - **Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, Tecomán, Colima:**
 - H.C. Arredondo-Bernal
 - **ECOSUR, Tapachula, Chiapas:**
 - Jorge Toledo
 - **Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX:**
 - Conchita Toriello
4. **Hongos más estudiados a nivel mundial y en México:** Los hongos entomopatógenos más investigados, tanto a nivel global como local, son *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*.
5. **Análisis de conglomerados (clusters):** El análisis nos permitió identificar 28 agrupamientos o clusters en la base de datos.
6. **Análisis de temas (Topic Analysis) por cluster:** El análisis temático por cluster nos proporcionó información sobre cómo se agruparon los documentos en cada conglomerado según los tópicos más comunes, permitiendo la elaboración de resúmenes para cada grupo.

Conclusiones

Utilizando las herramientas avanzadas que ofrece la inteligencia artificial, junto con el lenguaje de programación Python y sus bibliotecas como pandas, numpy, y scikit-learn, hemos aplicado algoritmos de procesamiento de lenguaje natural (NLP) para el análisis de textos, así como técnicas de aprendizaje automático no supervisado (ML) para realizar un análisis de agrupamientos. A través del uso de métodos como el análisis de componentes principales (PCA) y la incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE), que son técnicas comunes para la reducción de dimensionalidad, y el análisis de temas (Topic Modeling), hemos podido extraer información valiosa y detallada de una base de datos que contiene 6,293 artículos científicos.

Para los fines de este proyecto, y con el objetivo de extraer información relacionada con metabolitos secundarios de hongos entomopatógenos, es recomendable enfocarnos en un análisis



más profundo de los documentos pertenecientes al cluster 6, el cual está centrado en compuestos químicos y su actividad biológica.

Literatura Citada

Berestetskiy, A., & Hu, Q. (2021). The chemical ecology approach to reveal fungal metabolites for arthropod pest management. *Microorganisms*, 9(7), 1379. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071379>

Bihal, R., Al-Khayri, J. M., Banu, A. N., Kudesia, N., Ahmed, F. K., Sarkar, R., Arora, A., & Abd-Elsalam, K. A. (2023). Entomopathogenic fungi: An Eco-friendly synthesis of sustainable nanoparticles and their nanopesticide properties. *Microorganisms*, 11(6), 1617. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061617>

Francis, F., Fingu-Mabola, J. C., & Ben Fekih, I. (2022). Direct and endophytic effects of fungal entomopathogens for sustainable aphid control: A review. *Agriculture*, 12(12), 2081. <https://doi.org/10.3390/agriculture12122081>

Gupta, M., & Gupta, P. (2019). Research and implementation of event extraction from twitter using LDA and scoring function. *International Journal of Information Technology*, 11(2), 365–371. <https://doi.org/10.1007/s41870-018-0206-0>

Hamilton, L. M., & Lahne, J. (2020). Fast and automated sensory analysis: Using natural language processing for descriptive lexicon development. *Food Quality and Preference*, 83(103926), 103926. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.103926>

Hong, S., Shang, J., Sun, Y., Tang, G., & Wang, C. (2024). Fungal infection of insects: molecular insights and prospects. *Trends in Microbiology*, 32(3), 302–316. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2023.09.005>

Jackson, T. J., & Chakraborty, S. (2023). The Cannabis sativa genetics and therapeutics relationship network: automatically associating cannabis-related genes to therapeutic properties through chemicals from cannabis literature. *Journal of Cannabis Research*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s42238-023-00182-z>

Jeschke, P. (2021). Status and outlook for acaricide and insecticide discovery. *Pest Management Science*, 77(1), 64–76. <https://doi.org/10.1002/ps.6084>

Kesiku, C. Y., Chaves-Villota, A., & Garcia-Zapirain, B. (2022). Natural language processing techniques for text classification of biomedical documents: A systematic review. *Information (Basel)*, 13(10), 499. <https://doi.org/10.3390/info13100499>

Lawler, S. P. (2017). Environmental safety review of methoprene and bacterially-derived pesticides commonly used for sustained mosquito control. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 139, 335–343. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.12.038>



Li, W., Zhang, Y., Chen, Y., Ding, L., Zhu, Y., & Chen, X. (michael). (2024). Multi-day activity pattern recognition based on semantic embeddings of activity chains. *Travel Behaviour & Society*, 34(100682), 100682. <https://doi.org/10.1016/j.tbs.2023.100682>

Limwattana, S., & Prom-on, S. (2021). Topic Modeling Enhancement using Word Embeddings. 2021 18th International Joint Conference on Computer Science and Software Engineering (IJCSE), 26, 1–5.

Mantzoukas, S., Kitsiou, F., Natsiopoulos, D., & Eliopoulos, P. A. (2022). Entomopathogenic fungi: Interactions and applications. *Encyclopedia*, 2(2), 646–656. <https://doi.org/10.3390/encyclopedia2020044>

McKinnon, A. C., Saari, S., Moran-Diez, M. E., Meyling, N. V., Raad, M., & Glare, T. R. (2017). *Beauveria bassiana* as an endophyte: a critical review on associated methodology and biocontrol potential. *BioControl* (Dordrecht, Netherlands), 62(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s10526-016-9769-5>

Meier, F., Dixon, T., Williams, T., & Paulsen, I. (2023). Navigating the frontier of synthetic biology: An AI-driven analytics platform for exploring research trends and relationships. *ACS Synthetic Biology*, 12(11), 3229–3241. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.3c00192>

Nicoletti, R., & Becchimanzi, A. (2020). Endophytism of *Lecanicillium* and *Akanthomyces*. *Agriculture*, 10(6), 205. <https://doi.org/10.3390/agriculture10060205>

Peng, Z.-Y., Huang, S.-T., Chen, J.-T., Li, N., Wei, Y., Nawaz, A., & Deng, S.-Q. (2022). An update of a green pesticide: *Metarhizium anisopliae*. *All Life*, 15(1), 1141–1159. <https://doi.org/10.1080/26895293.2022.2147224>

Rust, M. K., Lance, W., & Hemsarh, H. (2016). Synergism of the IGRs methoprene and pyriproxyfen against larval cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, 53(3), 629–633. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw010>

Shikano, I. (2017). Evolutionary ecology of multitrophic interactions between plants, insect herbivores and entomopathogens. *Journal of Chemical Ecology*, 43(6), 586–598. <https://doi.org/10.1007/s10886-017-0850-z>

Shim, H. (2019). Feature learning of virus genome evolution with the nucleotide skip-gram neural network. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 15, 117693431882107. <https://doi.org/10.1177/1176934318821072>

Siddiqui, T., & Amer, A. Y. A. (2023). A comprehensive review on text classification and text mining techniques using spam dataset detection. *En Mathematics and Computer Science Volume 2* (pp. 1–17). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119896715.ch1>



Zelina, P., Halámková, J., & Nováček, V. (2023). Extraction, labeling, clustering, and semantic mapping of segments from clinical notes. *IEEE transactions on nanobioscience*, 22(4), 781–788. <https://doi.org/10.1109/tnb.2023.3275195>



Extracción de taninos, compuestos fenólicos y flavonoides a partir de vainas de vainilla: Efecto del tipo de disolvente y proceso de secado

Estela Gómez González¹ ; Blanca Elizabeth Hernández Rodríguez² ; Lilia Areli de Jesús Prado Barragán³ ; Eleazar Aguirre Mndujano².

Mesa 4: Química.

Resumen

La vainilla es una fuente natural de compuestos bioactivos, como taninos, fenoles, flavonoides, entre otros, con un alto potencial de aplicación en la industria alimentaria, especialmente en la formulación de alimentos funcionales. Sin embargo, la eficiencia de su extracción depende de varios factores. Este estudio tuvo como objetivo determinar el tipo de disolvente y las condiciones de humedad de las vainas de vainilla para la extracción de estos compuestos. Con este propósito, se emplearon dos disolventes, etanol y metanol, para extraer compuestos bioactivos de vainas de vainilla secas y húmedas. En los extractos obtenidos se cuantificó el contenido de taninos totales, compuestos fenólicos totales y flavonoides totales mediante métodos espectrofotométricos. Los resultados indicaron que tanto el disolvente como el contenido de humedad de las vainas influyeron significativamente en la extracción de compuestos bioactivos. El metanol demostró ser mejor disolvente para la extracción de taninos y fenoles en vainas secas, mientras que el etanol favoreció la extracción de flavonoides, independientemente del estado de la vainilla (seca o húmeda). Esto sugiere una mayor afinidad del etanol por los flavonoides en comparación con otros compuestos. En conclusión, los resultados son de gran relevancia para la optimización de los procesos de extracción de compuestos bioactivos en vainilla. La selección adecuada del disolvente y el estado de la materia prima debe realizarse en función del compuesto de interés, lo que puede tener un impacto significativo en la formulación de alimentos funcionales, potenciando su valor nutricional y beneficios para la salud.

Palabras clave: *Vanilla planifolia*; Extracción; Compuestos bioactivos.

Abstract

Vanilla is a natural source of bioactive compounds, such as tannins, phenolics, flavonoids, and others, with a high potential for application in the food industry, especially in the formulation of functional foods. However, the efficiency of their extraction depends on several factors. The aim

¹ Universidad Autónoma Chapingo, Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México. C.P. 56230, México. Correo: al23500589@chapingo.mx

² Universidad Autónoma Chapingo, Preparatoria Agrícola. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México. C.P. 56230, México. Correo: bhernandezr@chapingo.mx; eaguirrem@chapingo.mx

³ Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco 186, Leyes de Reforma 1ra Secc, Iztapalapa, Ciudad de México. C.P. 09340, México. Correo: laph@xanum.uam.mx



of this study was to determine the type of solvent and the humidity conditions of the vanilla for the extraction of these compounds. Two solvents, ethanol and methanol, were used to extract bioactive compounds from dry and wet vanilla pods. The extracts obtained were quantified for total tannins, total phenolic compounds and total flavonoids by spectrophotometric methods. The results showed that both the solvent and pod moisture content significantly influenced the extraction of bioactive compounds. Methanol proved to be the best solvent for the extraction of tannins and phenolics in dry pods, while ethanol favoured the extraction of flavonoids, irrespective of the pod state (dry or wet). This suggests a higher affinity of ethanol for flavonoids compared to other compounds. In conclusion, the results are of great importance for the optimisation of extraction processes of bioactive compounds in vanilla. The appropriate choice of solvent and the state of the raw material should be made according to the compound of interest, which can have a significant impact on the formulation of functional foods, enhancing their nutritional value and health benefits.

Keywords: Vanilla planifolia; Extraction efficiency; Bioactive compounds.

Introducción

La vainilla es considerada como uno de los saborizantes más populares del mundo; es obtenida principalmente de *Vanilla planifolia*, una especie de orquídea trepadora tropical. México es el centro de origen y su domesticación, pero actualmente se cultiva en muchos países (Gonzalez-Arnao et al., 2009).

Las vainas contienen compuestos bioactivos que pueden desempeñar funciones de protección contra patógenos, radiación UV, plagas y comunicación para atraer polinizadores, entre otras (Sinha et al., 2008). En algunas orquídeas con uso medicinal se han identificado numerosos metabolitos secundarios que justifican sus propiedades medicinales, como alcaloides, flavonoides, fenantrenos, antocianinas, esteroides y terpenoides (Pérez, 2010; Hossain, 2011). Los aztecas utilizaban la vainilla en el tratamiento de histeria, fiebre, impotencia y reumatismo (Bruman, 1948).

El fruto maduro de la vainilla se ha estudiado y utilizado como agente antioxidante, antimicrobiano, antiinflamatorio y anticancerígeno (Sinha et al., 2008; Shanmugavalli et al., 2009). Los estudios se han realizado mayormente en el fruto beneficiado de la vainilla (Pérez-Silva et al., 2006; Sinha et al., 2008) y se han descrito alrededor de 200 metabolitos del aroma, identificados estructuralmente como ácidos orgánicos, éteres, ésteres, alcoholes, compuestos fenólicos y carbonilos. De estos compuestos, casi un tercio son aromáticos volátiles, entre ellos destacan, por su concentración alta e importancia en el aroma cuatro compuestos fenólicos: ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido vaníllico, *p*-hidroxibenzaldehído y vainillina; este último es el compuesto más abundante (Pérez-Silva et al., 2006; Sharma et al., 2006). Existe información sobre los compuestos presentes y sus beneficios, si embargo, para su aprovechamiento es indispensable conocer las mejores condiciones de extracción. Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio fue probar el efecto del tipo de disolvente y el contenido de humedad de la vaina de vainilla sobre la extracción de taninos, compuestos fenólicos y flavonoides.



Material y Métodos

Material vegetal. Las vainas empleadas fueron beneficiadas de manera tradicional en el periodo de beneficiado del año 2023. Las muestras fueron obtenidas en Jalpilla, San Luis Potosí (SLP) bajo muestreo dirigido, con las siguientes características: mismo grado de madurez, longitud entre 13 a 15 cm y beneficiadas con el mismo proceso y almacenamiento al vacío en condiciones de oscuridad.

Acondicionamiento del material vegetal. Las vainas de vainilla fueron molidas en un molino eléctrico modelo NB-201 72 (NUTRIBULLET®, China) y posteriormente se secó en una estufa de secado Modelo OV73 490A-3 (BLUE M®, U.S.A.) a 40 °C durante 5 h.

Tratamientos. La extracción de Taninos Totales (TT), Compuestos Fenólicos Totales (CFT) y Flavonoides Totales (FT) por triplicado, empleando los siguientes tratamientos: etanol - vainas secas (EtOH-vs), etanol - vainas húmedas (EtOH-vh), metanol - vainas secas (MetOH-vs), y metanol - vainas húmedas (MetOH-vh).

Preparación del extracto. Para la preparación del extracto se utilizó una proporción de vainas-disolvente (1:5). Se emplearon vainas molidas secas y molidas húmedas, las cuales se mezclaron con etanol y metanol (Meyer®). Las mezclas se mantuvieron en agitación constante por 24 h a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla obtenida se filtró a través de un filtro (Whatman® no. 41) y los extractos se diluyeron 1:100 con el disolvente correspondiente.

Taninos totales (TT). Se determinó el contenido de taninos totales de los extractos obtenidos con etanol y metanol (Meyer®) empleando vainas secas y húmedas siguiendo el método descrito por **Makkar (1999)**. Se transfirieron 8.5 mL de los extractos a un tubo de ensayo, se adicionaron 0.5 mL de Folin-Ciocalteu (Meyer®); la mezcla se agitó en Vortex - Genie 2 (Scientific Industries SI-0236, EUA.) por 3 s. Posteriormente, se adicionó 1 mL de carbonato de sodio (disolución saturada) (Meyer®), se dejó incubar a temperatura ambiente por 30 min y se leyó la absorbancia a 760 nm con ayuda de un espectrofotómetro Genesys 10S UV-VIS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA.). Adicionalmente, se preparó una curva estándar de ácido tánico (SIGMA-ALDRICH®) ($0 - 10 \text{ g mL}^{-1}$; $y = 0.7735x - 0.0214$; $R^2 = 0.99$, en donde “y” es la absorbancia obtenida a 760 nm y “x” la concentración de ácido tánico en g mL^{-1}). El contenido de taninos totales se expresó como mg de ácido tánico (ÁT) 100 g^{-1} de vaina seca. La disolución saturada de carbonato de sodio se preparó con 87.5 g de carbonato de sodio en 250 mL de agua destilada a 70 °C en agitación por 15 min, después reposó una noche a temperatura ambiente y se filtró a través de un filtro (Whatman® no. 41).

Compuestos fenólicos totales (CFT). Se determinó la concentración de compuestos fenólicos totales de los extractos obtenidos con etanol y metanol (Meyer®) empleando vainas secas y húmedas, siguiendo el método descrito por Singleton y Rossi (1965) modificado por Gómez-Maldonado et al. (2020). Se colocaron 200 μL del extracto en un tubo que contenía 150 μL de Folin-Ciocalteu (Meyer®) y 1200 μL de agua destilada. La mezcla se agitó en Vortex Vortex - Genie 2 (Scientific Industries SI-0236, EUA.) por 3 s y se dejó reposar 3 min. Posteriormente, se adicionaron 250 μL de carbonato de sodio (Meyer®) al 15 % (p/v), se dejó incubar a temperatura



ambiente por 30 min y se leyó la absorbancia a 760 nm con un espectrofotómetro Genesys 10S UV-VIS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA.). Adicionalmente, se preparó una curva estándar de ácido gálico (SIGMA-ALDRICH®) (0 – 60 mg L⁻¹; $y = 0.011x - 0.1159$; $R^2 = 0.9935$ en donde “y” es la absorbancia obtenida a 760 nm y “x” la concentración de ácido gálico en mg L⁻¹). El contenido de compuestos fenólicos totales se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) 100 g⁻¹ de vaina seca.

Flavonoides totales (FT). Se determinó el contenido de flavonoides totales de los extractos obtenidos con etanol y metanol (Meyer®) empleando vainas secas y húmedas, siguiendo la metodología descrita por Gomes et al. (2017). Se transfirieron 250 µL de los extractos a un tubo de ensayo, se adicionó 1 mL de agua destilada, 50 µL de nitrato de sodio (SIGMA-ALDRICH®) al 5 % (p/v) y se dejó reposar durante 6 min. Posteriormente, se añadieron 50 µL de cloruro de aluminio (SIGMA-ALDRICH®) al 10 % (p/v) y transcurridos 5 min, se adicionaron 500 µL de NaOH (Meyer®) al 10 % (p/v) y se completó a un volumen de 2.5 mL, con 650 µL de metanol (Meyer®). Se dejó incubar por 30 min y se leyó la absorbancia a 425 nm con el espectrofotómetro Genesys 10S UV-VIS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA.). Se preparó una curva estándar de quercetina (SIGMA-ALDRICH®) (0 – 50 µg mL⁻¹; $y = 0.0011x - 0.01$; $R^2 = 0.9932$, en donde “y” es la absorbancia a 425 nm y “x” la concentración de quercetina en µg mL⁻¹). Los resultados se reportaron como µg equivalentes de quercetina 100 g⁻¹ de vaina seca.

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) con el fin de evaluar las diferencias significativas entre los tratamientos en términos de la eficiencia de extracción. Cuando el ANOVA resultó significativo, se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey para identificar diferencias específicas entre los tratamientos. En ambos casos se consideró un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

Resultados y discusión

Contenido de taninos totales (TT). El mayor contenido de TT se observó en el tratamiento MetOH-vs (1537.503 mg ÁT/100 g_{vs}). En contraste, las extracciones con etanol empleando tanto vainas secas (EtOH-vs) como vainas húmedas (EtOH-vh), presentaron los menores valores, 577.534 y 820.761 mg ÁT/100 g_{vs}, respectivamente. El tratamiento MetOH-vh mostró un contenido intermedio de taninos (995.418 mg ÁT/100 g_{vs}). Estos resultados coinciden con Khoddami et al., (2013) quien menciona que los taninos son compuestos polifenólicos altamente polares, por lo que el metanol, siendo un disolvente con mayor polaridad, tiene una mejor capacidad para solubilizar taninos.

Compuestos Fenólicos Totales (CFT). El mayor contenido de CFT se observó en el tratamiento MetOH-vs (1095.863 mg EÁG/100 g_{vs}), aunque fue estadísticamente similar al tratamiento EtOH-vs (1059.500 mg EÁG/100 g_{vs}). En contraste, el tratamiento MetOH-vh presentó el valor más bajo (500.409 mg EÁG/100 g_{vs}). El tratamiento EtOH-vh mostró un contenido intermedio de CFT (877.681 mg EÁG/100 g_{vs}), sin diferencias significativas respecto a MetOH-vs y EtOH-vs. La similitud entre los tratamientos con metanol y etanol en vainas secas se explica por la naturaleza fenólica de los compuestos extraídos, que presentan afinidad tanto por disolventes polares como



semi-polares. Aunque el **metanol** es más polar que el **etanol**, los compuestos fenólicos totales incluyen una amplia gama de moléculas con distintas polaridades, lo que justifica la efectividad de ambos disolventes (Do et al., 2014). La mayor eficiencia en vainas secas coincide con Sulaiman et al., (2011), quien menciona que la presencia de agua en el material vegetal puede dificultar la extracción, ya que diluye la concentración del disolvente orgánico, disminuyendo la eficacia del proceso.

Flavonoides Totales (FT). El mayor contenido de FT se observó en los tratamientos EtOH-vs y EtOH-vh (2424.242 y 2363.636 mg EQ/100 gvs). En contraste, el tratamiento MetOH-vs obtuvo el menor valor (568.181 mg EQ/100 gvs). El tratamiento MetOH-vh también mostró un alto contenido de flavonoides (2378.787 mg EQ/100 gvs), similar a los tratamientos con etanol. Los resultados coinciden con Dai y Mumper, (2010) que mencionan a los flavonoides, especialmente aquellos menos polares, se extraen mejor con disolventes como el etanol, que proporciona un equilibrio ideal entre polaridad y solubilidad, puesto que los flavonoides más apolares tienden a ser menos solubles en disolventes altamente polares como el metanol (Lapornik et al., 2005).

Cuadro 1. Extracción de taninos totales, compuestos fenólicos totales y flavonoides totales empleando etanol y metanol en vainas húmedas y secas.

Tratamiento	TT mg de ÁT/100 gvs	CFT mg EÁG/100 gvs	FT mg EQ/100 gvs
EtOH-vs	577.534 cd $\pm$ 7.318	1059.500 b $\pm$ 138.207	2424.242 b $\pm$ 138.86
EtOH-vh	820.761 cd $\pm$ 124.416	877.681 b $\pm$ 61.068	2363.636 b $\pm$ 128.56
MetOH-vs	1537.503 $\pm$ 7.762 a	1095.863 b $\pm$ 99.637	568.181 a $\pm$ 32.141
MetOH-vh	995.418 bd $\pm$ 100.630	500.409 a $\pm$ 28.927	2378.787 b $\pm$ 69.432

Nota:etanol vainilla seca (EtOH-vs); etanol vainilla húmeda (EtOH-vh) metanol vainilla seca (MetOH-vs); metanol vainilla húmeda (MetOH-vh). Todos los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar, n = 3. Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos (Tukey, $\alpha=0.05$).

Los resultados obtenidos muestran que el disolvente y el contenido de humedad de las vainas de vainilla influyen significativamente en la eficiencia de la extracción de compuestos bioactivos. El uso de metanol en vainas secas promovió mayor extracción de taninos totales y compuestos fenólicos totales en comparación con los demás tratamientos. Sin embargo, la extracción de flavonoides fue más eficiente cuando se utilizó etanol, tanto en vainilla seca como en vainilla húmeda, lo cual puede atribuirse a la afinidad del etanol con este grupo de compuestos.



Conclusiones

Los resultados obtenidos son importantes para optimizar los procesos de extracción de compuestos bioactivos presentes en las vainas de vainilla, ya que sugieren que el tipo de disolvente y la condición de la materia prima (seca o húmeda) deben seleccionarse en función del compuesto de interés a extraer, el cual es un ingrediente potencial en la formulación de alimentos funcionales.

Literatura Citada

- Bruman, H. (1948). The culture history of Mexican vanilla. *Hisp. Am. Hist. Rev.* 28(3): 360-376. doi.org/10.2307/2507753
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10): 7313-7352. doi.org/10.3390/molecules15107313
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3): 296-302. doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001
- Gonzalez-Arnan, M. T., Lazaro-Vallejo, C. E., Engelmann, F., Gamez-Pastrana, R., Martinez-Ocampo, Y. M., Pastelin-Solano, M. C. & Diaz-Ramos, C. (2009). Multiplication and cryopreservation of vanilla (*Vanilla planifolia* 'Andrews'). *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 45(5): 574-582. doi.org/10.1007/s11627-009-9242-6
- Hossain, M. M. (2011). Therapeutic orchids: traditional uses and recent advances-an overview. *Fitoterapia*, 82: 102-140. doi.org/10.1016/j.fitote.2010.09.007
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2): 2328-2375. doi.org/10.3390/molecules18022328
- Lapornik, B., Prošek, M., & Wondra, A. G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, 71(2): 214-222. doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.036
- Pérez G., R. M. 2010. Orchids: A review of uses in traditional medicine, its phytochemistry and pharmacology. *J. Med. Plants Res.* 4(8): 592-638. doi: 10.5897/JMPR10.012
- Pérez-Silva, A., Odoux, E., Brat, P., Ribeyre, F., Rodríguez-Jiménez, G., Robles-Olvera, V., García-Alvarado, M.A. & Günata, Z. (2006). GC-MS and GC-olfactometry analysis of aroma compounds in a representative organic aroma extract from cured vanilla (*Vanilla planifolia* G. Jackson) beans. *Food Chem.* 99(4): 728-735. doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.050
- Shanmugavalli, N., Umashankar, V. & Raheem. (2009). Antimicrobial activity of *Vanilla planifolia*. *Indian J. Sci. Technol.* 2(3): 37-40. doi:10.17485/ijst/2009/v2i3/29411



Singleton, V. L., R. Orthofer, R. M. Lamuela-Raventos. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method. Enzymol.* 299: 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

Sinha, A. K., U. K. Sharma, and N. Sharma. 2008. A comprehensive review on vanilla flavor: extraction, isolation and quantification of vanillin and others constituents. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 59: 299-326. <https://doi.org/10.1080/09687630701539350>

Sulaiman, S. F., Yusoff, N. A. M., Eldeen, I. M., Seow, E. M., Sajak, A. A. B., Supriatno, & Ooi, K. L. (2011). Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa sp.*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.04.005>



Proteínas alergenas de chapulines del centro de México

Gabriela Carrillo-Sancén¹, Eleazar Aguirre Mandujano², Blanca Elizabeth Hernández Rodríguez², Consuelo Silvia Olivia Lobato Calleros²

Mesa 4: Química.

Resumen

Los chapulines representan una fuente de consumo de proteína de tradición en México, a pesar de esto no se ha revisado la potencial alergenicidad que pudiera ocasionar el consumo de estos insectos como se ha realizado para otros insectos comestibles. El objetivo de este trabajo fue detectar las proteínas con potencial alergenicidad de chapulines *Sphenarium purpurascens* colectados en estados del centro de México. Se detectaron 20 proteínas con potencial alergenicidad y fueron prácticamente las mismas para las muestras de chapulines colectadas en los tres sitios evaluados. Se ha reportado que algunas de las proteínas detectadas con potencial alergenicidad en las muestras de chapulines evaluadas pueden ocasionar una reacción cruzada con el consumo de otras especies alergénicas (ácaros del polvo doméstico, camarones, langostinos y cangrejos) y por lo tanto es importante que individuos con previas alergias a estas especies alergénicas tengan cuidado en el consumo de chapulines.

Palabras clave: *Sphenarium purpurascens*, proteínas, alérgenos alimentarios.

Abstract

“Chapulines” are a traditional source of protein consumption in Mexico, but the potential allergenicity that could be caused by the consumption of these insects has not been evaluated as it has been done for other edible insects. The objective of this work was to detect the proteins with potential allergenicity of the “chapulines” *Sphenarium purpurascens* collected in states of central Mexico. Twenty proteins with potential allergenicity were detected and they were practically the same for the “chapulines” samples collected in the three sites evaluated. It has been reported that some of the proteins detected with potential allergenicity in the “chapulines” samples evaluated can cause a cross-reaction with the consumption of other allergenic species (house dust mites, shrimp, prawns and crabs) and therefore it is important that individuals with previous allergies to these allergenic species be careful when consuming “chapulines”.

Keywords: *Sphenarium purpurascens*, proteins, food allergens.

Introducción

¹ Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C.P. 56230, México. Correo: casaby@hotmail.com.

² Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C.P. 56230, México. Correos: bhernandezr@chapingo.mx; clobatoc@chapingo.mx; eguirrem@chapingo.mx.



Los insectos comestibles constituyen una fuente potencial de proteína para la población mundial. En México, los chapulines representan uno de los principales insectos comestibles y tienen un contenido de proteína elevado (arriba del 60% base seca) (Ramos-Elorduy y col. 1998). A pesar de tener un alto contenido de proteína es importante considerar la seguridad alimentaria al consumir insectos comestibles ya que se ha reportado que los insectos comestibles han causado alergias tras su consumo (de Gier y Verhoeckx 2018). Ejemplos de insectos a los cuales se les han detectado proteínas con potencial alergenicidad son: *Acheta domesticus*, *Alphitobius diaperinus*, *Bombyx mori*, *Tenebrio molitor*, *Zophobas morio*, *Hermetia illucens* (Barre y col. 2021; Varunjikar y col. 2022). Los chapulines son consumidos en México por tradición y a pesar de ser una buena alternativa a las fuentes convencionales de proteína, no hay reportes del posible potencial de alergenicidad por el consumo de este insecto. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue detectar la posible presencia de alérgenos en los chapulines *Sphenarium purpurascens* colectados en estados de centro de México.

Materiales y métodos

1. Adquisición, lavado, almacenamiento y secado de chapulines

Se obtuvieron muestras de chapulines *Sphenarium purpurascens* de tres sitios de estados del centro de México, a continuación, se mencionan los sitios de colección junto con la abreviatura que se utilizará en el presente trabajo: Rancho Santa Lucía en el INIFAP valle de México en la localidad de Coatlinchán, municipio de Texcoco, estado de México (MT), localidad San Juan Calmecha, municipio de Tepexco, estado de Puebla (P) y localidad de El Rosario, municipio de Tlaxco, estado de Tlaxcala (T). La colección de los chapulines la realizaron colectores locales de las comunidades en el mes de noviembre del año 2022. Los colectores nos entregaron los chapulines vivos en bolsas de plástico y se dejaron los chapulines en las bolsas de plástico cerradas durante un día para que se limpiaran los intestinos de los chapulines. Una vez transcurrido un día los chapulines se enjuagaron con abundante agua de llave y 2 veces con agua destilada. Los chapulines se almacenaron a -20°C hasta su uso. Los chapulines se secaron en estufa (RIOSSA, modelo HCF-62, México) a 45 °C durante 24 horas y se almacenaron a -20°C hasta su uso.

2. Extracción de proteína y análisis proteómico

La metodología de extracción de proteína y análisis proteómico de los chapulines *Sphenarium purpurascens* se encuentra a detalle en Carrillo-Sancén y col. (manuscrito en preparación), a continuación, se describe de manera breve. Se seleccionaron 10 chapulines y se realizó la extracción de proteína de acuerdo con Bose y col. (2021). Las muestras de proteína soluble se congelaron a -20 °C hasta los posteriores análisis. La concentración de proteína en las muestras se determinó con el método de Bradford (1976). Se realizó la digestión triptica de los extractos de proteína mediante tripsina grado espectrometría de masas (Promega, Madison, Wisconsin, EUA). La mezcla de los péptidos que se obtuvieron de la digestión triptica se analizaron en un espectrómetro de masas Orbitrap Fusion Lumos Tribrid (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). Para la identificación de las proteínas se utilizó Proteome Discoverer 1.4.1.14 (Thermo Fisher Scientific, San José, CA, EUA). Se utilizó Scaffold 5.3.3 (Proteome Software, Portland, Oregon, EUA) para poder visualizar las proteínas identificadas.

4. Detección de alérgenos



Las secuencias de las proteínas identificadas en el análisis proteómico se utilizaron para detectar su potencial alergenicidad utilizando la base de datos AllergenOnline (www.allergenonline.org).

Resultados y discusión

Los resultados de la identificación de las proteínas del chapulín *Sphenarium purpurascens* de tres estados del centro de México se encuentran en el manuscrito en preparación de Carrillo-Sancén y col. Se utilizaron las secuencias de las proteínas identificadas en el análisis proteómico de los chapulines para poder detectar las potenciales proteínas alergenas, haciendo una alineación de las secuencias de las proteínas identificadas con las de la base de datos de AllergenOnline, los resultados se muestran en el Cuadro 1. Se detectaron 20 proteínas con potencial alergenicidad y fueron prácticamente las mismas para las muestras de chapulines colectadas en los tres sitios. La peptidyl-prolyl cis-trans isomerase fue la única proteína que se detectó en un solo sitio (Estado de México), siendo una proteína particular para las condiciones climáticas y de alimentación de esas muestras de chapulines. Las proteínas tropomiosina y miosina, que fueron detectadas en los tres sitios de colección, han sido ampliamente detectadas en insectos comestibles como potenciales alérgenos (Barre y col. 2021; Varunjikar y col. 2022). Se ha reportado que estas dos proteínas también han estado involucradas en generar una reacción cruzada con otras especies alérgicas como lo son los ácaros del polvo doméstico, camarones, langostinos y cangrejos, siendo importante que los individuos que tengan alergias por estas especies tengan cuidado al consumir chapulines (de Gier y Verhoeckx 2018).

Cuadro 1. Proteínas con potencial alergenicidad detectadas en *Sphenarium purpurascens* colectados en 3 sitios de estados del centro de México. Celda en color azul indica la presencia de la proteína indicada en el sitio de colección

Proteínas	Sitio de colección		
	Estado de México	Puebla	Tlaxcala
Aldehído deshidrogenasa			
Arginina quinasa			
Calmodulina			
Proteína ER gp78			
Glutación-S transferasa delta4			
Proteína de choque térmico 20.6			
Proteína de choque térmico 70			
Proteína similar a la hexamerina 1			
Proteína similar a la hexamerina 2			
Canal aniónico dependiente de voltaje mitocondrial			
Miosina			
Peptidil-prolil cis-trans isomerasa			
Peroxirredoxina 6			
Fosfopiruvato hidratasa			
Glutación S-transferasa sigma			
TnC2			



TnC3			
Tropomiosina			
Troponina			
Cadena alfa de tubulina			

Conclusiones

Se detectó la presencia de 20 proteínas con potencial alergenicidad en las muestras de chapulines *Sphenarium purpurascens* de estados del centro de México, la mayoría de las proteínas fueron detectadas en los tres sitios y solo la peptidyl-prolyl cis-trans isomerase fue la única proteína que se detectó manera única en las muestras del estado de México. Es importante considerar que dentro de las proteínas detectadas con potencial alergenicidad se encuentran proteínas que se han reportado con reactividad cruzada.

Literatura Citada

Barre, A., Pichereaux, C., Simplicien, M., Burlet-Schiltz, O., Benoist, H., Rougé, P. (2021) A Proteomic- and Bioinformatic-Based Identification of Specific Allergens from Edible Insects: Probes for Future Detection as Food Ingredients. *Foods* 10(280). <https://doi.org/10.3390/foods10020280>

Bose, U., Broadbent, J. A., Juhász, A., Karnaneedi, S., Johnston, E. B., Stockwell, S., Byrne, K., Limvipuvadh, V., Maurer-Stroh, S., Lopata, A. L., & Colgrave M. L. (2021). Protein extraction protocols for optimal proteome measurement and arginine kinase quantitation from cricket *Acheta domesticus* for food safety assessment. *Food Chemistry* 348, 129110. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129110>

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

Carrillo- Sancén, G., Hernández-Rodríguez, B.E., Lobato-Calleros, C.S.O., Aguirre-Mandujano, E. Physical, chemical and proteomic characterization and allergen detection of the Mexican edible grasshopper *Sphenarium purpurascens*. “Manuscrito en preparación”.

de Gier, S., Verhoeckx, K. (2018). Insect (food) allergy and allergens. *Molecular Immunology* 100, 82-106. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2018.03.015>

Ramos-Alorduy, J., P.M., J.M., Cuevas-Correa, S. Insectos comestibles del estado de México y determinación de su valor nutritivo. *Anales del Instituto de Biología* 69(1), 65-104.

Varunjikar, M.S., Belghit, I., Gjerde, J., Palmblad, M., Oveland, E., Rasinger, J.D. (2022). Shotgun proteomics approaches for authentication, biological analyses, and allergen detection in feed and food-grade insect species. *Food Control* 137(108888). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108888>



Cambios en la composición fisicoquímica y ácidos grasos durante la maduración del queso de prensa de Cuajinicuilapa, Guerrero.

José Alberto Mendoza-Cuevas¹; Diana Guerra-Ramírez²; Ernestina Valadez-Moctezuma³³ & Emmanuel Flores-Girón¹

Mesa: 4 Química.

Resumen

El queso de prensa es elaborado de forma artesanal con leche de vaca en la región de la Costa Chica del estado de Guerrero principalmente en el municipio de Cuajinicuilapa; y en Pinotepa Nacional, perteneciente a la región Costa del estado de Oaxaca. El objetivo de este trabajo analizar los cambios en la composición proximal y de ácidos grasos durante distintos periodos de maduración (5, 45, 90 días) del queso de prensa adquiridos en dos queserías artesanales (A, B) de Cuajinicuilapa, Guerrero. Se determinó la composición proximal empleando un analizador de infrarrojo cercano (FoodScanTM). Para ello una muestra del centro de cada uno de los quesos (50 g) fue previamente rallada para después ser colocada en cajas Petri de vidrio y se realizó la lectura en el equipo. Para el estudio de ácidos grasos se obtuvieron ésteres metílicos los cuales fueron analizados mediante cromatografía de gases. Los resultados de la composición proximal mostraron que conforme avanza el periodo de maduración sufre modificaciones que pueden contribuir a las características propias del queso; se encontraron cinco ácidos grasos libres predominantes que representan alrededor del 80 % de la composición del perfil graso.

Palabras claves: quesos artesanales, ácidos grasos, maduración, proximal.

Abstract

Prensa cheese is made in an artisanal way from raw cow's milk in the Costa Chica region of the state of Guerrero, located mainly in the municipality of Cuajinicuilapa; and in Pinotepa Nacional, in the Costa region of the state of Oaxaca, México. The objective of this research was to analyze the changes in the proximal and fatty acid composition during the ripening (5, 45, 90 days) of prensa cheese acquired in two artisan cheese factories (A, B) of Cuajinicuilapa, Guerrero. Proximal composition was determined using a near infrared analyzer (FoodScanTM). A core sample of each of the cheeses (50 g) was previously grated and then placed in glass Petri dishes and read by the analyzer. For the fatty acid study, methyl esters were obtained and analyzed by gas chromatography. The results of the proximal composition showed that as the ripening period progresses, it shows modifications that can contribute to the characteristics of the cheese; there are five predominant free fatty acids that represent about 80% of the composition of the fatty profile.

Keywords: Artisanal cheeses, fatty acids, ripening, proximal.

¹ Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Carretera México- Texcoco km 38.5, Texcoco, Estado de México. México.

² Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Preparatoria Agrícola. Texcoco, Estado de México. México.

³ Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Fitotecnía. Texcoco, Estado de México. México.

Correo: al21130529@chapingo.mx; dguerrar@chapingo.mx; evaladezm@chapingo.mx; efloresg@chapingo.mx



Introducción

Los quesos artesanales forman parte primordial de la dieta de diversas sociedades alrededor del mundo, ya que además de ser una rica fuente de nutrientes, son empleados en la gastronomía local en la elaboración de diversos platillos (López-Expósito, Miralles, Amigo & Hernández-Ledesma, 2017; Santiago-López *et al.*, 2018).

La aceptación de estos productos radica principalmente las propiedades organolépticas como: el sabor y aroma, las cuales están determinadas por diversos factores: origen de materia primas, procesos tecnológicos, condiciones de maduración y almacenamiento (Shu, 2022; Khattab *et al.*, 2019; Anastasiou *et al.*, 2022; Jiang *et al.*, 2022).

Los cambios bioquímicos que ocurren durante la maduración intervienen en el desarrollo de las características sensoriales de los quesos, afectando el metabolismo de la lactosa residual, lactato, citrato, proteólisis y lipólisis mediante la intervención de las comunidades microbianas y enzimas tanto endógenas como exógenas (Khattab *et al.*, 2019), generando una serie de metabolitos secundarios que confieren las características únicas en los diferentes quesos (Anastasiou *et al.*, 2022; Khattab *et al.*, 2019).

Durante la etapa de la lipólisis, mediante la hidrólisis de las grasas, se obtienen los ácidos grasos libres; los cuales contribuyen de manera diferente al sabor y aroma en las variedades de quesos, debido a que son precursores de compuestos como ésteres, alcoholes, aldehídos y cetonas (Akarc, 2020).

El queso de prensa es un queso elaborado de forma artesanal en la región de la Costa Chica del estado de Guerrero y la Costa del estado de Oaxaca, con leche de vaca, sin pasteurizar, que pasa por una etapa de prensado, que después se deja madurar por periodos de hasta tres meses (Mendoza-Cuevas *et al.*, 2023).

Actualmente se realizan estudios para identificar las características de los quesos artesanales alrededor del mundo, el objetivo de esta investigación fue analizar los cambios en la composición proximal y de ácidos grasos durante distintos periodos de maduración del queso de prensa de Cuajinicuilapa, Guerrero.

Materiales y métodos

Obtención de muestras de queso de prensa

Las piezas de queso de prensa elaboradas de forma artesanal se obtuvieron en dos queserías (codificadas como Quesería A y Quesería B) del municipio de Cuajinicuilapa, Guerrero, México, en marzo de 2023. En cada quesería se adquirieron cuatro piezas de queso recién elaborados, de un kilogramo de peso. Las muestras se trasladaron al municipio de San Marcos, Guerrero, las muestras de los quesos se dejaron madurar durante 5, 45 y 90 días. Concluido el tiempo de maduración, cada lote se trasladó al laboratorio. Las muestras se conservaron en refrigeración a -17 °C hasta su análisis.

Análisis químico proximal del queso de prensa

La composición proximal de los quesos de las queserías estudiadas fue determinada por el contenido de proteína, grasa, humedad, sólidos totales y sal; mediante un analizador de infrarrojo cercano FoodScan™ Lab (FOSS Analytical AB, Hillerød, Dinamarca). Para ello una muestra de 50 gramos del centro de cada queso fue tomada, se procedió a rallar para después ser colocada en cajas Petri de vidrio y realizar la lectura en el equipo. Las determinaciones se realizaron por cuadruplicado (Yoo *et al.*, 2019; Öztürk, & Akin, 2018).

pH



El pH de las muestras de queso se determinó con un potenciómetro modelo 420 A+ Thermo Orion™ (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EE. UU.), previamente calibrado con soluciones amortiguadoras de pH 7.0 y 4.0 (J.T. Baker, México). Para ello 5 gramos de queso molido se diluyó en 25 mL de agua desionizada a 40°C, después de diez minutos se filtró y se procedió a tomar lectura (Tekin y Güler, 2019).

Acidez titulable

Para la determinación de acidez titulable, 20 gramos de queso se mezclaron con 100 mL de agua desionizada a 40 °C, después de diez minutos se procedió a filtrar y se tomaron 25 mL del filtrado para la valoración. Posteriormente se adicionaron tres gotas de fenolftaleína como indicador, y la mezcla fue valorada con NaOH 0.1 N (AOAC, 2002).

Determinación del perfil de ácidos grasos del queso de prensa.

Para el análisis de ácidos grasos se utilizó 5 g de grasa. Los ésteres metílicos de ácidos grasos de las muestras de queso se obtuvieron por esterificación de los ácidos grasos libres y la subsecuente transesterificación. El análisis de ácidos grasos se llevó a cabo mediante cromatografía de gases (Agilent 6890, detector de ionización de llama [FID], horno controlado: 140- 250 °C, 4 °C/min y columna capilar HP-SP-2560 [75 m, 0,18 mm de diámetro interior 0,14 µm]) (López-Yerena *et al.*, 2018).

Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante un modelo mixto (Stroup *et al.*, 2018) cuyo efecto aleatorio corresponde al tiempo de maduración y el efecto fijo a las queserías. Para identificar el efecto de los tratamientos se aplicó el método de Tukey-Kramer ($P < 0.05$). Los análisis se llevaron a cabo en el paquete SAS versión 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, EUA).

Resultados y discusión

Composición químico proximal del queso de prensa durante la maduración

La humedad del queso de prensa en ambas queserías estudiadas disminuyó paulatinamente (cuadro 1), presentando diferencia significativa a través del tiempo. Según Ioannidou *et al.* (2022) dicha disminución se encuentra dada a la deshidratación provocada por la pérdida de agua, así como al intercambio de compuestos volátiles entre la superficie y el ambiente. Mientras que los valores de pH fueron en aumento hasta los noventa días de maduración, de acuerdo con Öztürk & Akin (2018) el incremento en los valores de pH puede ser atribuido a la degradación ácida causada por la acción de hongos y levaduras, y por los péptidos y aminoácidos generados durante la etapa de la proteólisis del queso. La acidez de las muestras de queso prensa mostró un aumento significativo durante el periodo de maduración como consecuencia de la producción de ácido láctico por parte de las bacterias ácido lácticas (Fox *et al.*, 2017). El contenido de grasa no hubo diferencia estadística significativa, sin embargo, numéricamente hubo una disminución a través de los estadios de maduración, esta disminución es atribuido a la lipólisis, debido que por acción de las lipasas mediante la hidrólisis de la grasa se obtienen ácidos grasos libres (Fox *et al.*, 2017). A los cinco días se observó el mayor contenido de proteína y a medida que avanza el proceso de maduración, el contenido de proteína fue disminuyendo atribuido a la hidrólisis de las proteínas a compuestos de menor peso molecular (Fox *et al.*, 2017; Choi, Sabikhi, Hassan, & Anand, 2012). El contenido de sal en los quesos disminuyó conforme avanzaron los días de maduración, de acuerdo con Ramírez-Navas *et al.* (2017) puede explicarse por la evaporación del agua de la superficie del queso, que explica la disminución del contenido de humedad.



Cuadro1. Composición químico proximal, en base seca, durante la maduración del Queso de Prensa, elaborado en dos queserías de Cuajinicuilapa, México

Parámetro	Tiempo (días)	Quesería A	Quesería B
Proteína	5	45.16±0.109 ^{Ba}	46.35±0.349 ^{Ba}
	45	38.71±1.649 ^{Ba}	36.04±0.721 ^{Aa}
	90	36.01±0.349 ^{Aa}	34.39±1.878 ^{Aa}
Grasa	5	43.23±0.273 ^{Aa}	42.89±0.235 ^{Aa}
	45	41.75±0.841 ^{Aa}	42.87±0.995 ^{Aa}
	90	42.21±0.657 ^{Aa}	42.45±0.634 ^{Aa}
Sal	5	3.98±0.044 ^{Ba}	3.86±0.317 ^{Ba}
	45	1.82±0.141 ^{Aa}	1.79±0.003 ^{Aa}
	90	1.71±0.108 ^{Aa}	1.75±0.006 ^{Aa}
Solidos totales	5	7.23±0.240 ^{Aa}	7.01±0.295 ^{Aa}
	45	17.93±1.504 ^{Bb}	19.17±1.299 ^{Bb}
	90	20.22±0.778 ^{Bb}	21.35±1.605 ^{Bb}
Humedad	5	35.54±0.834 ^{Ba}	36.79±0.428 ^{Ba}
	45	15.51±1.244 ^{Aa}	14.72±0.442 ^{Aa}
	90	13.30±1.169 ^{Aa}	14.10±0.598 ^{Aa}
Acidez	5	1.05±0.053 ^{Aa}	1.34±0.034 ^{Aa}
	45	1.68±0.056 ^{Ba}	1.81±0.084 ^{Ba}
	90	1.85±0.052 ^{Ba}	2.41±0.070 ^{Cb}
pH	5	5.34±0.031 ^{Ab}	5.10±0.018 ^{Aa}
	45	5.50±0.026 ^{Bb}	5.29±0.041 ^{Aa}
	90	5.55±0.009 ^{Bb}	5.37±0.029 ^{Aa}

Medias con letra minúscula en filas y medias con letra mayúscula en columna, seguidas de diferente letra, indican significancia estadística (Tukey, $P<0.05$).

Determinación del perfil de ácidos grasos en queso prensa

Los ácidos grasos más abundantes en las muestras analizadas de queso de prensa en distintos periodos de maduración fueron, de forma descendente, ácido oleico (C 18:1n9c), ácido palmítico (C 16:0), ácido esteárico (C 18:0), ácido mirístico (C 14:0) y ácido eláidico (C 18:1n9t). De acuerdo con Akarca (2020) los niveles elevados de estos ácidos pueden explicarse, porque las lipasas de las bacterias del ácido láctico los liberaron de manera preferente después de los ácidos grasos de cadena corta. Asimismo, los ácidos grasos libres contribuyen en las características sensoriales (sabor y aroma) en el queso durante el proceso de



maduración, debido a que son precursores de compuestos como ésteres, alcoholes, aldehídos y cetonas (Akarca, 2020; Ioannidou *et al.*, 2022).

Conclusiones

La composición proximal del queso de prensa conforme avanza la maduración sufre modificaciones que pueden contribuir a las características propias del producto.

En general el perfil de ácidos grasos libres (AGL) en el queso de prensa está conformado por cinco AGL (C 16:0, C 18:1n9c, C 18:0, C 14:0, C 18:1n9t), los cuales representan aproximadamente el 80 % de la composición total.

Literatura citada

Akarca, G. (2020). Lipolysis and aroma occurrence in Erzincan Tulum cheese, which is produced by adding probiotic bacteria and ripened in various packages. *Food Sci. Technol*, Campinas, 40(1): 102-116.

Anastasiou, R., Kazou, M., Georgalaki, M., Aktypis, A., Zoumpopoulou, G., & Tsakalidou, E. (2022). Omics approaches to assess flavor development in cheese. *Foods*, 11, 188.

AOAC. (2002). Method 920.124 Acidity of Cheese. Titrimetric method. Gaithersburg, MD. AOAC International.

Choi, J., Sabikhi, L., Hassan, A., & Anand, S. (2012). Bioactive peptides in dairy products. *International Journal of Dairy Technology*, 65(1), 1–12. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00725>.

Fox P.F., Guinee T.P., Cogan T.M., & McSweeney P.L.H. (2017). *Fundamentals of cheese science*. 2nd ed. New York, USA: Springer.

Ioannidou, M. D., Maggira, M., & Samouris, G. (2022) Physicochemical Characteristics, Fatty Acids Profile and Lipid Oxidation during Ripening of Graviera Cheese Produced with Raw and Pasteurized Milk. *Foods*, 11, 2138. <https://doi.org/10.3390/foods11142138>

Jiang, N., Wu, R., Wu, C., Wang, R., Wu, J., & Shi, H. (2022). Multi-omics approaches to elucidate the role of interactions between microbial communities in cheese flavour and quality. *Food Reviews International*. 1-13.

Khattab, A.R., Guirguis, H.A., Tawfik, S.M., & Farag, M.A. (2019). Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends in Food Science & Technology*. 88. 343-360.

López-Expósito, I., Miralles, B., Amigo, L., & Hernández-Ledesma, B. (2017). Health Effects of Cheese Components with a Focus on Bioactive Peptides. In *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*. 239–273.

López-Yerena A., Guerra-Ramírez D., Jácome-Rincón J., Espinosa-Solares T., Reyes-Trejo B., Famiani F., & Cruz-Castillo J.G. (2018) Initial evaluation of fruit of accessions of *Persea schiedeana* Nees for nutritional value, quality and oil extraction. *Food Chemistry*, 245: 879–884. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.088>.

Mendoza-Cuevas, J.A., Santos-Moreno, A., Rosas-Barbosa, B.T., Ybarra-Moncada, Ma.C., Flores-Girón, E., & Guerra-Ramírez, D. (2023). Cambios en el recuento de cuatro grupos bacterianos durante la maduración del Queso de Prensa (Costeño) de Cuajinicuilapa, México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 14(1), 94-109. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v14i1.6121>



Öztürk, H.İ., & Akin, N. (2018) Comparison of some functionalities of water soluble peptides derived from Turkish cow and goat milk Tulum cheeses during ripening. *Food Sci Technol*, 38(4):674-682. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457x.11917>

Ramírez-Navas J.S., Aguirre-Lodoño J., Aristizabal-Ferreira V.A., & Castro-Narváez S. (2017). La sal en el queso: diversas interacciones. *Agron. Mesoam*. 28(1):303-316.

Santiago-López, L., Aguilar-Toalá, J. E., Hernández-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B., Liceaga, A. M., & González-Córdova, A. F. (2018). Invited review: Bioactive compounds produced during cheese ripening and health effects associated with aged cheese consumption. *Journal of Dairy Science*, 101(5). 3742–3757.

Shu, J.H. (2022). Critical review: Metabolomics in dairy science- evaluation of milk and milk product quality. *Food Research International*. 154.

Stroup W.W., Milliken G.A., Claassen E.A., & Wolfinger R.D.(2018) SAS® for mixed models: Introduction and basic applications. 3rd ed. Cary, North Carolina, USA: SAS Institute Inc.

Tekin A,& Güler Z. Glycolysis, lipolysis and proteolysis in raw sheep milk Tulum cheese during production and ripening: Effect of ripening materials. *Food Chem*, 2019, 286:160-169. 10.1016/j.foodchem.2019.01.190.

Yoo J., Song M., Park W., Oh S., Ham J.S., Jeong S.G., Kim Y. A Comparison of Quality Characteristics in Dairy Products Made from Jersey and Holstein Milk. *Food Sci Anim Resour*,2019, 39(2):255-265. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2019.e20>



Desvelando los secretos de la herbolaria mexicana con IA: Un análisis exhaustivo de datos a través de NLP, clustering y topic modeling

Luis Germán López Valdez¹

Mesa 4: Química.

Resumen

En este estudio se ha creado una base de datos que recopila resúmenes de literatura científica sobre biodiversidad, ecología, plantas medicinales y sus metabolitos secundarios en México. La información fue obtenida a partir de una búsqueda sistemática en las bases de datos SCOPUS y PubMed, utilizando términos clave como "biodiversidad," "ecología," "metabolitos secundarios," "plantas medicinales," y "México." Tras la recolección, los datos fueron depurados utilizando la biblioteca pandas de Python para eliminar duplicados y seleccionar solo documentos con identificadores válidos, como DOI o PMID. Posteriormente, se aplicaron técnicas de Procesamiento de Lenguaje Natural (NLP) para estandarizar los resúmenes y métodos de Machine Learning para el agrupamiento (Clustering) y modelado de tópicos (Topic Modeling). El análisis permitió identificar nuevas conexiones y tendencias en el estudio de la biodiversidad y plantas medicinales en México, revelando posibles aplicaciones de estos metabolitos secundarios en la medicina tradicional y moderna. Los resultados ofrecen nuevas perspectivas para el aprovechamiento sostenible de la riqueza natural del país, beneficiando a comunidades locales mediante el uso de conocimientos tradicionales en la salud comunitaria.

Palabras clave:

Inteligencia artificial (IA), Procesamiento del lenguaje natural (NLP), Aprendizaje automático (ML), Clustering, Modelado de tópicos (Topic Modeling), Plantas útiles (PU), Plantas medicinales, Biodiversidad, Desarrollo socioeconómico. Acceso a recursos

Abstract

In this study, a database has been created that compiles abstracts of scientific literature on biodiversity, ecology, medicinal plants, and their secondary metabolites in Mexico. The information was obtained from a systematic search of the SCOPUS and PubMed databases, using keywords such as "biodiversity," "ecology," "secondary metabolites," "medicinal plants," and "Mexico." After collection, the data was cleaned using the Python pandas library to remove duplicates and select only documents with valid identifiers, such as DOI or PMID. Subsequently, Natural Language Processing (NLP) techniques were applied to standardize the abstracts and Machine Learning methods for clustering and topic modeling. The analysis allowed the identification of new connections and trends in the study of biodiversity and medicinal plants in Mexico, revealing potential applications of these secondary metabolites in traditional and modern

¹ Departamento de preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma de Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Estado de México, C.P. 56230.

Correo: llopezv@chapingo.mx



medicine. The results offer new perspectives on the sustainable use of the country's natural wealth, benefiting local communities through traditional knowledge in community health.

Keywords:

Artificial Intelligence (AI), Natural Language Processing (NLP), Machine Learning (ML), Clustering, Topic Modeling, Useful Plants (UP), Medicinal Plants, Biodiversity, Socioeconomic Development, Resource Access

Introducción

En el contexto actual, donde la conservación del medio ambiente y la gestión forestal son esenciales para el desarrollo sostenible, surge la necesidad de enfrentar los desafíos relacionados con el uso responsable de los recursos naturales, especialmente en el campo de las plantas medicinales y sus metabolitos secundarios. La inteligencia artificial (IA) emerge como una herramienta innovadora para abordar estas problemáticas, permitiendo el análisis de la biodiversidad y la ecología a través de bases de datos científicas. Al integrar saberes tradicionales con avances tecnológicos, este enfoque busca promover una atención médica más inclusiva y culturalmente sensible, contribuyendo al desarrollo socioeconómico y cultural del país.

Antecedentes

Plantas medicinales y Metabolitos Secundarios

La extraordinaria riqueza cultural y diversidad florística de México ha fascinado a exploradores e investigadores desde que el "Nuevo Mundo" fue descubierto por y para los europeos. (*Bye, R. et al. 1995; Furst, P. T. 1995; Gates, W., 2000; Ortiz de Montellano, B. 1990.*) Durante muchas décadas, la investigación de productos naturales ha sido un campo de investigación muy activo en México, existiendo algunos esfuerzos de investigación etnofarmacológica recientes. (*Rivero-Cruz, I. et al. 2023; Anand, M., & Basavaraju, R. 2021; Universidad Nacional Autónoma de México. 2021; Calzada, F., & Bautista, E. 2020; de Almeida, V. L., et al. 2019*) Existe una visión general y una evaluación crítica de algunos desarrollos clave en estos campos y ejemplos de plantas medicinales utilizadas por comunidades indígenas que han adquirido gran importancia local en la medicina popular mexicana. (*Cragg, G. M., & Newman, D. J., 2005; Newman, D. J., & Cragg, G. M. 2007*) Centrando la atención en plantas con efectos sobre el sistema nervioso central, la diabetes, el síndrome metabólico, los procesos inflamatorios y los trastornos gastrointestinales, cáncer, enfermedades oportunistas asociadas con VIH/SIDA, anticoncepción, enfermedades cardiovasculares, respiratorios/pulmonares y de la piel localmente graves. (*Heinrich, M., et al. 2014*) Si bien algunas de las principales plantas alimenticias consumidas en todo el mundo se originan en el sur de América del Norte, solo unas pocas plantas medicinales han adquirido una importancia global importante. Las especies de *Opuntia* se utilizan cada vez más para controlar la diabetes y el síndrome metabólico y representan un ejemplo de un nuevo producto/suplemento



medicinal. (Ramírez-Rodríguez, Y., et al. 2020; Gómez-Maqueo, A., et al. 2020; Delgadillo-Puga, C., & Cuchillo-Hilario, M. 2021; Torres-Vanda, M., & Gutiérrez-Aguilar, R. 2023; Hasani-Ranjbar, S., et al. 2013; Ginestra, G., et al. 2009) Sin duda, las drogas narcóticas y psicoactivas han recibido el mayor interés científico y han atraído una considerable atención popular. (Heinrich, M., et al. 2014; Hofmann, A. 1964; Schultes, R. E. 1979; Wasson, V. P. 1957; De Sahagún, F. B. 1961) Se ha analizado la historia del uso de la Materia Médica Mexicana indígena en el contexto de la investigación sobre recursos locales y populares, específicamente en relación con los diversos desafíos que plantea el estudio de la biodiversidad mundial y el desarrollo de métodos de investigación etnobotánica comparativa y semicuantitativa. (Heinrich, M., et al. 2014) La investigación sobre productos naturales y etnofarmacológica en México parece haberse visto influenciada por los desarrollos políticos y sociales derivados del Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB) y convenios posteriores, que aún no han tenido el efecto deseado de valorizar estos recursos locales, como deberían. ((S/f). Cbd.int. 2024) Su implementación equitativa y sostenible sigue siendo un desafío. La investigación sobre productos naturales y la etnofarmacología desempeñarán un papel clave en el desarrollo de una base de evidencia adecuada para dichos productos derivados del conocimiento local y tradicional en México. Así, actualmente es necesario aumentar los esfuerzos para descubrir nuevas plantas medicinales y posicionarlas como una alternativa viable en la atención a las poblaciones marginadas del país, en una colaboración para hacer frente a los retos del país cómo la cobertura geográfica incompleta, en el estudio de las PU o medicinales y la protección a sus conocimientos heredados generacionalmente.

Inteligencia artificial en esta investigación

La inteligencia artificial (IA) ha revolucionado numerosas industrias, y sus aplicaciones en el análisis de datos no son una excepción. En los últimos años, los algoritmos de procesamiento del lenguaje natural (NLP) y aprendizaje automático (ML) se han empleado ampliamente para facilitar información relevante mediante el análisis de grandes volúmenes de datos no estructurados en diversos dominios. (Siddiqui, T., & Amer, A. Y. A. 2023) Aquí, ofrecemos una visión general de estas investigaciones, destacando sus contribuciones a diversos campos, incluyendo la planificación urbana, la gestión del transporte, la investigación del comportamiento de los viajeros, (Li, W., et al. 2024) experiencias descriptivas de degustación de alimentos, (Hamilton, L. M., & Lahne, J. 2020) análisis de datos genómicos, (Shim, H. 2019) categorización de notas médicas, (Zelina, P., et al. 2023) clasificación de documentos biomédicos, (Kesiku, C. Y., et al. 2022) asociaciones de genes relacionados con el cannabis, (Jackson, T. J., & Chakraborty, S. 2023) biología sintética, (Meier, F., et al. 2023) y otras áreas. (Shim, H. 2019) Además, exploramos los trabajos existentes sobre topic modeling y clustering, que están directamente relacionados con nuestro enfoque en NLP y clustering. (Hofmann, T. 2001; Blei, D. M. et al. 2003; Campbell, J. C. et al. 2015; Blei, D. M. et al. 2005; Paisley, J. et al. 2015; Fu, X. 2019; Blei D, M., & Mcauliffe, J. D. 2007; Gupta, M. 2019; Limwattana, S. 2021)



Metodología

Se realizó una búsqueda sistemática de la literatura existente en las bases de datos SCOPUS y PubMed utilizando el término "Medicinal Plantas" y "México". Dado que este estudio se centra en el contenido de los Abstracts, se filtraron los datos para recuperar únicamente: DOI, Abstract, Autores, Título, Journal y año de publicación. El enfoque estuvo exclusivamente en artículos, excluyendo revisiones, minirrevisiones, capítulos de libros, artículos de conferencias, encuestas breves, erratas, notas, cartas, libros y editoriales.

Con la base de datos inicial, se llevó a cabo un proceso de ingeniería de datos para adaptar el formato, lo que permitió aplicar algoritmos de inteligencia artificial como Machine Learning (ML), Procesamiento de Lenguaje Natural (NLP) y técnicas de visualización. Esto facilitó la extracción y análisis de información relevante e innovadora que, de otro modo, no sería fácilmente identificable por un investigador.

Resultados y Discusión

Los resultados que enseguida se presentan, están de acuerdo con los datos recopilados y procesados en esta investigación.

- Revistas que más han publicado investigación de plantas medicinales en México. Fig. 1.
- Los autores más prolíferos en la investigación sobre plantas medicinales en México. Fig. 2.
- Los estados, donde más se han realizado investigaciones sobre plantas medicinales Fig. 3.
- La formación de conglomerados de acuerdo con una técnica de procesamiento de lenguaje natural y la aplicación de reducción de dimensiones con PCA y t-SNE. Fig. 4.
- Número de documentos que contiene cada cluster. Fig 5.

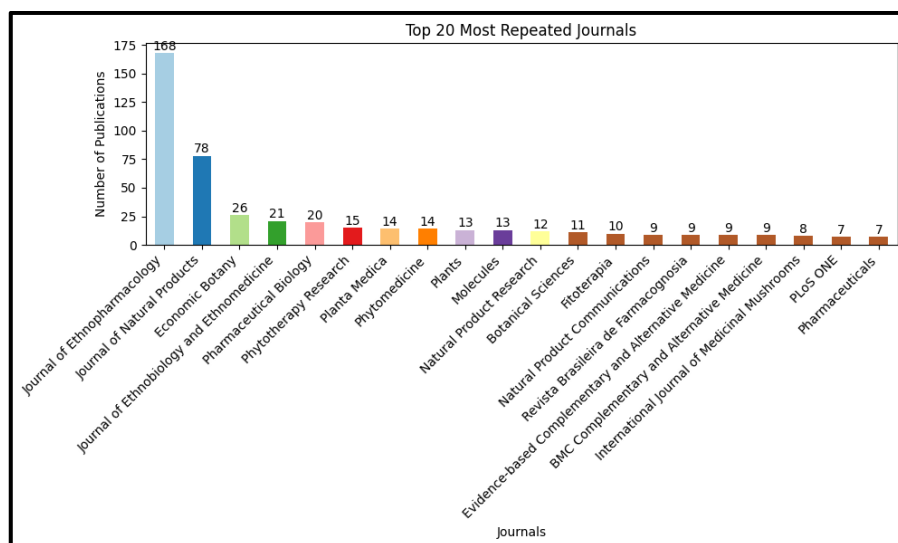


Figura 1. Las 20 revistas que más publican investigaciones hechas en México de plantas medicinales.

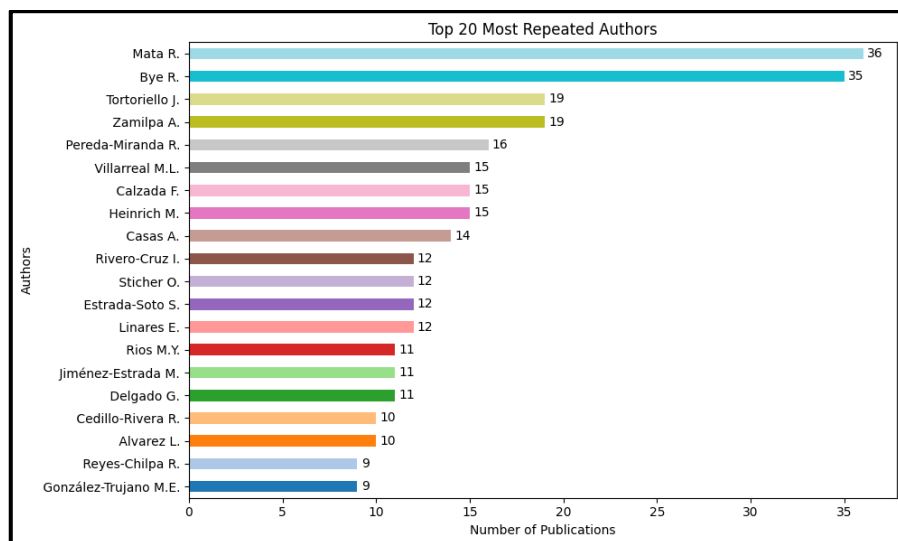


Figura 2. Los 20 investigadores mexicanos que más han publicado investigaciones en plantas medicinales.

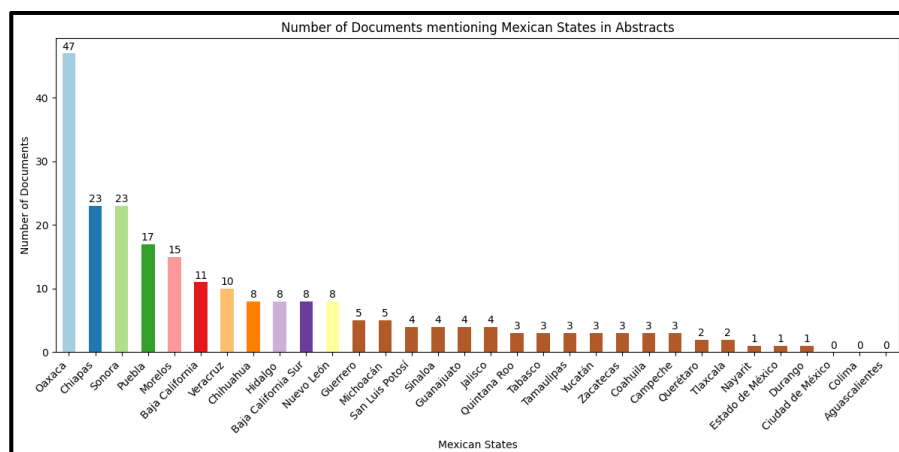


Figura 3. Estados Mexicanos donde se ha realizado más investigación de plantas medicinales.

Conglomerados, agrupamientos (clusters)

t-SNE Visualization of Clusters

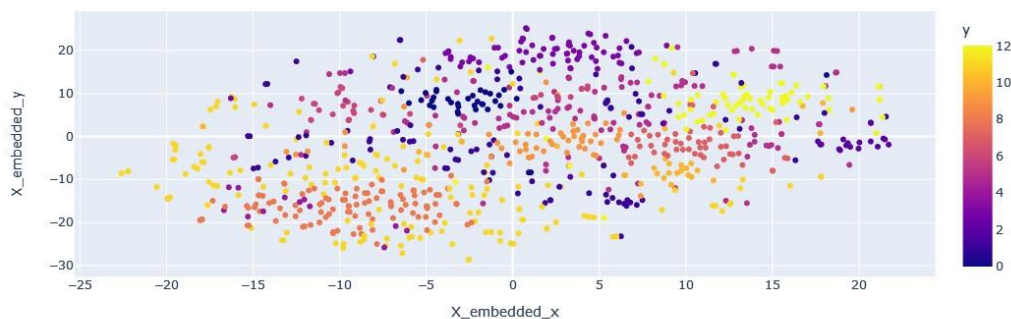


Figura 4. Grafica de los 13 clusters de la literatura sobre plantas medicinales en México con PCA, t-SNE y K-Means.

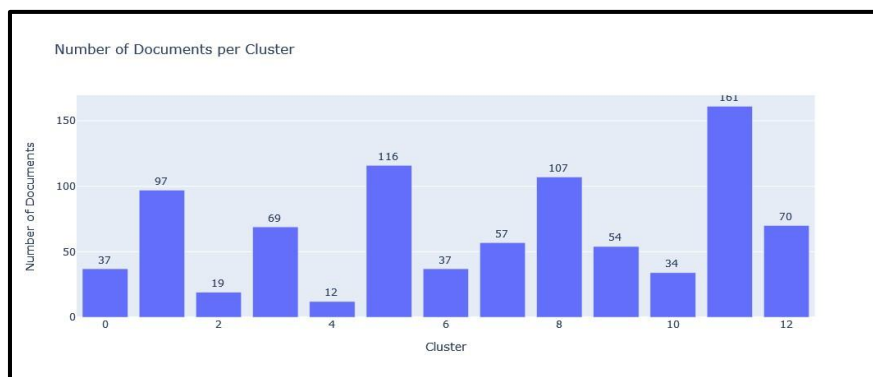


Figura 5. Número de documentos por cluster.



Cluster	Enfoque Principal	Similitudes con otros clusters
0	Efectos hipoglucémicos de extractos de plantas en modelos animales (ratones y ratas) y su uso potencial en el control de la diabetes.	Similitud con 1 en el uso de extractos de plantas y su actividad biológica. Relación con 5 en el estudio de efectos metabólicos.
1	Actividad de extractos de plantas y ácidos, especialmente en la protección gastrointestinal y el manejo de compuestos bioactivos en hojas, raíces y semillas.	Relación con 0 en el uso de extractos de plantas para tratar condiciones metabólicas. Similitud con 5 en el estudio de la actividad de los compuestos.
12	Actividad citotóxica de extractos de plantas en líneas celulares de cáncer, estudiando los efectos de compuestos en la investigación oncológica.	Similitud con 5 y 7 en el uso de extractos para estudios de actividad celular y efectos terapéuticos.
11	Uso de plantas medicinales en México, enfocándose en estudios poblacionales, remedios herbales y su aplicación en la salud.	Similitud con 8 en el uso de plantas medicinales y el conocimiento tradicional. Relación con 4 en la conservación y uso sostenible.
3	Aislamiento y caracterización de nuevos compuestos mediante métodos químicos y espectroscópicos, con enfoque en saponinas y ácidos.	Relación con 5 en el estudio de compuestos bioactivos. Similitud con 10 en la extracción y análisis de aceites esenciales y otros compuestos volátiles.
5	Actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y otros efectos terapéuticos de extractos de plantas en distintos sistemas biológicos.	Similitud con 0 y 1 en el estudio de los efectos metabólicos. Relación con 7 en estudios antimicrobianos.
8	Conocimiento etnobotánico y uso tradicional de plantas medicinales en comunidades, con enfoque en la gestión de recursos y prácticas sostenibles.	Similitud con 11 en el uso tradicional de plantas medicinales y su manejo cultural. Relación con 4 en la conservación de recursos naturales.
7	Actividad antimicrobiana y antiparasitaria de extractos de plantas en diversas especies de microorganismos y parásitos.	Similitud con 5 en estudios antimicrobianos y citotóxicos. Relación con 12 en el estudio de efectos citotóxicos.
4	Diversidad de especies y conservación de recursos naturales, enfocándose en la gestión de ecosistemas y el uso sostenible de plantas medicinales.	Relación con 8 y 11 en el manejo y conservación de plantas medicinales y recursos naturales.



10	Actividad de aceites esenciales y compuestos volátiles en diversas aplicaciones terapéuticas, como la actividad antimicrobiana y antioxidante.	Similitud con 5 en el estudio de compuestos bioactivos y extractos. Relación con 3 en el análisis de compuestos químicos.
6	Efectos sedantes, ansiolíticos y antinociceptivos de extractos de plantas, con enfoque en modelos animales para el tratamiento del dolor y la ansiedad.	Similitud con 2 en los estudios de actividad terapéutica de plantas en condiciones específicas como infecciones y trastornos nerviosos.
2	Actividad antiprotzoaria de extractos de plantas en parásitos y otros microorganismos, con análisis de compuestos bioactivos.	Relación con 6 en el estudio de efectos terapéuticos en condiciones específicas. Similitud con 7 en la investigación de actividad antimicrobiana y antiparasitaria.
9	Actividad antioxidante de extractos de plantas y compuestos fenólicos, especialmente en hojas, flores y frutas.	Similitud con 10 en el estudio de la actividad antioxidante y análisis de aceites esenciales y compuestos volátiles.

Tabla 1. Modelado de temas (Topic Modeling) por cluster.

7. **Revistas con mayor número de publicaciones sobre plantas medicinales en México:**
Journal of Ethnopharmacology (Elsevier)
Journal of Natural Products (ACS Publications)
Economic Botany (Springer)
8. **Autores y regiones más destacados en México en la investigación de plantas medicinales:**

UNAM

Rachel Mata: Facultad de Química, Departamento de Farmacia
Robert Bye: Jardín Botánico, Instituto de Biología
Rogelio Pereda-Miranda: Facultad de Química, Departamento de Farmacia
Alejandro Casas: Centro de Investigaciones en Ecosistemas
José Fausto Rivero-Cruz: Facultad de Química, Departamento de Farmacia
Guillermo Delgado: Instituto de Química
Ricardo Reyes Chilpa: Instituto de Química

IMSS

Jaime Tortoriello: CIBIS
Alejandro Zamilpa: CIBIS
Fernando Calzada: Centro Médico Nacional Siglo XXI



UAEM Morelos

M.L. Villarreal: Centro de Investigación en Biotecnología

9. Los 3 Estados de México donde se registran más investigaciones en plantas medicinales.

Oaxaca: 43 documentos

Chiapas: 23 documentos

Sonora: 23 documentos

Puebla: 17 documentos

10. Análisis de conglomerados (clusters):

El análisis nos permitió identificar 13 agrupamientos o clusters en la base de datos.

11. Análisis de temas (Topic Analysis) por cluster:

El análisis temático por cluster nos proporcionó información sobre cómo se agruparon los documentos en cada conglomerado según los tópicos más comunes, permitiendo la elaboración de resúmenes para cada grupo.

Conclusiones

En conclusión, el análisis de la investigación sobre plantas medicinales en México revela patrones importantes en términos de publicaciones, autores destacados y regiones clave. Las revistas con mayor número de publicaciones incluyen **Journal of Ethnopharmacology**, **Journal of Natural Products**, y **Economic Botany**, destacando como las principales plataformas para la difusión de estudios en este campo.

En cuanto a los autores y las instituciones más influyentes, destacan investigadores de la **UNAM**, como Rachel Mata y Robert Bye, y del **IMSS**, como Jaime Tortoriello. Estos científicos, junto con otros destacados como Alejandro Casas y José Fausto Rivero-Cruz, han contribuido de manera significativa al avance del conocimiento sobre plantas medicinales.

Las regiones de México que concentran la mayor parte de estas investigaciones son **Oaxaca**, **Chiapas**, y **Sonora**, lo que resalta la importancia de la biodiversidad de estas áreas para los estudios etnobotánicos.

El análisis de conglomerados permitió identificar 13 clusters clave. **El cluster 3** se enfoca principalmente en el aislamiento y caracterización de nuevos compuestos químicos mediante técnicas avanzadas como análisis espectroscópico y cristalográfico, lo cual es fundamental para identificar nuevos principios activos de las plantas medicinales. **Este cluster está estrechamente relacionado con el cluster 5**, que se centra en los efectos biológicos de estos compuestos, como su actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y terapéutica. A su vez, **el cluster 10** también guarda relación con estos temas, al estudiar los aceites esenciales de las plantas y su capacidad bioactiva, lo que complementa el trabajo de aislamiento y caracterización de compuestos en **el cluster 3**.



Esta interconexión entre los clusters resalta la necesidad de realizar un análisis más profundo para entender mejor los compuestos bioactivos de las plantas medicinales y sus aplicaciones terapéuticas. Este enfoque integrado nos permitirá no solo aprovechar el potencial farmacológico de estas plantas, sino también asegurar su preservación y uso sostenible en México.

El cluster 8 es particularmente relevante, ya que se enfoca en el uso tradicional y comunitario de plantas medicinales, destacando el conocimiento ancestral sobre la gestión sostenible y el valor cultural de estas especies. Este cluster presenta similitudes importantes con **el cluster 11**, que también estudia el uso tradicional y terapéutico de las plantas, y con **el cluster 4**, que se centra en la conservación de especies medicinales y la biodiversidad en comunidades locales.

Dada la interconexión entre estos clusters, es crucial profundizar en su análisis para proteger nuestras plantas medicinales, tanto desde una perspectiva científica como cultural. La investigación futura debe enfocarse en cómo preservar el conocimiento tradicional y los ecosistemas de donde provienen estas especies, garantizando su uso sostenible y su conservación para las generaciones futuras.

Literatura Citada

(S/f). Cbd.int. Recuperado el 19 de septiembre de 2024, de <https://www.cbd.int/doc/case-studies/abs/cs-abs-icbg.pdf>

Anand, M., & Basavaraju, R. (2021). A review on phytochemistry and pharmacological uses of *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth. *Journal of Ethnopharmacology*, 265(113270), 113270. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113270>

Blei D, M.; Mcauliffe, J. D, Supervised Topic Models. In Advances in Neural Information Processing Systems 2007. 121–128. NeurIPS Proceedings. <https://proceedings.neurips.cc/paper/2007>

Blei, D. M.; Lafferty, J. D. Correlated topic models. In. Proceedings of the 18th International Conference on Neural Information Processing Systems December 2005, 147–154. <https://dl.acm.org/doi/abs/10.5555/2976248.2976267>

Blei, D. M.; Ng, A. Y.; Jordan, M. I. Latent dirichlet allocation. *J. Mach. Learn. Res*, 2003, 3, 993-1022. <https://dl.acm.org/doi/10.5555/944919.944937>

Bye, R.; Linares, E.; Estrada, E. In *Phytochemistry of Medicinal Plants*; Arnason, J. T.; Mata, R.; Romeo, J. T., Eds.; Plenum Press: New York, 1995; pp 65–82.

Calzada, F., & Bautista, E. (2020). Plants used for the treatment of diarrhoea from Mexican flora with amoebicidal and giadicial activity, and their phytochemical constituents. *Journal of Ethnopharmacology*, 253(112676), 112676. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112676>



Campbell, J. C., Hindle, A., & Stroulia, E. (). Latent Dirichlet Allocation. In *The Art and Science of Analyzing Software Data*, Elsevier 2015, 139–159. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411519-4.00006-9>

Cragg, G. M., & Newman, D. J. (2005). Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1–2), 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.011>

de Almeida, V. L., Silva, C. G., Silva, A. F., Campana, P. R. V., Foubert, K., Lopes, J. C. D., & Pieters, L. (2019). Aspidosperma species: A review of their chemistry and biological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 231, 125–140. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.10.039>

De Sahagún, F. B. In Part XII. The School of American Research and the University of Utah; Dibble, C. E.; Anderson, A. J. O., Eds.; University of Utah Press: Salt Lake City, UT, 1961; p 130.

Delgadillo-Puga, C., & Cuchillo-Hilario, M. (2021). Reviewing the benefits of grazing/browsing semiarid rangeland feed resources and the transference of bioactivity and pro-healthy properties to goat milk and cheese: Obesity, insulin resistance, inflammation and hepatic steatosis prevention. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 11(10), 2942. <https://doi.org/10.3390/ani11102942>

Fu, X., Huang, K., Sidiropoulos, N. D., Shi, Q., & Hong, M. Anchor-free correlated topic modeling. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach.* 2019, 41, 1056–1071. <https://doi.org/10.1109/tpami.2018.2827377>

Furst, P. T. In *Ethnobotany: The Evolution of a Discipline*; Schultes, R.; von Reis, S., Eds.; Dioscorides Press: Portland, OR, 1995; pp 108–130.

Gates, W. *An Aztec Herbal. The Classic Codex of 1552*; Dover Publications, Inc.: Mineola, NY, 2000.

Ginestra, G., Parker, M. L., Bennett, R. N., Robertson, J., Mandalari, G., Narbad, A., Lo Curto, R. B., Bisignano, G., Faulds, C. B., & Waldron, K. W. (2009). Anatomical, chemical, and biochemical characterization of cladodes from prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) mill.]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10323–10330. <https://doi.org/10.1021/jf9022096>

Gómez-Maqueo, A., Escobedo-Avellaneda, Z., & Welte-Chanes, J. (2020). Phenolic compounds in Mesoamerican fruits—characterization, health potential and processing with innovative technologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21), 8357. <https://doi.org/10.3390/ijms21218357>

Gupta, M.; Gupta, P. Research and implementation of event extraction from twitter using LDA and scoring function. *Int. J. Inf. Technol.*, 2019, 11, 365–371. <https://doi.org/10.1007/s41870-018-0206-0>

Hamilton, L. M., & Lahne, J. (2020). Fast and automated sensory analysis: Using natural language processing for descriptive lexicon development. *Food Quality and Preference*, 83(103926), 103926. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.103926>



Hasani-Ranjbar, S., Jouyandeh, Z., & Abdollahi, M. (2013). A systematic review of anti-obesity medicinal plants - an update. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/2251-6581-12-28>

Heinrich, M., Frei Haller, B., & Leonti, M. (2014). A perspective on natural products research and ethnopharmacology in Mexico: The eagle and the serpent on the prickly pear cactus. *Journal of Natural Products*, 77(3), 678–689. <https://doi.org/10.1021/np4009927>

Hofmann, A. *Planta Med.* 1964, 12, 341–352. Hofmann, T. Unsupervised Learning by Probabilistic Latent Semantic Analysis. *Mach. Learn.*, 2001, 42, 177–196. <https://doi.org/10.1023/A:1007617005950>

Jackson, T. J., & Chakraborty, S. (2023). The Cannabis sativa genetics and therapeutics relationship network: automatically associating cannabis-related genes to therapeutic properties through chemicals from cannabis literature. *Journal of Cannabis Research*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s42238-023-00182-z>

Kesiku, C. Y., Chaves-Villota, A., & Garcia-Zapirain, B. (2022). Natural language processing techniques for text classification of biomedical documents: A systematic review. *Information (Basel)*, 13(10), 499. <https://doi.org/10.3390/info13100499>

Li, W., Zhang, Y., Chen, Y., Ding, L., Zhu, Y., & Chen, X. (michael). (2024). Multi-day activity pattern recognition based on semantic embeddings of activity chains. *Travel Behaviour & Society*, 34(100682), 100682. <https://doi.org/10.1016/j.tbs.2023.100682>

Limwattana, S.; Prom-on, S. Topic Modeling Enhancement using Word Embeddings. 2021 18th International Joint Conference on Computer Science and Software Engineering 30 June 2021. <https://ieeexplore.ieee.org/document/9493816>

Meier, F., Dixon, T., Williams, T., & Paulsen, I. (2023). Navigating the frontier of synthetic biology: An AI-driven analytics platform for exploring research trends and relationships. *ACS Synthetic Biology*, 12(11), 3229–3241. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.3c00192>

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*, 70(3), 461–477. <https://doi.org/10.1021/np068054v>

Ortiz de Montellano, B. *Aztec Medicine, Health and Nutrition*; Rutgers University Press: New Brunswick, NJ, 1990.

Paisley, J., Wang, C., Blei, D. M., & Jordan, M. I. Nested hierarchical Dirichlet processes. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach.*, 2015, 37, 256–270. <https://doi.org/10.1109/tpami.2014.2318728>

Ramírez-Rodríguez, Y., Martínez-Huélamo, M., Pedraza-Chaverri, J., Ramírez, V., Martínez-Tagüña, N., & Trujillo, J. (2020). Ethnobotanical, nutritional and medicinal properties of Mexican



drylands Cactaceae Fruits: Recent findings and research opportunities. *Food Chemistry*, 312(126073), 126073. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126073>

Rivero-Cruz, I., Gutiérrez-González, J. A., Pérez-Vásquez, A., Villaseñor, J. L., & Mata, R. (2023). The genus *Ageratina* (Asteraceae) in America: An insight into its chemistry and pharmacological potential. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 26(9), 1629–1659. <https://doi.org/10.2174/1386207325666220908093541>

Schultes, R. E.; Hofmann, A. *Plants of the Gods*; McGraw-Hill: Maidenhead, UK, 1979.

Shim, H. (2019). Feature learning of virus genome evolution with the nucleotide skip-gram neural network. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 15, 117693431882107. <https://doi.org/10.1177/1176934318821072>

Siddiqui, T., & Amer, A. Y. A. (2023). A comprehensive review on text classification and text mining techniques using spam dataset detection. En *Mathematics and Computer Science Volume 2* (pp. 1–17). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119896715.ch1>

Torres-Vanda, M., & Gutiérrez-Aguilar, R. (2023). Mexican plants involved in glucose homeostasis and body weight control: Systematic review. *Nutrients*, 15(9), 2070. <https://doi.org/10.3390/nu15092070>

Universidad Nacional Autónoma de México, Reyes-Chilpa, R., Guzmán-Gutiérrez, S. L., Universidad Nacional Autónoma de México, Campos-Lara, M., Hospital Infantil de México, Bejar, E., Ezra Bejar Art & Consulting, Osuna-Fernández, H. R., Universidad Nacional Autónoma de México, Hernández-Pasteur, G., & Universidad Nacional Autónoma de México. (2021). On the first book of medicinal plants written in the American Continent: The *Libellus Medicinalibus Indorum Herbis* from Mexico, 1552. A review. *Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 20(1), 1–27. <https://doi.org/10.37360/blacpma.21.20.1.1>

Wasson, V. P.; Wasson, R. G. *Mushrooms Russia and History*; Pantheon Books: New York, 1957; Vol. II.

Zelina, P., Halámková, J., & Nováček, V. (2023). Extraction, labeling, clustering, and semantic mapping of segments from clinical notes. *IEEE transactions on nanobioscience*, 22(4), 781–788. <https://doi.org/10.1109/tnb.2023.3275195>



Identificación de hongos fitopatógenos en maguey para producción de mezcal

Diana Laura Ozuna Moreno¹; Artemio Pérez López^{1*}; Rosa Elvira Sánchez Fernández²; Moisés Camacho Tapia³

Mesa 4: Química.

Resumen

En el presente trabajo de investigación se realizó la identificación de hongos fitopatógenos que afectan severamente el rendimiento y calidad de diversas especies de maguey mezcalero (*Agave spp.*) en el estado de Oaxaca, una planta de gran importancia económica en la industria del mezcal en México. Las pérdidas causadas por las enfermedades fúngicas en el cultivo de agave pueden ser sustanciales, afectando negativamente los ingresos de los productores y la rentabilidad de la industria del mezcal en general. Debido a la alta tasa de pérdidas de este cultivo se analizaron dos variedades populares de maguey utilizadas para la producción de mezcal (*A. angustifolia* Haw y *A. karwinskii*) del cual se recolectaron muestras de tejido vegetal infectado que presentaban sintomatología como necrosis, enrollamiento de hojas, decoloraciones amarillas y rojo violeta. Para la identificación de hongos se llevó a cabo a partir de las características de crecimiento micelial en medios de cultivo PDA (Papa Dextroza Agar) y microscópicas por el método de microcultivo. Para la confirmación del patógeno se realizaron pruebas de patogenicidad, enfermando plantas sanas y así poder evaluar la severidad del hongo. Posterior a ello se espera encontrar alternativas sostenibles para el control biológico de los hongos con la finalidad de implementar fungicidas biológicos que sean amigables con el medio ambiente.

Palabras Clave: hongos fitopatógenos, maguey, *angustifolia*, *karwinskii*

Abstract

This research work was carried out to identify phytopathogenic fungi that severely affect the yield and quality of several species of mezcal maguey (*Agave spp.*) in the state of Oaxaca, a plant of great economic importance in the mezcal industry in Mexico. Losses caused by fungal diseases in the agave crop can be substantial, negatively affecting the income of producers and the profitability of the mezcal industry in general. Due to the high loss rate of this crop, two popular varieties of maguey used for mezcal production (*A. angustifolia* Haw and *A. karwinskii*) were analyzed and samples of infected plant tissue were collected, showing symptoms such as necrosis, leaf rolling, yellow and violet-red discolorations. Fungal identification was carried out based on mycelial growth characteristics in PDA (Papa Dextrose Agar) culture media and microscopy by the microculture method. For confirmation of the pathogen, pathogenicity tests were carried out on healthy plants to evaluate the severity of the fungus. Subsequently, it is expected to find sustainable alternatives for the biological control of fungi in order to implement biological fungicides that are environmentally friendly.

¹ Universidad Autónoma Chapingo, Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C. P. 56230, México.

² Laboratorio Nacional de Investigación de Servicio Agroalimentario y Forestal, Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C. P. 56230, México.

³ Departamento de Parasitología Agrícola, Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C. P. 56230, México.

Correo: ozuna.moreno97@gmail.com, aperezl.dia@chapingo.mx, resf2012@gmail.com



Keywords: phytopathogenic fungi, maguey, maguey, *angustifolia*, *karwinskii*

Introducción

El *Agave* se destaca principalmente por su importancia socioeconómica, agroecológica y cultural. Es la materia prima más importante en la elaboración de dos bebidas alcohólicas relevantes: el tequila y el mezcal (Rodríguez Velázquez et al. 2024). Estas plantas están conformadas por hojas grandes (pueden ser anchas o delgadas) que crecen en forma de rosetas, un tallo que se denomina corazón o "piña", algunas especies producen una inflorescencia llamada "quiote", ésta brota del centro de la planta y puede contener flores, sólo florecen una vez en su ciclo de vida por lo que se clasifican como monocárpicas y su reproducción puede ser sexual y asexual a través de semillas o tallo vegetativo (Márquez-Rangel et al. 2023). Sin embargo, este cultivo es susceptible a amenazas fitopatológicas, principalmente hongos y bacterias, teniendo ambos un impacto negativo en la producción anual de dichas bebidas (Rodríguez Velázquez et al. 2024). El incremento en la superficie del cultivo potencialmente podría incrementar la incidencia de enfermedades como ha sucedido en plantaciones de *A. tequilana*. causada por el hongo fitopatógeno como *Fusarium oxysporum* es uno de los problemas fitosanitarios que afecta significativamente la productividad del agave tequilero; el proceso de infección se inicia en las raíces, posteriormente se observa un enrollamiento y muerte en las puntas de las hojas, que culmina con la marchitez de toda la planta. Diversos autores han reportado que las plantas micorrizadas pueden originar en la mayoría de los casos una reducción de la incidencia y/o severidad de las enfermedades causadas por diversos fitopatógenos del suelo incluyendo a *Fusarium oxysporum* (Trinidad Cruz et al. 2017). El objetivo de este trabajo de investigación es identificar morfológicamente los hongos fitopatógenos que afectan directamente al rendimiento de cultivos de agave que son utilizados para la producción de mezcal.

Materiales y Métodos

Recolección de la muestra

La colecta se llevó a cabo en Sitio Xitlapehua, Miahuatlan, Oaxaca (latitud: 16.35252, longitud: -96.545057) en febrero del presente año. Se recolectaron 9 pencas (hojas) de maguey de las cuales 7 fueron de especie (*A. angustifolia haw*) y 2 de (*A. karwinskii*) la colecta se realizó tomando 1 muestra con intervalos de 3 metros por cada muestra en una misma parcela, tomando en cuenta muestras con mismas sintomatologías. Las muestras colectadas se almacenaron en bolsas de papel a temperatura ambiente para ser trasladadas al Laboratorio Nacional de Investigación de Servicio Agroalimentario y Forestal (LANISAF) para su análisis.

Aislamiento de hongos fitopatógenos

A partir de tejido de las hojas de agave, que presentaban síntomas de enfermedad, se cortaron fragmentos que incluían tejido sano y enfermo, se desinfectaron por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 3 % por 1 min, se enjuagaron 2 veces con agua destilada estéril (ADE), y se colocaron sobre papel secante estéril, para retirar el exceso de humedad. Posteriormente se colocaron 8 fragmentos de tejido en cajas petri con medio de cultivo Papa-DextrosaAgar (PDA) BD Bioxon™, se sellaron con papel plástico, se etiquetaron y se incubaron a temperatura ambiente con luz natural durante 48 horas. Los aislados fueron purificados, de acuerdo con las características de crecimiento y producción de esporas de cada uno de los hongos; a partir de la técnica de punta de hifa y cultivos monospóricos.

Para el caso de *Alternaria*, *Lasiodiplodia* y *Colletotrichum* se utilizó la técnica de cultivos monospóricos, se hizo una suspensión con 20 mL de ADE y esporas extraídas de éstos aislados, se tomó 1 mL y se vació en un tubo de ensayo con 9 mL de ADE para obtener una dilución de 1×10^{-1} , de ésta se tomaron 100



μ L y se colocaron en una caja con medio PDA, se dispersó con un triángulo de vidrio y se dejó incubar a temperatura ambiente. A las 24 horas se realizaron observaciones en el microscopio para detectar los primeros conidios germinados, y se transfirió de un solo conidio a caja nueva con medio PDA (Tuite, 1969).

Montaje microscópico

Se realizaron preparaciones semipermanentes con glicerol al 50%, 2 gotas de ácido láctico y 2 gotas de azul de lactofenol, posteriormente se observaron en un microscopio compuesto (Nikon SMZ800®, EE.UU) usando el objetivo de 40X, las imágenes fueron capturadas electrónicamente con un sistema de cámara digital Motic Images Plus 2.0.

Pruebas de patogenicidad y virulencia

Para evaluar la patogenicidad y virulencia, se inocularon los aislados en hojas de *A. angustifolia* haw y *A. karwinskii* provenientes de Miahuatlan, Oaxaca. Se seleccionaron hojas sanas y se recortaron a una medida de 20 cm aproximadamente, posteriormente se desinfectaron con hipoclorito de sodio (NaClO) al 3% por un minuto y se enjuagaron dos veces en agua destilada estéril (ADE) por 1 minuto y se dejaron secar en papel absorbente estéril. Con palillos estériles se hicieron tres perforaciones al tejido vegetal de aproximadamente 0.5cm de diámetro, posterior a ello se inoculó un aislado diferente en cada hoja de agave colocando un disco de micelio en cada herida de la hoja. Se procedió a incubarse en cámara húmeda, las hojas inoculadas se metieron en una caja transparente de 50x20 cm con papel absorbente humedecidas con agua destilada estéril (ADE). Se incluyó un testigo como fuente de comparación, él cual solo se sometieron a cámara húmeda.

Se observaron y evaluaron los síntomas cada dos y tres días para determinar la virulencia del del hongo en cuestión.

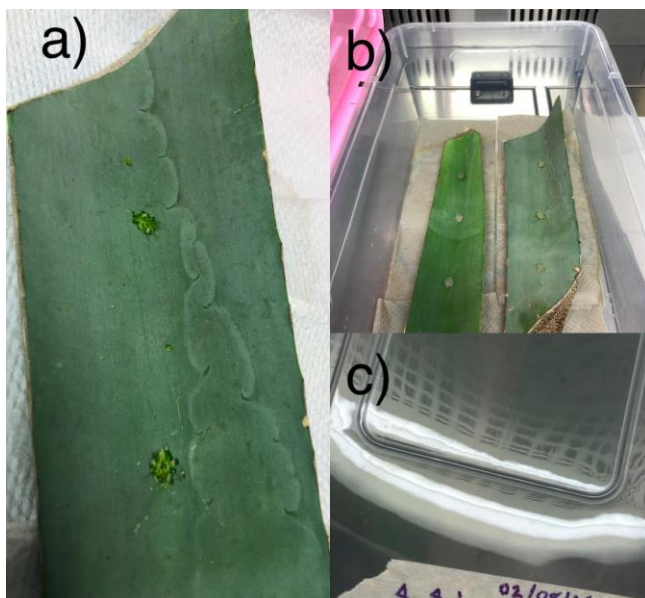


Figura 1. Inoculación de los aislados de hojas de agave. (a) Realización de la herida para inoculación, (b) inoculación de los aislados, (c) Establecimiento de las hojas en cámara húmeda

Reaislamiento

De acuerdo con (Fox, 1993) se cortaron con tijeras estériles pequeños fragmentos de tejido sano e infectado de las hojas inoculadas, con pinzas estériles se colocaron los fragmentos de manera directa en cajas Petri con PDA, y se inocularon por 24 y 48 horas a temperatura ambiente para la confirmación de los postulados de Koch.

Resultados y discusión

Síntomas en campo

Las muestras colectadas de maguey espadín (*A. angustifolia* Haw.) con edad de 7 años manifestaron los siguientes síntomas que se muestran en la (figura 2) (a): La hoja presentaba una necrosis avanzada en la punta, con un tejido de color marrón oscuro posiblemente causada por una infección que avanzaba desde la punta hacia abajo. (b) También se observaron pequeñas manchas amarillentas dispersas en el tejido verde, lo cual puede ser un síntoma de manchas foliares causadas por patógenos. (c) y (d) se observó una decoloración más evidente, que cubre una porción mayor de la hoja, con tonos rojizos y amarillentos que podrían estar asociados a síntomas característico del hongo *Fusarium spp*, así como también presentó enrollamiento de la hoja. (e) En la superficie de la hoja se analizó una cobertura por pequeñas postulas de color rojizo, que podrían ser signos de una infestación de ácaros o cochinillas. Los puntos rojos son típicos de la alimentación de estos insectos chupadores, que pueden debilitar la planta al succionar los nutrientes, así como lo afirma (Aquino Bolaños et al., 2007). (f) La muestra presentaba una especie de pudrición en la

parte baja dada por un enrollamiento de la hoja síntomas relacionados con los reportados por (Vega-Ramos, Uvalle-Bueno, and Gómez-Leyva 2013).

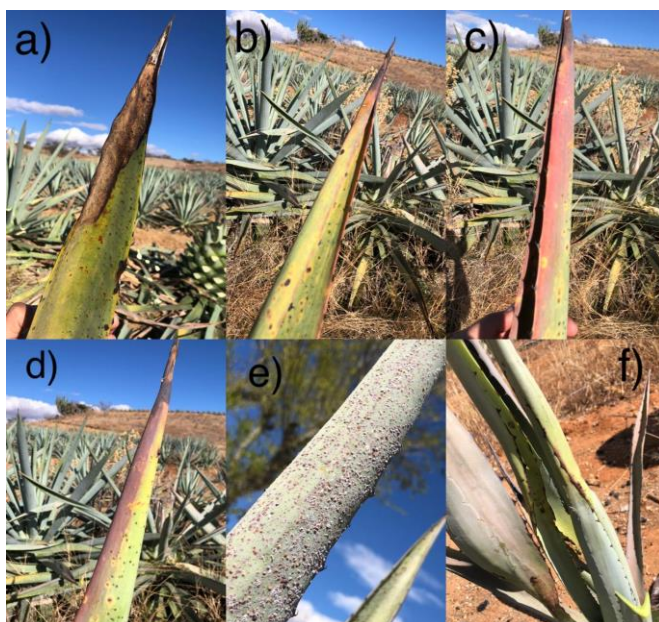


Figura 2. Síntomas de maguay espadín (*A. angustifolia* Haw) colectados en campo.

Las hojas recolectadas del agave madrequishe (*A. karwinskii*) de 12 años exhibieron lesiones necróticas en el centro, pudrición de la base del cogollo y pudrición de las hojas inferiores, lo que indujo una pudrición descendente con una consistencia papilosa del cogollo, ocasionando la descomposición de la piña, como se muestra en la (figura 3 a, b y c).

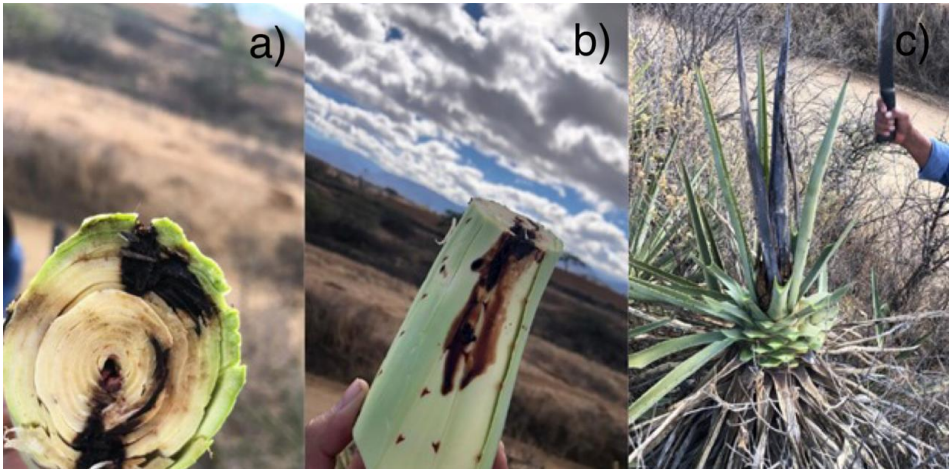
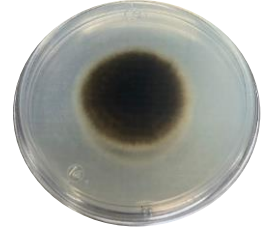
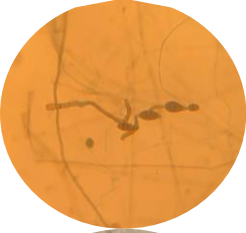
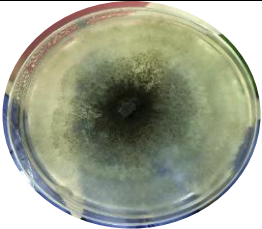
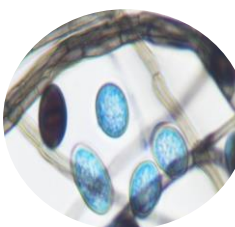


Figura 3. Síntomas de maguety madrequishe (*A. karwinskii*) (a), (b) y (c).

Identificación morfológica.

Hongo	Características morfológicas	Características macroscópicas	Descripción
<i>Alternaria spp</i>	 	 	Se observó un crecimiento en micelial en la parte superior de color blanco con textura algodonosa y la parte inferior una apariencia densa de color oscuro. Microscópicamente se observan conidióforos simples, tabicados, de forma alargada u ovoide.

Lasiodiplodia			Características coloniales evaluadas fueron: crecimiento micelial rápido y denso, en un principio gris claro, después de 4 días presentó una coloración gris oscuro con abundante micelio aéreo, coincidiendo con lo reportado por Ferreira et. al (1988). Con respecto a las características microscópicas Los conidios fusiformes elipsoidales, con el ápice redondeado, la base plana, hialinos y unicelulares de color marrón.
			

Con respecto a las pruebas de patogenicidad programadas para el presente experimento no han logrado ser concluidas, las pruebas de inoculación y observación requieren un periodo de incubación adecuado para permitir la manifestación de los síntomas asociados a la infección, así como la evaluación completa de los efectos patogénicos sobre los tejidos vegetales. El desarrollo del patógeno y la aparición de síntomas visibles generalmente toma un tiempo considerable que depende de varios factores, como la virulencia del organismo, las condiciones ambientales, y la respuesta de la planta hospedera. Debido a estos factores y a la naturaleza del ciclo biológico del hongo, el tiempo disponible no ha sido suficiente para observar completamente las interacciones patógeno-hospedero.

Por ello se espera disponer de un periodo de tiempo adecuado para la observación y recolección de datos necesarios, asegurando así la validez y reproducibilidad de los resultados.

Conclusiones

Las pruebas de identificación de hongos realizadas en este trabajo de investigación, se emplearon métodos basados en la observación de características morfológicas, tanto macroscópicas como microscópicas. Por lo que estas técnicas permitieron la identificación preliminar de algunos géneros patógenos, sin embargo, es importante destacar que se realizarán pruebas de identificación de biología molecular, como la amplificación de ADN (PCR) y la secuenciación de genes específicos.

Literarura Citada

Aquino, B. T., Iparraguirre C. M. A., & Ruiz, V. J. (2007). *Scyphophorus acupunctatus* (=interstitialis) Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). Plaga del agave mezcalero: Pérdidas y daños en Oaxaca, México. Revista UDO Agrícola, 7(1): 175-180.



- Ferreira, L. E., Nunes, M. J., Souto, B. A., Ribeiro, F. O., Correira, F. F., Emidio, A. A.** (1998). Podridao vermelha do tronco do sisal (*Agave sisalana* Perr.) causada por *Botryodiplodia theobromae* PAT.1 Brazil. 2(2): 109-112.
- Fox, R.T.V.** (1993). *Principles of Diagnostic Techniques in Plant Pathology*. Cab International. UK. p. 205.
- Márquez-Rangel, I., Cruz, M., Ruiz, H. A., Rodríguez-Jasso, R. M., Loredó, A., & Belmares, R.** (2023). Agave waste as a source of prebiotic polymers: Technological applications in food and their beneficial health effect. *Food Bioscience*, 103102. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103102>
- Rodríguez, V. N. D., Pérez, P. G. O., Vergara, A. G., Estrada de los Santos, P., Mendoza, F. J. S. & Chávez-Ramírez, B.** (2024). *Pantoea vagans* causing soft rot disease in *Agave angustifolia*, in Mexico. *Journal of Phytopathology*, 172(1). <https://doi.org/10.1111/jph.13280>
- Trinidad, C. J. R., Quiñones, A. E. E., Rincón, E. G., López, P. L., & Hernández, C. L. V.** (2017). Micorrización de *Agave cupreata*: Biocontrol de *Fusarium oxysporum* y promoción del crecimiento vegetal. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 35(2). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1607-5>
- Vega-Ramos, K. L., Uvalle-Bueno, J. X., & Gómez-Leyva, J. F.** (2013). Molecular variability among isolates of *Fusarium oxysporum* associated with root rot disease of *Agave tequilana*. *Biochemical Genetics*. 51(3–4): 243–255. <https://doi.org/10.1007/s10528-012-9559-4>



Propiedades funcionales de la proteína de semilla de calabaza (*Cucurbita argyrosperma*)

Rocío Santiago-Pelagio¹, Eleazar Aguirre-Mandujano², Consuelo Lobato-Calleros², Blanca E. Hernández-Rodríguez²

Mesa 4: Química.

Resumen

En los últimos años, los científicos han mostrado un creciente interés en explorar nuevas fuentes de proteínas de origen vegetal para alinearse con las tendencias del mercado y abordar las necesidades nutricionales de la creciente población mundial. Los residuos de la fruta de las semillas de calabaza son una fuente rica de proteínas balanceadas. Se evaluaron las propiedades bioquímicas de del aislado de proteína (APSC), en donde el aislado de proteína de semilla de calabaza (APSC) se obtuvo mediante una extracción, seguida de precipitación a punto isoelectrico (PI) el cual se determinó por medio del potencial ζ , donde se observó una carga neta cero correspondiente al PI de la proteína a un valor de pH de 4.2. El contenido de proteína soluble se determinó mediante el método de Lowry, obteniendo un 91.248/100 g. La mayor solubilidad fue a pH 9 con un porcentaje de 77.65. El APSC presentó una digestibilidad in vitro de 82.1 % lo que la hace viable para su consumo y la actividad emulsionante del aislado fue de 0.823 A.

Palabras clave: Semilla de calabaza, proteína, propiedades funcionales.

Abstract

In recent years, scientists have shown increasing interest in exploring new sources of plant-based protein to align with market trends and address the nutritional needs of the growing world population. Pumpkin seed fruit residues are a rich source of balanced proteins. The biochemical properties of the pumpkin seed protein isolate (APSC) were evaluated, where the pumpkin seed protein isolate (APSC) was obtained by extraction, followed by precipitation at isoelectric point (PI) which was determined by means of the ζ potential, where a zero net charge was observed corresponding to the PI of the protein at a pH value of 4.2. The soluble protein content was determined by the Lowry method, obtaining 91.248/100 g. The highest solubility was at pH 9 with a percentage of 77.65. The APSC presented an in vitro digestibility of 82.1% which makes it viable for consumption and the emulsifying activity of the isolate was 0.823 A.

Keywords: Pumpkin seeds, protein, functional properties.

¹ Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Universidad Autónoma Chapingo Km 38.5 Carretera México-Texcoco, Texcoco, México, CP 56230. Correo: rociosp.0596@gmail.com

² Departamento de Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Km 38.5, Carretera México-Texcoco, 56230, Texcoco, México, CP 56230. Correo: eleagman@yahoo.com, consuelobato@yahoo.com, bhernandezr@chapingo.mx



Introducción

Una dieta equilibrada debe contener las cantidades adecuadas de proteínas, lípidos, glúcidos, vitaminas y minerales. Las proteínas son fundamentales en la alimentación porque son responsables de la formación de todo tipo de tejidos en el cuerpo, incluyendo músculo, piel, huesos y sangre. Las principales fuentes de proteínas incluyen alimentos de origen animal como la carne, el pescado, el huevo y la leche, que son considerados de alto valor biológico, esto se debe a que las proteínas animales se consideran proteínas completas porque contienen todos los aminoácidos esenciales (EAA) en las proporciones recomendadas por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO)/Organización Mundial de la Salud (OMS) (Du et al., 2012). Al obtenerse de la ganadería intensiva se genera un impacto ambiental que contribuye de forma negativa en la deforestación, la contaminación del agua y del aire, la pérdida de biodiversidad y la emisión de gases de efecto invernadero que contribuyen al cambio climático, es por eso que se han buscado alternativas para la obtención de proteínas como lo son los vegetales (trigo, chia, lentejas, frijoles, semillas), microorganismos (hongos y microalgas) e insectos (*Hermetia illucens*, *Tenebrio molitor*), ya que presentan una menor sobreexplotación de los recursos naturales, razones de salud, sostenibilidad y ética. (Abril et al., 2022).

Las proteínas vegetales se han establecido como la fuente más económica y abundante de proteínas, constituyendo una alternativa destacable a las proteínas animales en múltiples campos, tales como la nutrición humana y en el desarrollo de productos funcionales relacionados con la salud (Du et al., 2012; Muhamyankaka et al., 2013).

Con el fin de utilizar las proteínas en aplicaciones alimentarias, es esencial realizar una caracterización bioquímica adecuada y asegurar que posean diversas propiedades funcionales deseables (Du et al., 2012; Ragab et al., 2004). Las propiedades funcionales relevantes de las proteínas como la solubilidad, la capacidad de formación de gel, las propiedades reológicas, la retención de agua y aceite, así como las capacidades emulsionante y espumante son influenciadas por factores como el tamaño molecular, la estructura y la distribución de carga (Shevkani et al., 2015).

La semilla de calabaza, específicamente de la variedad *Cucurbita argyrosperma*, ha ganado atención en los últimos años por su notable composición nutricional, son particularmente ricas en proteínas, aproximadamente entre un 60 al 65 %, lo que la convierte en una fuente de proteína de origen vegetal atractiva y prometedora. Los informes indican que la proteína de semilla de calabaza es similar a la proteína de torta de soya. Estas proteínas incluyen todos los aminoácidos esenciales, aunque su contenido de metionina es relativamente bajo en comparación con las proteínas de origen animal (Liu et al., 2021). Sin embargo, al combinarse con otras fuentes de proteínas vegetales, como legumbres o granos, se puede obtener un perfil aminoácido más equilibrado. (González-Cruz et al., 2021). Además, la proteína de semilla de calabaza es fácil de digerir, lo que la convierte en una opción accesible para un amplio espectro de consumidores.

Este estudio tuvo como objetivo conocer las propiedades funcionales de la proteína de semilla de calabaza (*Cucurbita argyrosperma*) para tener una nueva alternativa de proteína de origen vegetal.

Materiales y Métodos

El material biológico semilla de calabaza (*Cucurbita argyrosperma*), se obtuvieron en Zacatlán (19° 55' 55" N, 97° 57' 36" O, elevación sobre el nivel del mar de 2040 m) y Ahuacatlán (20° 00'



27° N, 97° 51' 37" O, elevación sobre el nivel del mar 1363 m) Estado de Puebla, México. Se realizó un acondicionamiento de la semilla de calabaza que consistió en un lavado y secado en una estufa a 40 °C por 48 h. Las harinas de semilla de calabaza (HSC)), se obtuvieron empleando un procesador de alimentos (Nutribullet™ NB-101B), colectando las fracciones retenidas en un tamiz (malla No. 80).

Análisis químico proximal.

Obtención del aislado de proteína de semilla de calabaza

La HSC fue desengrasada con hexano durante 6 h a 70 °C en un equipo Soxhlet. Ésta última se empleó para obtener el aislado de proteína de semilla de calabaza (APSC) de acuerdo con la metodología descrita por Martínez y Añón (1996) con ligeras modificaciones, se determinó el contenido de proteína soluble utilizando albúmina sérica bovina (BSA) como estándar (0.1 - 0.01 mg mL⁻¹) (Lowry, 1951).

Análisis químico proximal

Se llevo a cabo un análisis químico proximal (AOAC, 2000) para la HSC y HTM. El extracto etéreo se determinó por el método de Soxhlet AOAC 920.39; el contenido de proteína por el método de Kjeldahl (N x 6.25) AOAC 954.01; el porcentaje de cenizas por AOAC 942.05 y fibra cruda AOAC 991.42. Los carbohidratos totales se calcularon por diferencia (ecuación 1). Los resultados se expresaron en base seca.

$$\text{Carbohidratos totales} = \{100 (\% \text{ extracto etéreo} + \% \text{ proteína} + \% \text{ cenizas})\} \quad (1)$$

Potencial zeta

Se determinó el potencial zeta (ζ) en dispersiones de semilla de calabaza (0.05 % p/p) en un intervalo de pH de 2 a 7, con incrementos de 0.5 unidades empleando HCl 0.1 N y/o NaOH 0.1 N.

Determinación de solubilidad de proteínas en función del pH

La solubilidad de proteína se llevó a cabo por el método descrito por Yu et al. (2017). Se prepararon soluciones de las muestras (1 g/100 mL) en amortiguador fosfatos 0.01 M a pH 2, 4.2 (punto isoelectrico) 5, 7, 9 y 11. Las dispersiones se mantuvieron en agitación magnética por 60 min y se centrifugaron a 4400 x g por 20 min a temperatura ambiente y posteriormente se filtraron. El contenido de proteínas se determinó por el método de Lowry modificado por Petterson (1977).

Digestibilidad relativa in vitro

La digestibilidad relativa in vitro se llevó a cabo mediante el método de MartínezVelasco et al., (2018). Se añadió la muestra de APSC (63.8 mg) en 10 mL de agua desionizada y se ajustó a pH 8 con NaOH 1 N. Se adicionó 1 mL de disolución acuosa enzimática, 1.58 mg de Tripsina pancreática porcina, 3.65 mg de Quimotripsina pancreática b bovina y 0.45 mg de Peptidasa intestinal porcina, se dejó en agitación durante 10 min a 37° C. Posteriormente se añadió 1.48 mg de proteasa bacteriana y se continuo con la digestión durante 9 min a 55° C. El valor del pH se registró después de 1 minuto más y se utilizó para determinar el porcentaje de digestibilidad relativa de la proteína in vitro (RDP %) según la siguiente ecuación 2.

$$RDP (\%) = 234.84 - 22.56 X \quad (2)$$

Donde X es el pH final de la suspensión.



Propiedades de emulsificación

Se empleó un método turbidimétrico para determinar la actividad emulsionante (EA) y la estabilidad de la emulsión (ES) del APSC, como describe Horax et al. (2011). Se agregaron 40 mL de aceite de canola a 120 mL de solución de proteína (0.1%) y la mezcla se homogeneizó durante 3 min, utilizando un homogeneizador Ultra-Turrax® (T50 basic IKA Works, Inc. Wilmington, Usa) para formar una emulsión. Cincuenta microlitros de la emulsión se transfirieron a un tubo de ensayo que contenía 5 mL de SDS al 0.1 % (p/v) a 0 y 10 min después de la homogeneización. La absorbancia de las soluciones se midió a 500 nm utilizando un espectrofotómetro. EA se expresó como la absorbancia a los 0 min de homogeneización de la emulsión, mientras que ES se calculó mediante la siguiente ecuación 3.

$$ES = T0 \times (\Delta t / \Delta T) \quad (3)$$

En donde ΔT fue el cambio en la turbidez de la absorbancia inicial ($T0$) que ocurrió en un periodo de 10 min (Δt).

Resultados y discusión

Análisis químico proximal

La composición química proximal de HSC en base seca se muestra en el cuadro 1. Las harinas de semillas pueden ser utilizadas como ingredientes con gran potencial debido a sus componentes (Karaka et al., 2014). Dimitry et al. (2022) reportaron para *C. máxima* un contenido de cenizas de 4.02 %, este valor es menor a lo obtenido en esta investigación con un 7.14 % de cenizas para HSC. Las proteínas y lípidos (extracto etéreo), son los componentes principales y más importantes de las semillas; Rezig et al. (2013) obtuvieron un 43.1 % de proteína cruda para la variedad de *C. máxima*. y para lípidos un 33.48 % en la variedad *C. moschata*. Para la variedad *C. argyrosperma* se encontró un 40.03 % que se encuentra dentro de los valores mencionados anteriormente. Para fibra y extracto libre de nitrógeno se obtuvieron valores inferiores a los reportados para la variedad *C. máxima* 2.18 y 8.24 % respectivamente.

Cuadro 1. Análisis químico proximal de las harinas de semilla de calabaza (HSC)

Parámetros	% base seca HSC
Cenizas (C)	7.14 ± 0.01
Proteína cruda (PC)	40.03 ± 0.5
Extracto etereo (EE)	50.20 ± 0.05
Fibra cruda (FC)	1.71 ± 0.03
Extracto libre de nitrógeno (ELN)	0.92 ± 0.04

Solubilidad de proteínas en función del pH

La solubilidad de las proteínas es una propiedad funcional de suma importancia, para la solubilidad de la semilla de calabaza en función del pH se muestra en la Figura 1, donde el valor más bajo se presentó en 4.2, es decir el punto isoeléctrico con un 8.02 ± 0.01 %, la solubilidad aumento en pH superiores a 5, la mayor solubilidad fue a pH 9 (77.65 ± 1.2 %). Vinayashree & Vasu (2021) reportan valores similares para la proteína de semilla de calabaza de la variedad *C. mostacha*, con una solubilidad mínima entre pH 4-5 y la mayor solubilidad a pH 12, al igual mencionan que la

proteína de semilla de calabaza es comparable con la proteína de aislado de soya con un 80.34 % de solubilidad a pH 12.

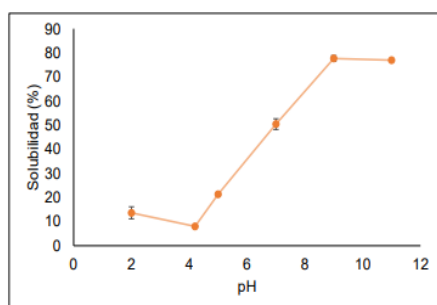


Figura 1. Solubilidad de la proteína de harina de semilla de calabaza

Potencial zeta (ζ)

La variación del potencial ζ del APSC con el pH se presenta en la (Fig. 2), en la que se puede observar una carga neta cero en un valor de pH de 4.2, siendo este el punto isoeléctrico, lo que da que las proteínas precipiten por las fuerzas de atracción de Van der Waals y presentan el menor porcentaje de solubilidad. Bucko et al. (2016) reportaron para la semilla de calabaza variedad *Cucurbita pepo* un punto isoeléctrico entre pH 4 y pH 5, similar a lo obtenido en esta investigación.

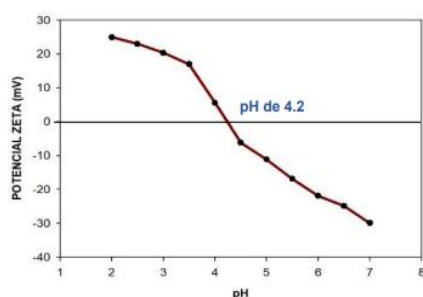


Figura 2. Potencial zeta del aislado de proteína de semilla de calabaza

Digestibilidad relativa *in vitro*

Una herramienta útil para evaluar su composición y biodisponibilidad de los aminoácidos, así como la calidad nutricional de una proteína alimentaria es la digestibilidad *in vitro* de proteínas (Sá et al., 2019). La digestibilidad relativa *in vitro* fue de 82.1 ± 0.5 % para el APSC, este resultado es mayor a la obtenido con otras investigaciones, como lo reportado por Venuste et al. (2013) en harina de semilla de calabaza, donde el valor obtenido oscilo en un 71.3 %. El-Adawy & Taha (2001b) obtuvieron una digestibilidad de proteínas *in vitro* de 90.0 % en la semilla de calabaza. Al igual los



resultados coinciden con la proteína de quinoa que se encontraron entre un 75.3 % y un 84 % (Repo-Carrasco-Valencia & Serna, 2011) y un 78.37 ± 1.08 % en el aislado de proteína de quinoa (El.Sohaimy et al., 2015).

Propiedades de emulsificación

La propiedad emulsionante incluye a la actividad emulsionante y a la estabilidad de la emulsión. Para la actividad emulsionante y estabilidad de la emulsión de APSC se obtuvieron valores de 0.873 ± 0.02 y 21.75 ± 0.05 , respectivamente; en trabajos anteriores se ha reportado una actividad emulsionante de 0.930 ± 0.015 y una estabilidad emulsionante de 23.65 ± 3.15 para el aislado de *C. mostacha*, mientras que para la proteína de soya presento una actividad emulsionante de 0.990 ± 0.001 y una estabilidad del 27.41 ± 1.17 (Vinayashree & Vasu, 2021b)., los valores obtenidos son mayores a los de la semilla de melón amargo con una actividad del 0.360 ± 0.02 y una estabilidad del 63.6 ± 8.3 (Horax et al., 2011). El APSC es una proteína viable y funcional para el uso alimentario.

Conclusiones

La harina de semilla de calabaza presento un contenido de proteína 40.03 % lo que la hace una alternativa viable de proteínas no convencionales ya que una vez que se realiza el tratamiento de desengrasado esta aumenta. El aislado de proteína de semilla de calabaza (APSC) obtenido presentó un punto isoeléctrico de 4.2, mientras los valores de actividad emulsionante y estabilidad de la emulsión fueron de 0.873 y 23.65 %, respectivamente. La digestibilidad in vitro del aislado de semilla de calabaza fue de 82.1 % lo que la hace viable para el consumo humano.

Por lo tanto, la semilla de calabaza variedad *C. argyrosperma*

Literatura Citada

- Bučko, S., Katona, J., Popović, L., Vaštag, Ž., Petrović, L., & Vučinić-Vasić, M. (2015). Investigation on solubility, interfacial and emulsifying properties of pumpkin (*Cucurbita pepo*) seed protein isolate. *LWT*, 64(2), 609-615. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.054>
- Dimitry, M. Y., Thérèse, B. A. M., Edith, D. M. J., Emmanuel, P. A., Armand, A. B., & Nicolas, N. Y. (2022). Hypolipidemic and antioxidant effects of vegetal milk produced with *mucuna pruriens* L. seed in rats fed a high- 69 fat diet. *Heliyon*, 8(11), e11835. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11835>
- Du, X., Liu, Y., & Wang, J. (2012). "Characterization of protein from pumpkin (*Cucurbita maxima*) seeds." *Food Chemistry*, 132(3), 1199-1205. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.004>
- González-Cruz, L., Hernández-Flores, B., & Cuéllar-Ampudia, C. (2021). "Nutritional and functional properties of *Cucurbita argyrosperma* seeds: A review." *Cyclic Carbon Compounds*, 7(2), 193-202.
- Horax, R., Hettiarachchy, N., Kannan, A., & Chen, P. (2011). Protein extraction optimisation, characterisation, and functionalities of protein isolate from bitter melon (*Momordica charantia*) seed. *Food Chemistry*, 124(2), 545-550. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.068>



- Liu, S., Wang, L., & Cheng, H. (2021). "Amino acid composition and protein digestibility of pumpkin seed protein." *Journal of Food Science*, 86(7), 2917-2926.
- Martínez-Velasco, A., Lobato-Calleros, C., Hernández-Rodríguez, B. E., Román-Guerrero, A., Alvarez-Ramírez, J., & Vernon-Carter, E. (2018). High intensity ultrasound treatment of Faba bean (*Vicia faba* L.) protein: effect on surface properties, foaming ability and structural changes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 44, 97-105. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.02.007>
- Muhamyankaka, G. M., Gereniu, A., & Safari, A. (2013). "Nutritional and functional properties of several plant proteins." *American Journal of Food Science and Nutrition*, 1(1), 1-7.
- Peterson, G. L. (1977). A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analytical Biochemistry*, 83(2), 346-356. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(77\)90043-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(77)90043-4)
- Ragab, H. M., Abdelgawad, H., & Shaltout, K. (2004). "Functional properties of various protein ingredients." *Food Chemistry*, 84(2), 169-174. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.05.010>
- Repo-Carrasco-Valencia, R., & Serna, L. A. (2011). Quinoa (*Chenopodium quinoa*, willd.) as a source of dietary fiber and other functional components. *Food Science and Technology*, 31(1), 225-230. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612011000100035>
- Rezig, L., Chibani, F., Chouaibi, M., Dalgalarondo, M., Hessini, K., Guéguen, J., & Hamdi, S. (2013). Pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed proteins: sequential extraction processing and fraction characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(32), 7715-7721. <https://doi.org/10.1021/jf402323u>
- Sá, A. G. A., Moreno, Y. M. F., & Carciofi, B. A. M. (2019). Food processing for the improvement of plant proteins digestibility. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(20), 3367-3386. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1688249>
- Shevkani, K., Singh, N., Kaur, A., & Rana, J. C. (2015). "Functional properties of legume flours and their application in gluten-free pasta." *Food Science and Technology International*, 21(4), 303-316. <https://doi.org/10.1177/1082013214557368>
- Venuste, M., Zhang, X., Shoemaker, C. F., Karangwa, E., Abbas, S., & Kamdem, P. E. (2013). Influence of enzymatic hydrolysis and enzyme type on the nutritional and antioxidant properties of pumpkin meal hydrolysates. *Food & Function*, 4(5), 811. <https://doi.org/10.1039/c3fo30347k>
- Vinayashree, S., & Vasu, P. (2021). Biochemical, nutritional and functional properties of protein isolate and fractions from pumpkin (*Cucurbita moschata* Var. Kashi harit) seeds. *Food Chemistry*, 340, 128177. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128177>
- Yu, M., Zeng, M., Qin, F., He, Z., & Chen, J. (2017). Physicochemical and functional properties of protein extracts from *Torreya grandis* seeds. *Food Chemistry*, 227, 453-460. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.114>



Control de temperatura de un destilador para producción de mezcal artesanal

Blanca Elena Pioquinto¹, Artemio Pérez López^{1*}, Noé Velázquez López¹, Landy Hernández Rodríguez¹ y Graciela Ávila Uribe²

Mesa 4: Química.

Resumen

Este estudio presenta una propuesta para el diseño de un sistema automatizado de control de temperatura en la montera de un destilador artesanal de mezcal, con el objetivo de hacer más eficiente el proceso de destilación en términos de uso de energía y del agua disponible, y de manera indirecta también permitirá optimizar la cantidad de leña necesaria para calentar la olla de evaporación. Actualmente, se ha observado de manera directa que los destiladores artesanales no cuentan con mecanismos de control del fuego en el horno, así como de control del agua para refrescar la montera y de control de temperatura en la etapa de condensación del mezcal, la cual se lleva a cabo en un intercambiador de calor que consiste en un serpentín de cobre sumergido en agua dentro de una pileta de concreto. El agua de la pileta permanece estática y con paso del tiempo se calienta sólo una porción que se encuentra en la superficie. Con este antecedente, se planteó el diseño de un sistema automatizado de control de temperatura por medio de sensores y actuadores, de tal manera que cuando el sensor detecta que la temperatura interna de la montera sobrepasa el rango óptimo de destilación del mezcal (85 y 90°C) envía una señal a un actuador para encender una bomba de flujo variable que a su vez envía un flujo de agua fría, que se toma de la pileta, para disminuir la temperatura de los gases dentro de la montera. El intercambio de calor entre el agua de servicio y los gases dentro de la montera provocan un aumento de la temperatura del agua, por lo tanto, este corriente de agua se envía a una torre de enfriamiento y posteriormente devolverlo a la pileta.

Palabras clave: Destilación, sistema automatizado, eficiencia, sensores de temperatura.

Abstract

This study presents a proposal for the design of an automated temperature control system for the hood of an artisanal mezcal distiller, with the goal of making the distillation process more efficient in terms of energy use and available water. Indirectly, it will also help optimize the amount of firewood needed to heat the evaporation pot. Currently, it has been directly observed that artisanal distillers lack mechanisms for controlling the fire in the oven, as well as for controlling the water used to cool the hood and the temperature during the mezcal condensation stage, which takes place in a heat exchanger consisting of a copper coil submerged in water inside a concrete basin. The water in the basin remains static, and over time, only the surface portion becomes heated. With this background, the design of an automated temperature control system was proposed, using sensors

¹ Universidad autónoma Chapingo, Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Posgrado en ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua, México- Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, 56230

² Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología, México.; *Correspondencia del autor: aperezl.dia@chapingo.mx.



and actuators. When the sensor detects that the internal temperature of the hood exceeds the optimal mezcal distillation range (85 to 90°C), it sends a signal to an actuator to activate a variable-flow pump that, in turn, sends a flow of cold water from the basin to lower the temperature of the gases inside the hood. The heat exchange between the service water and the gases inside the hood causes an increase in the water temperature, so this water stream is sent to a cooling tower and then returned to the basin.

Keywords: Distillation, automated system, efficiency, temperature sensors.

Introducción

El mezcal es una bebida tradicional de México, herencia del pasado prehispánico y representativo de Oaxaca. Sin embargo, actualmente muchos productores de mezcal en Oaxaca continúan laborando en condiciones precarias, haciendo uso de tecnologías rudimentarias, ya que todos sus procesos de elaboración se llevan a cabo exclusivamente de manera artesanal en un nivel del 90% (Pérez, 2018).

Esta industria es de gran importancia económica ya que generan empleos tanto directos como indirectos, especialmente en áreas marginadas, brindando oportunidades a pequeños productores. La elaboración de mezcal se compone principalmente de cuatro etapas: horneado, molienda, fermentación y destilación. Esta última se considera un punto crítico en el proceso ya que asegura que la bebida resultante sea apta y de calidad para el consumo humano, se han identificado una serie de problemáticas técnicas que no han sido abordadas para su mejora a través de tecnología adecuada que instrumente y controle la temperatura de destilación (Marín, 2022). El presente estudio seleccionó la etapa de destilación como una de las más importantes, ya que de su correcta ejecución depende la calidad del producto final. Las modificaciones y mejoras en el destilador no alterarán la esencia del proceso artesanal, que es uno de los factores clave para su demanda tanto a nivel nacional como internacional, así como su posicionamiento en los mercados. En este contexto, el objetivo es implementar un sistema de control en un destilador artesanal de mezcal, utilizando instrumentación con sensores para la medición y control precisa de la temperatura. Dentro de esta misma etapa existe otras dos fases importantes que es la evaporación y condensación de los vapores del mezcal, existen estudios que sólo se han enfocado en la mejora del condensador implementando un sistema de recirculación y enfriamiento del agua con una eficiencia del 97% (Caballero *et al.*, 2012).

Hasta ahora, la destilación artesanal se ha realizado de manera empírica, sin mecanismos de control sobre el fuego en el horno, lo que genera pérdidas de energía. Esta situación también impide el control adecuado del agua para enfriar la montera, y de la temperatura en la pileta al sobrecalentarse el agua de enfriamiento. Esto provoca tiempos largos de destilación y, de manera indirecta, en un consumo ineficiente de la leña utilizada para alimentar el horno.

Para lograr hacer este proceso más eficiente, es necesario desarrollar un sistema de control de temperatura para un alambique de cobre en la producción artesanal de mezcal mediante control automático con sensores que actuarán en conjunto con una bomba de agua para mantener control del flujo de agua de enfriamiento que requiera la montera del alambique, con la finalidad de hacer más eficiente el proceso en términos de uso de agua, energía y leña.

Materiales y métodos

Fase de diagnóstico y toma de datos

Se realizó una visita al palenque donde se estudió el proceso de elaboración artesanal del mezcal con el fin de comprender mejor su funcionamiento y analizarlo a detalle, se eligió el objeto de estudio la fase de destilación en alambique de cobre (Figura 1). La destilación requiere de los siguientes equipos:

Evaporador. Consiste en una olla de cobre de 150 litros la cual se expone al fuego para lograr la evaporación, la cual está puesta en un horno de ladrillo.

Turbante. Se utiliza para transportar los vapores alcohólicos del evaporador al condensador.

Condensador. Consiste en un (serpentín de cobre) para el enfriamiento de los vapores, que se han desprendido por la acción del calor dentro del evaporador.



Figura 1. Destilación en alambique de cobre.

Se analizó la variable de medición, que fue la temperatura, y se tomaron las medidas reales del destilador (Figura 2). Posteriormente, se realizó un monitoreo en tiempo real del comportamiento de las temperaturas del destilador, lo que permitió definir los parámetros tecnológicos de diseño en función de los objetivos planteados. Se elaboró un diagrama preliminar del destilador con las nuevas implementaciones en 3D, utilizando el programa SketchUp versión 23.0.419 (Win 64-bit), como se muestra en la figura 3. Además, se seleccionaron los nuevos componentes electrónicos (sensores y actuadores), y finalmente se mandó a construir el alambique con los nuevos aditamentos.

Fase de diseño del sistema de control

Estas mediciones son esenciales para determinar el diseño óptimo del sistema de control del destilador. Se registrarán las temperaturas en la entrada y salida del turbante (fases de vapor y líquido, respectivamente), las temperaturas del agua de enfriamiento en el serpentín sumergido en la pileta, la temperatura del líquido caliente en la montera externa y, finalmente, la temperatura del mezcal resultante. La primera medición se hizo en la segunda postura de la destilación. Posteriormente, se desarrolló un modelo preliminar del sistema de control automático del destilador en 3D, desde un enfoque funcional y eficiente, de acuerdo con de los objetivos a alcanzar. Una vez

identificada y analizada la variable de temperatura de operación del equipo de destilación, y tras recopilar todos los datos experimentales necesarios, se evaluó la alternativa de diseño más adecuada para ser implementada en el alambique de cobre y la montera. Completado este análisis, se procedió a la construcción del sistema de acuerdo con el diseño elaborado, considerando las especificaciones de los materiales seleccionados.

Resultados y discusión

En la Figura 2 muestra las medidas reales que se tomaron en campo del destilador. Un horno de ladrillo de dimensiones 1.30 metros de ancho, 1.33 metros de largo y 1.18 metros de altura, junto con una olla de evaporación de 0.65 metros de diámetro y 0.66 metros de altura. Además, cuenta con una montera interna de 0.32 metros de diámetro y 0.33 metros de altura, así como una montera externa de 0.44 metros de diámetro y 0.47 metros de altura. Se emplea un turbante o tubo de condensación de 0.045 metros de diámetro y una longitud de 1.82 metros, junto con un serpentín de 0.33 metros de diámetro y 0.80 metros de altura. Una pileta de 2.40 metros de largo, 1.39 de ancho y 1.57 de altura.



Figura 2. Medidas reales del destilador de cobre.

Temperatura de los diferentes puntos del destilador

Las Figuras 3 y 4 muestra el comportamiento de la temperatura en diferentes puntos del proceso de destilación en dos posturas del día, una en la mañana y una en la tarde.

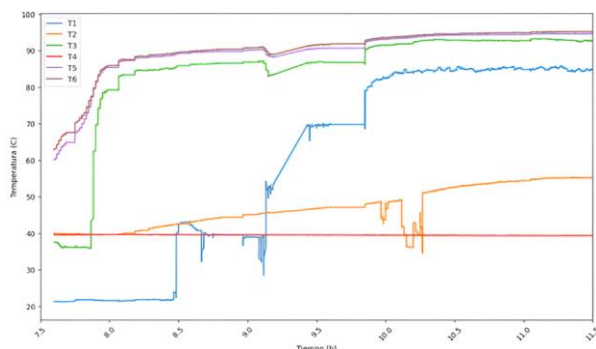


Figura 3. Comportamiento de la temperatura dentro

T1: Montera, T2: Agua de la superficie de la pileta, T3: Salida del turbante, T4: Agua del fondo de la pileta, T5: Entrada del turbante y T6: Olla de evaporación.

El comportamiento de la temperatura de la montera (T1) varía desde el inicio del proceso. Durante las primeras horas, no se utiliza agua en la montera, y el mezcal empieza a caer aproximadamente una hora después de iniciar la destilación, a las 8:30 am. A las 9:15 a.m. se realiza una refrescada con una manguera de agua fría para regular la temperatura, lo que mantiene la temperatura alrededor de 75°C durante una hora. Después de retirar la manguera, la temperatura comienza a subir lentamente hasta estabilizarse entre 80 y 85°C, donde se mantiene hasta el final del proceso. Por otro lado, las temperaturas en la olla de evaporación (T6), la entrada del turbante (T5) y la salida del turbante (T3) permanecen relativamente estables, hasta que se aplica la refrescada para controlar la temperatura de la destilación. Tras una hora, al retirar la refrescada, las temperaturas vuelven a subir ligeramente, manteniéndose constantes entre 91 y 92°C hasta el final del proceso. En cuanto al agua de la pileta, la superficie (T2) se calienta gradualmente hasta alcanzar los 60°C, mientras que el fondo (T4) se mantiene más frío, alrededor de 40°C, lo que indica una ineficiencia en el enfriamiento, ya que la temperatura no se distribuye de manera uniforme.

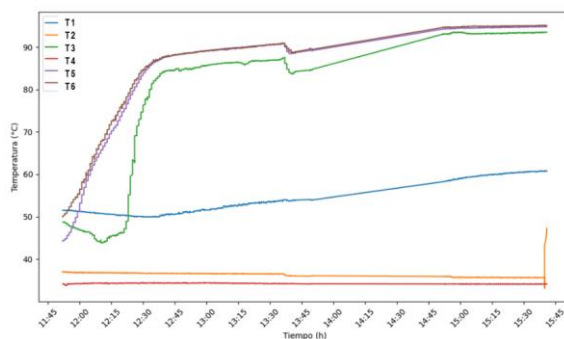


Figura 4.

Comportamiento de la temperatura de destilación de la segunda postura del día.

T1: Agua de la superficie de la pileta, T2: Agua de la mitad de la pileta, T3: Salida del turbante, T4: Agua del fondo de la pileta, T5: Entrada del turbante y T6: Olla de evaporación.

Las temperaturas de la olla interna (T6), entrada del turbante (T5) y la montera (T3) se comportan de manera igual, rondando los 88°C ya que están más en contacto directo con el vapor que viene de la olla de evaporación. Esta temperatura se mantiene constante hasta las 1:35 pm., momento en el mezcal deja de caer debido a la elevación de temperatura a 92°C, en ese punto se le realiza una refrescada con agua fría a la montera durante una hora, lo que permite regular la temperatura por debajo de los 90°C, reanudando la caída del mezcal hasta después de 15 minutos vuelve a subir la temperatura de los tres puntos hasta estabilizarse a 92° sin añadirle más leña al horno como al inicio. Además, se observa que el agua en la superficie de la pileta (T1) se mantiene a una temperatura de 64°C, ya que es donde los vapores entran al serpentín sumergido y con el paso del tiempo se sobrecalienta. Por otro lado, tanto el agua en la parte media de la pileta (T2) como en el fondo (T4) registran temperaturas más bajas, debido a que se encuentran más alejadas del serpentín que condensa los alcoholes.

Desarrollo de un modelo preliminar del destilador con las nuevas implementaciones en 3D.

En la siguiente figura se observa el diagrama del modelo de destilación con los nuevos aditamentos y como será el sistema de control para el control eficiente de la temperatura en la destilación.

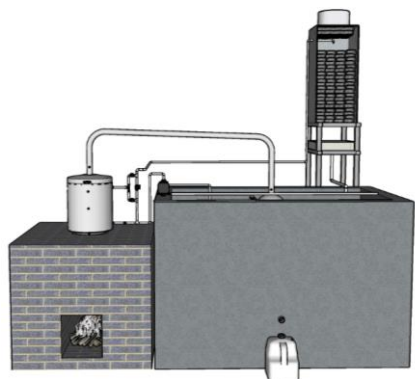


Figura 5. Vista anterior del destilador.

La Figura 6 muestra las partes principales que constituyen el modelo. Este sistema incluye un horno de ladrillo, junto con una olla de evaporación. Además, cuenta con una montera interna, una montera externa el cual se le implementó una tapa hermética como parte del sistema de control de la temperatura y un turbante o tubo de condensación, junto con un serpentín. Todos estos elementos están interconectados mediante tuberías plus para realizar la recirculación del agua de enfriamiento. También dispone de una pileta de concreto y una torre de enfriamiento. Finalmente, un garrafón está destinado a coleccionar el mezcal producido.

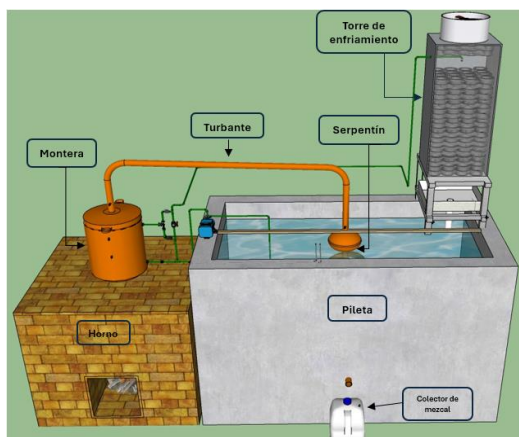


Figura 6. Parte del destilador con los aditamentos.

Torre de enfriamiento

En la siguiente Figura 7 muestra la torre de enfriamiento, un sistema de recirculación diseñado para el enfriamiento del agua que viene de la montera, se compone de 3 partes principales, un ventilador extractor que va a extraer el aire caliente del interior de la torre, lo hace pasar por unos rellenos de PET, lo expulsa hacia arriba y extrae aire fresco de abajo hacia el interior. La segunda parte es una torre de enfriamiento, la cual recibe el agua caliente mediante una tubería plus, al final de éste se encuentra conectado un aspersor, su función es distribuir el agua entre los rellenos de PET y que retarden su caída y aumenten el tiempo de contacto entre el agua y el aire, de esta manera al entrar en contacto con el aire frío cause un choque térmico y de esta manera se disminuye la temperatura del agua. En la base de la torre tendrá un colector de agua fría.

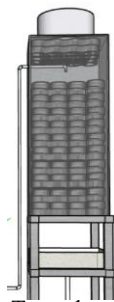


Figura 7. Torre de enfriamiento

El sistema hidráulico, ilustrado en la Figura 8, incluye una bomba de agua, esencial para fluir el agua fría desde la pileta hacia la montera, y una tubería de alimentación, que conduce el agua caliente hacia un inyector Venturi conectado al tubo de salida de agua caliente, acelerando su velocidad para enviarla rápidamente a la torre de enfriamiento.

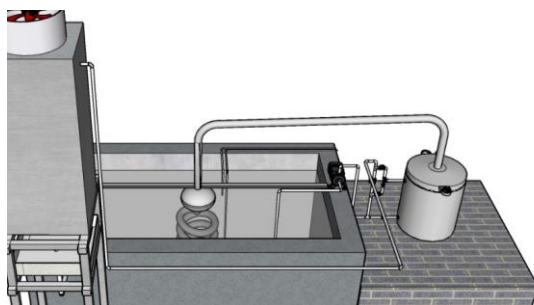


Figura 8. Bomba y circuito de recirculación de agua

En la siguiente figura 9, muestra la ubicación de los sensores de temperatura PT100 en el equipo de destilación. Los sensores S₂, S₃, S₄ se localizan en la montera y el sensor S₁ justo en la entrada del tubo de condensación y el sensor S₅ en la salida del tubo de condensación antes del plato de serpentín.

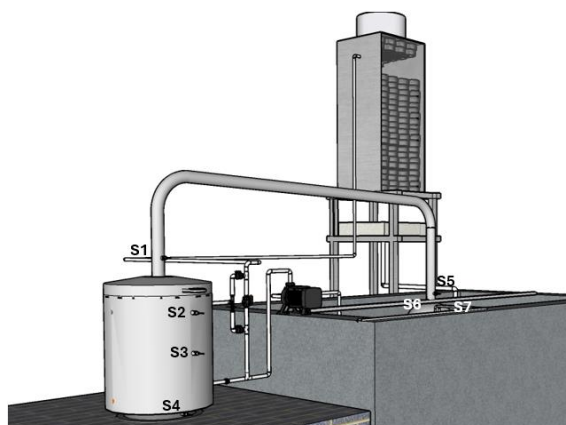


Figura 9. Sensores de temperatura PT100

La disposición de los sensores de temperatura DS18B20 se ilustra en la Figura 10: el sensor S₆ está sumergido en la superficie del agua dentro de la pileta, el S₇ se encuentra en el fondo de la pileta, cerca del nivel de salida del tubo del serpentín, y el sensor S₈ está ubicado en el garrafón colector de mezcal.

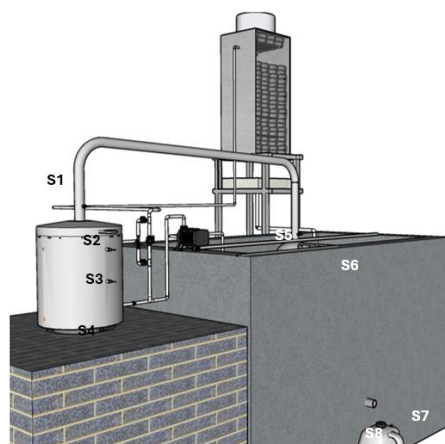


Figura 10. Sensores de temperatura DS18B20

Control y medición de temperatura en el sistema.

Este sistema utiliza sensores PT100 debido a su alta resistencia a la temperatura, para detectar incrementos en la temperatura interna de la montera que esté fuera del rango óptimo de 85 a 90°C. En respuesta a esta detección, se activa una bomba que dirige y controlará el flujo del agua fría desde la piletta hacia la montera, mientras que el agua caliente presente en la montera se conduce hacia una torre de enfriamiento. Esta torre devuelve agua enfriada a la piletta, asegurando así una recirculación del agua y el mantenimiento de la temperatura deseada en la montera. Los sensores DS18B20 S5, S6, S7 y S8 desempeñan un papel importante al medir las temperaturas de condensación y del agua de enfriamiento en la piletta.

Construcción de la montera del alambique con nuevos aditamentos

En la Figura 11 se muestra la montera con una tapa, diseñada para mejorar el control de la temperatura durante la destilación. Además, se ha acondicionado para incorporar sensores que permitirán monitorear las temperaturas del agua de refrescado, dándole así un mayor control del proceso.



Figura 11. Montera con nuevos aditamentos y adaptación para los sensores de temperatura.



Conclusiones

Con los resultados obtenidos hasta el momento del monitoreo de las temperaturas en diferentes puntos del destilador artesanal de mezcal en campo, así como la construcción del modelo preliminar en 3D con las nuevas implementaciones y los nuevos aditamentos en la montera, se puede avanzar a la siguiente fase del proyecto: la construcción del sistema de control en campo y después poder analizar directamente la eficiencia del proceso de destilación en condiciones reales, evaluando cómo las propuestas de mejora podrán optimizar el uso del agua y la energía, y cómo impactan la calidad y estabilidad del proceso artesanal de mezcal.

Literatura Citada

- Caballero, M., Montes, J.L., y Silva, M. E. (2013). Innovación de un molino de agave cocido para la producción de mezcal. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*. ISSN-1010-2760, RNPS-0111.
- Caballero, M., Silva, L., y Montes, J.L. (2012). Diseño de un sistema de recirculación y enfriamiento del agua para la destilación del mezcal. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. Pub. Esp. Núm. 4, p. 774-784.
- Durán, M. H.; J.L. Pulido. (2007) “Análisis de la molienda en el proceso de elaboración de mezcal”, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México, *Información Tecnológica*, 18(1): 47-52.
- García, A. j., Jaramillo, J. L., Vargas, S., Bustamante, A., y Barrera, A. (2018). Tipología De Las Unidades De Producción De Mezcal Artesanal Del Distrito De Tlacolula, Oaxaca, México. *Agro Productividad*, 11(12), 71–77. <https://doi.org/10.32854/agrop.v11i12.1309>
- Marín, C. R. (2022). Análisis térmico de un destilador simple en el proceso de producción de mezcal tipo artesanal [Tesis de maestría, Universidad Autónoma Chapingo]. <https://repositorio.chapingo.edu.mx/>
- Pérez H. J. (2018). Construcción y Automatización de un equipo de destilación en el laboratorio de Ingeniería química del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. [Informe técnico de residencia profesional, Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez] <http://repositorio.digital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/handle/123456789/2903>



Identificación por RMN de fracciones enriquecidas en ciclopéptidos obtenidas de las semillas de *Annona diversifolia* Saff.

Ulises Murrieta-Dionicio^{1*}; Benito Reyes-Trejo¹; Holber Zuleta-Prada¹; Diana Guerra-Ramírez¹

Mesa: 4 Química.

Resumen

Los ciclopéptidos son péptidos de carácter cíclico unidos de cabeza a cola, tienen relevancia por presentar ventajas en cuanto a una mayor resistencia a la degradación enzimática, rigidez estructural, o estabilidad *in vivo*, respecto a péptidos lineales o proteínas. Los ciclopéptidos pueden obtenerse a partir de un origen animal, bacteriano, fúngico y vegetal. Dentro del reino vegetal se destacan a las especies del género *Annona* de las cuales se cuenta con evidencia a partir de estudios fitoquímicos de sus semillas para la obtención de ciclopéptidos y otro tipo de metabolitos secundarios. En México es posible contar con la existencia de especies nativas de este género. Tal es el caso de *A. diversifolia* Saff., la cual carece de estudios encaminados para la obtención de moléculas de tipo peptídico a partir de sus semillas que son producto de desecho. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue la obtención e identificación de fracciones enriquecidas en ciclopéptidos (FECs) a partir de semillas de *A. diversifolia* Saff., mediante técnicas cromatográficas y análisis por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) para la obtención y elucidación de nuevas estructuras ciclopeptídicas. Los resultados arrojaron dos nuevas FECs a partir de la partición de AcOEt del extracto hidroetanólico de semillas de *A. diversifolia* Saff. Se identificó a la partición de AcOEt como una fuente adicional al fraccionamiento con BuOH para la obtención de ciclopéptidos.

Palabras clave: *Annona diversifolia* Saff, ciclopéptidos, RMN.

Abstract

Cyclopeptides are peptides of cyclic character linked head to tail, they are relevant because they have advantages in terms of greater resistance to enzymatic degradation, structural rigidity, or *in vivo* stability, with respect to linear peptides or proteins. Cyclopeptides can be obtained from animal, bacterial, fungal and plant origin. Within the plant kingdom is highlight the species of the *Annona* genus for which there is evidence from phytochemical studies of their seeds to obtain cyclopeptides and other types of secondary metabolites. In Mexico it is possible to count on the

^{1*} Laboratorio de Productos Naturales, Área de Química Depto. de Preparatoria Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México, C.P. 56230. E. mail: murrieta.dionicio.091293@gmail.com.



existence of native species of this genus. Such is the case of *A. diversifolia* Saff. which lacks studies aimed at obtaining peptide-type molecules from its seeds, which are a waste product. Therefore, the objective of this work was to obtain and identify cyclopeptide-enriched fractions (CEFs) from seeds of *A. diversifolia* Saff. by chromatographic techniques and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) analysis to obtain and elucidate new cyclopeptide structures. The results yielded two new CEFs from the AcOEt partition of the hydroethanolic extract of *A. diversifolia* Saff. seeds. The AcOEt partition was identified as an additional source to BuOH fractionation for obtaining cyclopeptides.

Keywords: *Annona diversifolia* Saff, cyclopeptides, NMR.

Introducción

Los ciclopeptidos (orbitidos) son péptidos sintetizados ribosómicamente de carácter cíclico unidos de cabeza a cola, que carecen de enlaces disulfuro. Se conforman de 5 a 16 residuos de aminoácidos. Dentro de la secuencia del anillo resaltan en mayor medida la presencia de glicinas y prolínas (Figura 1) como aminoácidos clave en su mecanismo de macrociclización (Chekan et al., 2024).

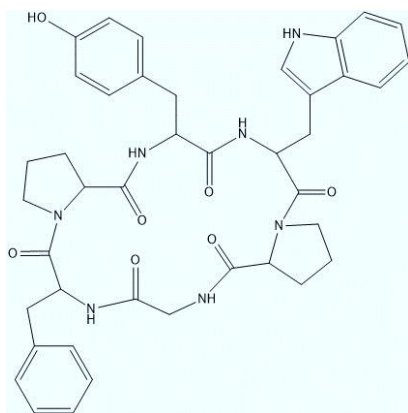


Figura 1. Estructura de un ciclopeptido (orbitido) Drymariamida A obtenido de *Drymaria cordata* (Zhang et al., 2024).



Los ciclopeptidos resultan de interés por sus bio-propiedades como anti-proliferativos contra células cancerígenas, antimicrobianos, antihelmínticos entre otras. Estudios en el género *Annona* han demostrado la presencia de ciclopeptidos con una gran diversidad de tamaños y modificaciones que por efecto ofrecen una amplia variabilidad en sus potenciales actividades biológicas (Dahiya & Dahiya, 2021). Partiendo del grupo de especies nativas del género *Annona* en México se tiene a *A. diversifolia* Saff conocida con nombres locales como “ilama” o “papauce” (Valdés et al., 2020). Dicha especie no cuenta con estudios fitoquímicos encaminados a la obtención de ciclopeptidos a partir de las semillas no comestibles las cuales se encuentran subutilizadas y son consideradas un subproducto de desecho y de los extractos obtenidos por disolventes orgánicos y sometidos a recromatografías sucesivas se obtuvieron fracciones enriquecidas en ciclopeptidos (FECs), que podrán aportar estructuras novedosas. Por lo que el objetivo de este trabajo fue la identificación de FECs, mediante el uso de técnicas cromatográficas y RMN para la obtención de nuevas estructuras ciclopeptídicas.

Antecedentes

Debido a que no forma parte de la dieta habitual, el uso de las semillas no representa un problema ético. En México los frutos de esta anonácea se utilizan principalmente como alimento: su pulpa se consume cruda o en jugo como bebida refrescante, también se emplea como remedio para la fiebre y la gripe, el extracto de la semilla se llega a utilizar como insecticida, sin embargo, la mayoría de las semillas se desechan. Diversas partes de la planta de esta especie han sido objeto de investigaciones previas, por ejemplo, se ha descrito el contenido de alcaloides en las hojas y ramas de *A. purpurea* recolectadas en Puerto Rico (Sonnet y Jacobs, 1971). En otros estudios sobre anonáceas Wu et al., (2000), reportan los alcaloides: promucosina, romucosina F, y romucosina G obtenidos de las ramas y de las semillas se ha obtenido el perfil de lípidos y flavonoides (Pérez et al, 1997), a partir de las semillas de frutos de la *A. purpurea* procedentes de México (Chávez y Mata, 1998), se obtuvieron las nuevas acetogeninas nombradas como Purpurediolina y Purpurenina, además de otras conocidas como purpuracena, bulatacena, esquamocina, motrilina, anoglaucina, xilomatenina y anonacina A. Respecto a los ciclopeptidos aislados de otras anonáceas, se ha descrito una investigación del estudio de *A. globiflora*, de la que se aislaron dos metabolitos conteniendo metionina como sulfóxidos metilados en este aminoácido no esencial. En sus espectros de RMN-¹H fue posible remarcar la mayor diferencia en cuanto al desplazamiento del grupo metilo de la MetO en 2.30 ppm para la Squamina C y 2.51 ppm para la Squamina D, cuyas estructuras se muestran en la Figura 2 (Sosa-Rueda et al., 2022).

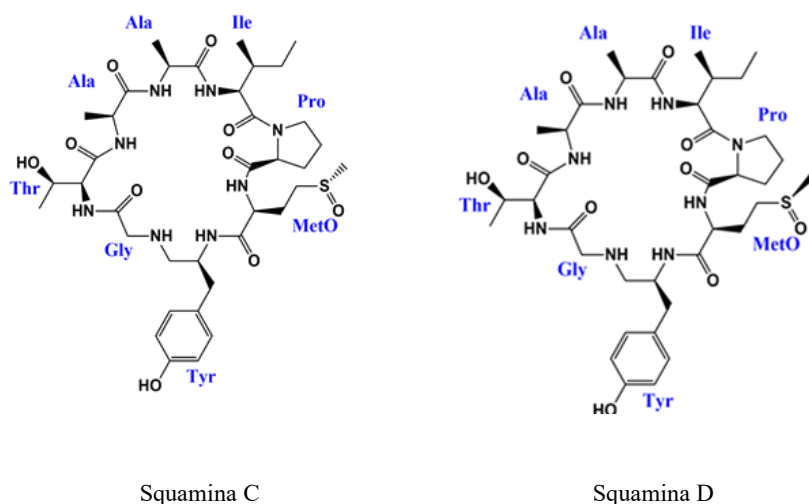


Figura 2. Estructuras moleculares de los ciclopéptidos aislados de *A. globiflora*

Por otro lado, otro ciclopéptido aislado de uno de los frutos más conocidos como la chirimoya es el cherimolaciclopéptido D presente en *A. cherimolla*, cuya estructura molecular se muestra en la Figura 3 (Wélé et al, 2005).

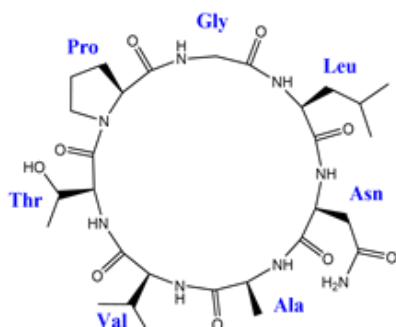


Figura 3. Estructura molecular del cherimolaciclopéptido D aislado de *A. cherimolla*.



Material y Métodos

Material vegetal: Se adquirieron frutos de *A. diversifolia* Saff., en el mercado municipal de Tejupilco, Estado de México, México (18° 53' 58" N y 100° 09' 01"), en octubre de 2019. Los frutos fueron seleccionados en estado de madurez fisiológica.

Pre-tratamiento de material vegetal: Las semillas se separaron del fruto y se lavaron con agua corriente con el propósito de eliminar residuos de pulpa. Posteriormente, se secaron a temperatura ambiente por dos semanas. Las almendras (endospermo) fueron separadas del endocarpio coriáceo con ayuda de unas pinzas mecánicas y subsiguientemente se trituraron en un procesador de alimentos (NutriBullet®, NBR-0804B, Los Ángeles, CA, E.U.A.).

Obtención de extractos: Una muestra de 3 kg de material vegetal triturado se colocó en maceración utilizando disolventes de menor a mayor polaridad: Hexano, MeOH y una mezcla de H₂O-EtOH (1:1, v/v). Se utilizaron 3 L de cada disolvente por tres días de reposo y tres ciclos de extracción. Entre cada ciclo de maceración se decantó y filtró para recuperar el disolvente del material vegetal. El disolvente se recuperó por evaporación a presión reducida utilizando un evaporador rotatorio (Büchi® Rotavapor R-300, Suiza), cada disolvente recuperado se reincorporó nuevamente al material vegetal hasta completar tres extracciones por disolvente.

Detección y Aislamiento de ciclopéptidos: El extracto hidroetanólico se sometió a un proceso de extracción líquido-líquido utilizando hexano, CH₂Cl₂, AcOEt, n-BuOH y agua (3 × 0.5 L, 1:1). Cada una de las particiones se monitorearon para detección de ciclopéptidos por cromatografía en capa delgada, utilizando como método de revelado Cl₂/o-tolidina (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, E.U.A.) (Greig & Leaback, 1960). Las particiones de AcOEt y BuOH positivas a la reacción con o-tolidina se llevaron a un sistema de purificación Isolera™ One Biotage® (Biotage, Uppsala, Suecia) (Choub et al., 2021). Las fracciones obtenidas se llevaron a un sistema en extracción en fase sólida (Fisher et al., 2020). En el caso de las FECs de la partición de BuOH se llevaron a un sistema de inyección Waters HPLC (Milford, MA, E.U.A.) (Rivera-Chávez et al., 2019).

Análisis de RMN: Los compuestos puros y/o FECs se analizaron en espectrómetros Agilent 400-MR DD2 (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, E.U.A.) y Bruker ASCEND-700 (Bruker BioSpin, Billerica, MA, E.U.A.). Se adquirieron espectros de ¹H y ¹³C en acetona-d₆ (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, E.U.A.) a 298 K. Los datos de RMN se procesaron y analizaron con el software MestreNova 14.2.0 (Mestrelab Research SL, E.U.A.).

Resultados y discusión

La Figura 4 muestra espectros de RMN-¹H de tres ciclopéptidos (**a-c**) aislados y elucidados previamente de la partición de BuOH (Murrieta-Dionicio et al., 2023). Por otra parte, las FECs F1 y F2 se obtuvieron a partir de una partición de AcOEt que no había sido estudiada previamente. Los espectros **d** y **e** en la región de las 6.5 a 9.5 ppm muestran señales características de grupos -NH de enlaces peptídicos. Para la FEC1 (**d**) se distingue la presencia de al menos dos ciclopéptidos. El compuesto en mayor proporción guarda cierta similitud a los desplazamientos detectados en el cherimolaciclopéptido D. No obstante, la FEC1 carece de los desplazamientos (7.03 y 7.66 ppm) -NH₂ observados para el caso de la Asn en el cherimolaciclopéptido D. Por otra parte, la FEC2 presenta una región aromática entre las 6.5 a 7.2 ppm y un desplazamiento después de las 9.0 ppm similar a las detectadas en las Squaminas C y D. No obstante, en el caso de la FEC2 carece de la señal (2.45 ó 2.65 ppm) del -CH₃ de la Met(O) presente en las estructuras de las Squaminas C y D.

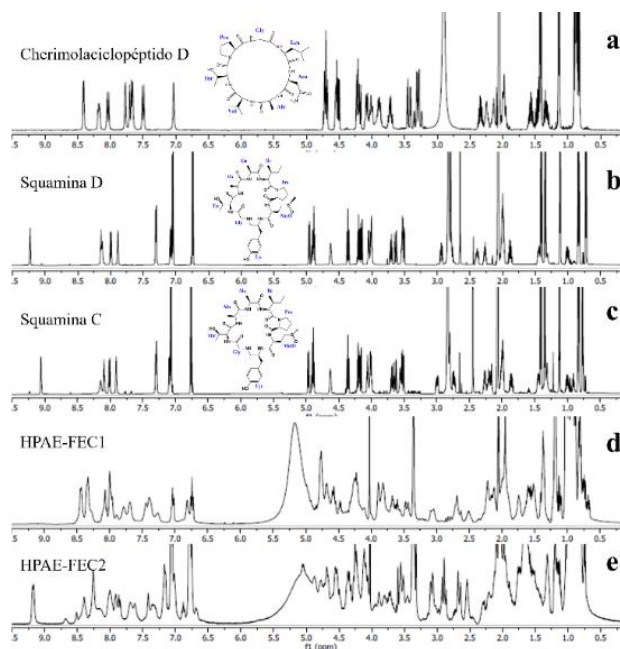


Figura 4. Espectros de RMN-¹H de ciclopéptidos (**a-c**, acetona-*d*₆, 700 MHz, TMS) y FECs (**d** y **e**, acetona-*d*₆, 400 MHz, TMS).

Por otro lado, los espectros de RMN- ^{13}C (Figuras 5 y 6) muestran en sus expansiones de 169.0–176.0 ppm señales pertenecientes a grupos carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) de residuos de aminoácidos que conforman a los ciclopéptidos. Con respecto a las expansiones entre las 40.0–70.0 ppm se localizan señales características para los C_α a los grupos carbonilo. Por su parte, la región alifática se observa en ambos espectros entre las 10.0–30.0 ppm. En el caso de la FEC2 (Figura 4) se corrobora la presencia de al menos un anillo aromático, al observarse señales características entre las 105.0–135.0 ppm.

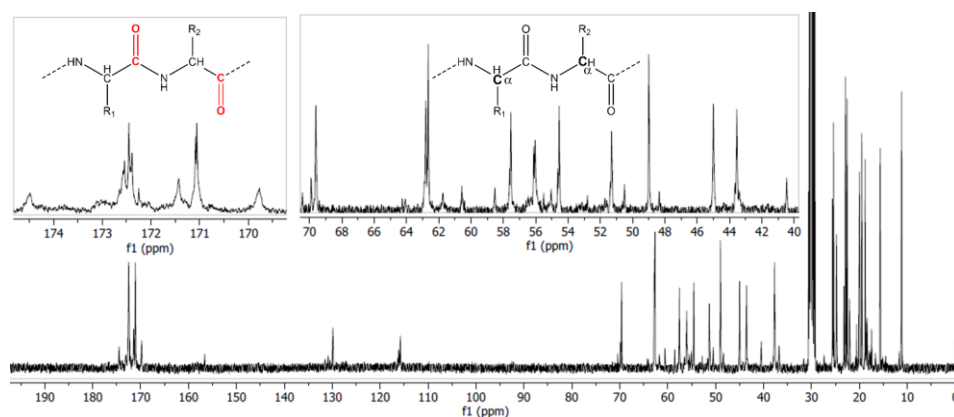


Figura 5. Espectro de RMN- ^{13}C y expansiones de la FEC1(d) (acetona- d_6 , 100 MHz, TMS).

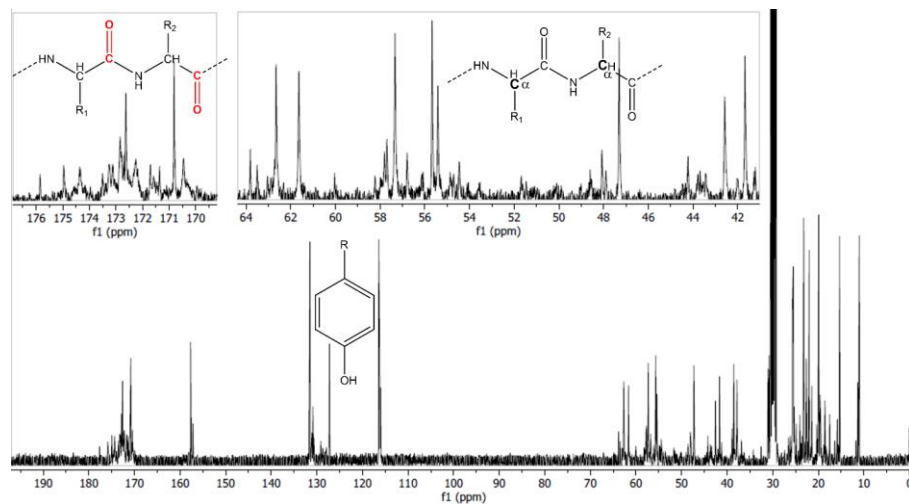


Figura 6. Espectro de RMN- ^{13}C y expansiones de la FEC2(e) (acetona- d_6 , 100 MHz, TMS).



Conclusiones

Se obtuvieron dos nuevas fracciones enriquecidas en ciclopéptidos a partir de la partición de AcOEt del extracto hidroetanólico. La fracción FEC1 ofrece una mezcla de al menos dos ciclopéptidos, en el que el de mayor proporción posee una estructura mayormente alifática. Por otra parte, la FEC2 presenta una mezcla de al menos tres ciclopéptidos, con una marcada región aromática para el ciclopéptido en mayor proporción. Se identificó a la partición de AcOEt como una fuente extra para la obtención de ciclopéptidos diferentes a los ya elucidados en *A. diversifolia* Saff.

Literatura Citada

- Chávez, D., & Mata R. (1998) Purpurediolin and Purpurenin, Two New Cytotoxic Adjacent Bis-tetrahydrofuran Annonaceous from the seeds of *Annona purpurea*. *J. Nat. Prod.*, 61,580.
- Chekan, J. R., Mydy, L. S., Pasquale, M. A., & Kersten, R. D. (2024). Plant peptides—redefining an area of ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides. *Natural Product Reports*.
- Choub, V., Maung, C. E. H., Won, S. J., Moon, J. H., Kim, K. Y., Han, Y. S., & Ahn, Y. S. (2021). Antifungal activity of cyclic tetrapeptide from *Bacillus velezensis* CE 100 against plant pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. *Pathogens*, 10(2), 209.
- Dahiya, R., & Dahiya, S. (2021). Natural bioeffective cyclooligopeptides from plant seeds of *Annona* genus. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 214, 113221.
- Fisher, M. F., Zhang, J., Berkowitz, O., Whelan, J., & Mylne, J. S. (2020). Cyclic peptides in seed of *Annona muricata* are ribosomally synthesized. *Journal of natural products*, 83(4): 1167-1173.
- Greig, C. G., & Leaback, D. H. (1960). Use of chlorine in the detection of compounds on paper chromatograms. *Nature*. 188(4747), 310-311.
- Murrieta-Dionicio, U., Reyes-Trejo, B., Zuleta-Prada, Holber., Guerra-Ramírez, D., del Río-Portilla, J.F. (2023). Aislamiento y caracterización estructural de ciclopéptidos bioactivos de *Annona diversifolia*. En Suplemento Especial Revista Mexicana de Investigación en Productos Naturales 18ª RIIPN. En <https://www.amipronat.org.mx/doc/memorias18ariipn.pdf>
- Perez, M. C., Gonzalez, A., Garcia, A., Bratoeff, E., Labastida, C. (1997). Oil composition and flavonoid profiles of the seeds of three *Annona* species. *Phyton* (Buenos Aires). 61(1-2): 77-80
- Rivera-Chávez, J., Zacatenco-Abarca, J., Morales-Jiménez, J., Martínez-Avina, B., Hernández-Ortega, S., & Aguilar-Ramírez, E. (2019). Cuautepestalorin, a 7, 8-



dihydrochromene–oxoisochromane adduct bearing a hexacyclic scaffold from *Pestalotiopsis* sp. IQ-011. *Organic letters*. 21(10), 3558-3562.

Sonnet, P. E. y Jacobson, M. (1971). Tumor inhibitors II: Cytotoxic alkaloids from *Annona purpurea*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 60, 1254-1256.

Sosa-Rueda, J., Domínguez-Meléndez V., Ortiz-Celiseo, A., & Cen-Pacheco, F. (2022). Squamins C–F, four cyclopeptides from the seeds of *Annona globiflora*. *Phytochemistry*, 194, 112839.

Valdés, M., Calzada, F., Mendieta-Wejebe, J. E., Merlín-Lucas, V., Velázquez, C., & Barbosa, E. (2020). Antihyperglycemic effects of *Annona diversifolia* Safford and its acyclic terpenoids: α -glucosidase and selective SGLT1 inhibitors. *Molecules*. 25(15), 3361.

Wélé, A., Ndoye, I., Zhang, Y., Brouard, J. P., & Bodo, B. (2005) Cherimolacyclopeptide D, a novel cycloheptapeptide from the seeds of *Annona cherimola*. *Phytochemistry*. 66(6): 693-696.

Wu, Y. C., Chang F.R., Chen, C.Y., Wu, P. H., Kuo R. Y., Chang Y. C. (2000). New Alkaloids from *Annona purpurea*. *J. Nat.* 63, 746-748.

Zhang, Z. Y., Gao, X. H., Huang, Y., Fan, Y. Y., & Yue, J. M. (2024). Drymariamides A-J, Antiadipogenic Cyclopeptides Incorporating Noncanonical Amino Acids from *Drymaria cordata*. *Journal of Natural Products*. 87(5), 1441-1453. doi: 10.1021/acs.jnatprod.4c00246.



Efecto del pretratamiento con ultrasonido sobre la composición de celulosa y hemicelulosa de residuos sólidos de la producción de mezcal

Yulinali Valente Morales¹, Carlos Alberto Villaseñor Perea¹, Artemio Pérez-López², Diana Itzel López Monterrubio³, Graciela Avila Uribe⁴

Mesa 4: Química.

Resumen

El ultrasonido es un método de extracción de componentes activos de las plantas, es especialmente adecuado para extracción de polisacáridos. Este estudio tiene como propósito evaluar la eficacia del método de tratamiento alcalino asistido por ultrasonido para la extracción de celulosa y hemicelulosa a partir de residuos sólidos derivados de la producción de mezcal, particularmente de las pencas y el bagazo de maguey. Las muestras se recolectaron en la región Sierra Sur de Oaxaca, México, específicamente de las especies *Agave Angustifolia* y *Agave Karwinskii*. El proceso incluyó la preparación de las muestras y pretratamientos como desencerado y deslignificación, seguido de la extracción mediante ultrasonido. La efectividad de la extracción se evaluó mediante análisis gravimétrico para determinar los porcentajes de celulosa y hemicelulosa recuperados. La aplicación del ultrasonido durante el tratamiento alcalino mejoró la eficiencia de extracción, alcanzando rendimientos de hasta 47.23% y 38.62% para celulosa y hemicelulosa, respectivamente, en los residuos de bagazo. Los resultados indican que el ultrasonido potencia la desintegración de la matriz celular y facilita la liberación y recuperación de los polisacáridos. La técnica de extracción alcalina asistida por ultrasonido demostró ser un método prometedor para los residuos agroindustriales del agave.

Palabras clave: ultrasonido, residuos de maguey, celulosa, hemicelulosa

Abstract

Ultrasound is a method for extracting active components from plants, particularly suitable for the extraction of polysaccharides. This study aims to evaluate the efficacy of the ultrasound-assisted alkaline treatment method for the extraction of cellulose and hemicellulose from solid waste derived from mezcal production, specifically from agave leaves and bagasse. Samples were collected from the Sierra Sur region of Oaxaca, Mexico, specifically from the *Agave Angustifolia* and *Agave Karwinskii* species. The process included sample preparation and pretreatments such as dewaxing and delignification, followed by ultrasound extraction. The effectiveness of the extraction was assessed using gravimetric analysis to determine the percentages of recovered cellulose and hemicellulose. The application of ultrasound during the alkaline treatment improved extraction efficiency, achieving yields of up to 47.23% and 38.62% for cellulose and hemicellulose, respectively, in bagasse residues. The results indicate that ultrasound enhances the

¹ Universidad Autónoma Chapingo, Posgrado en Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C. P. 56230, MÉXICO. vm.yuli3@gmail.com, CVILLASENORP@chapingo.mx

² Universidad Autónoma Chapingo, Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, 56230, Texcoco, Estado de México. APEREZL@chapingo.mx

³ Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Preparatoria Agrícola, Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, 56230, Texcoco, Estado de México. ilopezmonterrubio@gmail.com

⁴ Estancia posdoctoral CONAHCYT, Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, 56230, Texcoco, Estado de México



disintegration of the cellular matrix and facilitates the release and recovery of polysaccharides. The ultrasound-assisted alkaline extraction technique proved to be a promising method for the agro-industrial residues of agave.

Keywords: Ultrasound, maguey waste, cellulose, hemicellulose

Introducción

El aprovechamiento de desechos agroindustriales para introducir productos innovadores ha experimentado un crecimiento significativo. Anteriormente, se consideraba que los desechos agrícolas e industriales se destinaban principalmente a la enmienda del suelo o la producción de forraje. Sin embargo, con el surgimiento de tecnologías innovadoras, esta perspectiva ha cambiado, permitiendo la creación de valor a partir de ellos. En la elaboración de mezcal, se generan residuos sólidos: las pencas y el bagazo. Las pencas son el primer residuo sólido que se genera, durante la recolección del maguey se lleva a cabo el desvirado, procedimiento que consiste en la eliminación de las pencas antes de cortar la piña. El bagazo es el residuo sólido resultante de la fermentación y destilación del maguey, constituida de fibras húmedas compuestas por celulosa, hemicelulosa y lignina (Singh et al., 2023; Pérez, 2021).

La biomasa lignocelulósica producida a partir de desechos agrícolas ha sido el principal foco de atención, ya que es una de las materias primas más abundantes disponibles, compuesta principalmente de celulosa, lignina y hemicelulosa (Ong et al., 2021). En este contexto, la tecnología ultrasónica ha atraído cada vez más atención por su alta eficiencia, bajo consumo de energía y su bajo impacto ambiental. Durante la extracción asistida por ultrasonidos, las ondas ultrasónicas generan vibraciones de alta frecuencia, que además producen efectos de cavitación acústica entre el soluto y el solvente, lo que hace que pequeñas burbujas en la solución exploten repentinamente, destruyendo así la estructura de la pared celular y luego separando los componentes (Lu et al., 2021). Además, estudios recientes han demostrado que la combinación de ultrasonido con tratamientos químicos, como soluciones alcalinas, incrementa notablemente el rendimiento en la extracción de polisacáridos como la celulosa y la hemicelulosa, optimizando así los procesos de valorización de residuos agroindustriales (Li et al., 2019; Nguyen et al., 2022).

Este estudio explora la extracción de celulosa y hemicelulosa a partir de residuos de la producción de mezcal, específicamente pencas de *Agave angustifolia* (espadín) y *Agave karwinskii* (madrecuixe), además de bagazo de maguey, utilizando un tratamiento combinado de solución alcalina y ultrasonido.

Materiales y Métodos

Recolección de materia prima y acondicionamiento

Las materias primas utilizadas en este estudio consistieron en los materiales de desecho de pencas de maguey espadín (*A. Angustifolia*) y maguey madre cuixe (*A. Karwinskii*) y así como bagazo, recolectados en el sitio de Xitlapehuac, municipio de Miahuatlán, estado de Oaxaca, cuya ubicación geográfica es latitud 16°21'09.1"N y longitud 96°32'42.2"W, 1574 msnm. Los reactivos utilizados fueron grado analítico, el ácido clorhídrico (HCl), hidróxido de potasio (KOH), clorito de sodio, tolueno y etanol fueron comprados en J.T. Baker (Xalostoc, estado de México, México). En todos los experimentos se utilizó agua desionizada. Las pencas se cortaron en trozos pequeños y secaron en una estufa con circulación de aire (Riossa Digital HCF-62, Ciudad de México, México) a 70°C por 24 h, a la misma temperatura también se secó el bagazo. Posteriormente, las muestras de residuo se molieron y se tamizaron a un tamaño de partícula inferior a 250 µm.

Pretratamiento de desencerado

50 g de muestra fueron desengrasados, el material obtenido se dejó secar a 105 °C durante 12 h.

Deslignificación con solvente

5 g de muestra desengrasada se deslignificaron con clorito de sodio al 3% a pH 4.0 ± 0.01 en una relación 1:5 a 75 ± 1 °C por 2 h. Después del tratamiento, el residuo (holocelulosa) se filtró, se lavó con agua desionizada y se secó en un horno a 50 °C por 16 h.

Extracción asistida por ultrasonido

La holocelulosa se extrajo con KOH al 6% con una relación sólido-líquido 1:25 (g mL⁻¹), el ultrasonido (Ultrasound Processor, modelo VCX 130 PB 500/750 W acompañado a una sonda de acero inoxidable, Sonics and Materials, Inc, Newtown, CT, USA) se realizó en un tiempo de 30 min (ciclos de 5 min en 5 min) con una amplitud de 40%. Posteriormente la mezcla se trató con la solución restante de KOH al 6% bajo agitación continua a 55 °C durante un tiempo de 2 h. Posteriormente, se realizó el filtrado y el residuo se lavó con agua desionizada y se secaron a 60 °C por 24 h y se obtiene celulosa. Por otra parte, los filtrados obtenidos se neutralizaron (pH 5.5 ajustado con ácido clorhídrico). Las hemicelulosas solubles en álcali se recolectaron por precipitación de los filtrados concentrados con 3 volúmenes de etanol al 95% y se dejó reposar por 12 h. Las hemicelulosas precipitadas se filtraron y se lavaron con etanol al 70% y se secaron a 60 °C por 24 h.

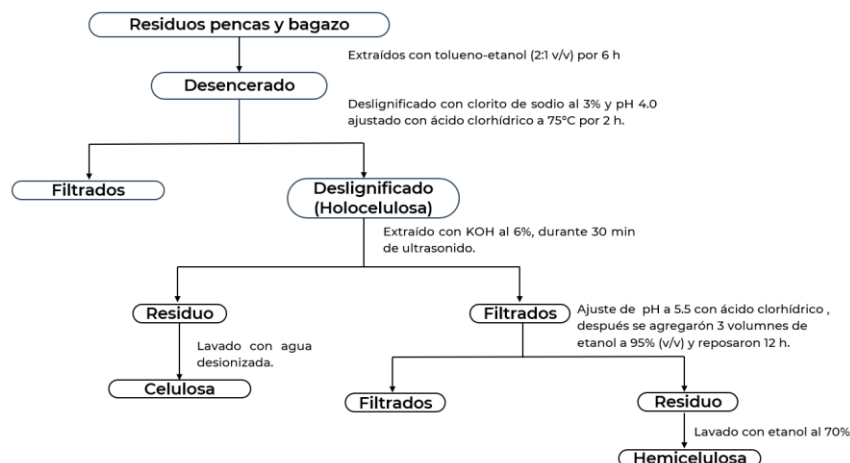


Figura 3. Esquema de extracción de biomasa lignocelulósica de los residuos tratados con ultrasonidos.

Determinación de contenido de biomasa lignocelulósica

En la determinación de contenido de celulosa y hemicelulosa se realizó por el método gravimétrico. A continuación, se presentan las ecuaciones para la cuantificación de los componentes.

$$\% \text{ holocelulosa} = \frac{\text{Peso seco de holocelulosa (g)}}{\text{Peso seco de la muestra (g)}} \times 100 \quad (1)$$

$$\% \text{ celulosa} = \frac{\text{Peso seco del residuo (g)}}{\text{Peso seco de la muestra (g)}} \times 100 \quad (2)$$

$$\% \text{ hemicelulosa} = \% \text{ holocelulosa} - \% \text{ celulosa} \quad (3)$$



Análisis microscópico

Las observaciones se realizaron con un microscopio óptico (Olympus BX53, Olympus Optical Co., Tokio, Japón) acoplado a una cámara AxioCam ERc 5 s (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Oberkochen, Alemania). Cada muestra se suspendió en agua destilada antes de las observaciones.

Resultados y discusión

Composición de celulosa y hemicelulosa de los residuos solidos

Los resultados presentados en la Tabla 1 corresponden a la caracterización de la materia prima que fue obtenida después del método de extracción alcalina asistida por ultrasonido. El bagazo presento mayor porcentaje de holocelulosa con un valor promedio de 85.98%, significativamente mayor que el encontrado en las pencas *A. Angustifolia*, *A. Karwinskii*, que mostraron 48.16% y 37.43% respectivamente, estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$). No se encontraron diferencias significativas en el contenido de celulosa entre el bagazo y la penca de *A. Angustifolia*. Sin embargo, las pencas de *A. Karwinskii* presentaron una concentración menor (34.88%) diferenciándose significativamente de las otras dos muestras. El contenido de hemicelulosa en el bagazo es alto (38.62%), mientras que las pencas de *A. Angustifolia*, *A. Karwinskii* mostraron concentraciones considerablemente más bajas (3.07% y 2.55%), indicando también diferencias significativas. Martínez et al. (2013) reporta un contenido de celulosa del 44.85 % y hemicelulosa 8.83 % cuando el residuo de bagazo lleva 90 días apilado. Por su parte, Ortiz Tovar et al., (2007) reporta un contenido del 34.99 % y 4.58 % de celulosa y hemicelulosa, respectivamente, ambos siguiendo la metodología de Van Soest et al., (1991), reportaron contenidos más bajos de celulosa y hemicelulosa en comparación con los obtenidos en este estudio bajo el pretratamiento alcalino asistido por ultrasonido. Se puede observar que hay un mayor aumento en el contenido de hemicelulosa utilizando este método, esto puede deberse a que la aplicación de la asistencia ultrasónica es eficaz para la extracción alcalina de hemicelulosa. El pretratamiento ultrasónico provoca la ruptura del enlace glicosídico del polisacárido, lo que mejora significativamente su extracción el rendimiento de la hemicelulosa extraída con baja temperatura y en poco tiempo (Lu et al., 2021).

Tabla 2. Caracterización de la materia prima en holocelulosa, celulosa y hemicelulosa

Muestras	% Holocelulosa	% Celulosa	% Hemicelulosa
Bagazo	85.98 ± 2.50 ^A	47.23 ± 4.20 ^A	38.62 ± 6.42 ^A
Pencas Agave Agustifolia Haw	48.16 ± 1.50 ^B	45.09 ± 1.75 ^A	3.07 ± 0.45 ^B
Pencas Agave Karwinskii	37.43 ± 4.04 ^C	34.88 ± 3.93 ^B	2.55 ± 0.12 ^B

Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$). Los resultados son los valores promedio de las muestras por triplicado y su desviación estándar

Las pencas de maguey constituyen residuos agrícolas del cultivo a pesar de su alto contenido de azúcares totales y a los grandes volúmenes que anualmente se generan. Las pencas representan del 45 al 50 % del peso total de la planta (López-Aguirre et al., 2016). Las pencas de *A. Angustifolia* obtuvieron un porcentaje de 45.09 % de celulosa y 3.07 % de hemicelulosa, en lo que respecta a las pencas de *A. Karwinskii* presentaron 34.88 % y 2.55 % de celulosa y hemicelulosa respectivamente. Existen pocos trabajos que reporten el contenido de material lignocelulósico de las pencas de estas variedades. Flores-Gómez et al., (2018) y Pérez-Pimienta et al., (2016) mencionan que las pencas de Agave Salmiana están compuestas de 20.7 % de celulosa y 3.7 % de hemicelulosa. Es importante resaltar que la composición de las pencas de agave de diferentes especies es heterogénea. Las hojas presentan una estructura compuesta con una matriz

orgánica y un refuerzo compuesto por microfibras de celulosa. La matriz orgánica está compuesta por hemicelulosa, materia pécica, lignina y gomas, mientras que las fibras de refuerzo son principalmente celulosas (Chaabouni et al., 2006). Lo cual nos indica que tiene una mayor proporción de celulosa en comparación con la hemicelulosa. La extracción ultrasónica se distingue por su eficacia, sencillez y seguridad, minimiza el tiempo y el consumo de disolvente, especialmente adecuados para la extracción de polisacáridos (Wei & Zhang, 2023).

En ambas variedades de pencas se puede observar un mayor porcentaje de celulosa, esto puede deberse a que el método de extracción asistida por ultrasonido puede ser más eficaz para romper enlaces y liberar celulosa en comparación con hemicelulosa en las pencas de agave. La mayor presencia de celulosa puede ser atribuida a la facilidad con la que este compuesto se libera bajo las condiciones de ultrasonido (Lu et al., 2021).

Análisis microscópico

En la Figura 2 se muestran imágenes obtenidas mediante microscopia óptica. Las imágenes A2, B2 y C2 ilustran fibras de celulosa en forma de varilla no aglomerada, esta característica también es visible en la fibra de hemicelulosa en la imagen C1. En A2 y B2, las fibrillas no están desintegradas y muestran desfibrilación y adelgazamiento, esto también se observa en C2.

En contraste, las fibras de hemicelulosa de las imágenes A1 y B1 son más pequeñas en comparación con la fibra de la imagen C1. Además, se observa que las fibras están más aglomeradas en algunas áreas, mientras que en otros están separados. Esto sugiere una mayor desfibrilación de las fibras de las imágenes A1 y B2.

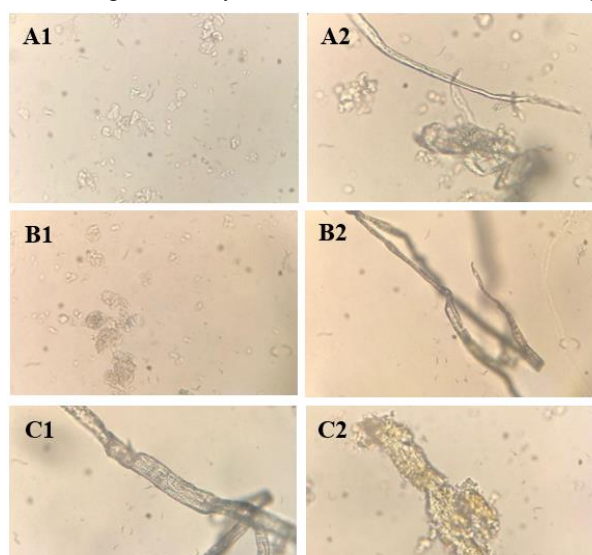


Figura 4. Imágenes obtenidas mediante microscopio óptico. A1, B1 y C1 Hemicelulosa de pencas de *A. Angustifolia*, penca de *A. Karwinskii* y bagazo. A2, B2 y C2 Celulosa de pencas de *A. Angustifolia*, penca de *A. Karwinskii* y bagazo.

Conclusión

El tratamiento alcalino asistido por ultrasonido demostró ser un método prometedor para la extracción de celulosa y hemicelulosa de los residuos de pencas y bagazo de maguey. Los resultados obtenidos mostraron



que el método proporciona una mayor liberación de estos polisacáridos con un rendimiento del 47.23% de celulosa y 38.62 de hemicelulosa en el bagazo. La microscopia óptica reveló desfibrilación y adelgazamiento de las fibras, lo que indica una eliminación eficiente de los componentes no celulósicos. La valorización de estos residuos no solo ayuda a reducir el impacto ambiental, sino que también ofrece una fuente alternativa de polisacáridos que pueden ser utilizados en diversas aplicaciones industriales, potenciando así el valor agregado de la biomasa.

Literatura Citada

- Chaabouni, Y., Drean, J.-Y., Msahli, S., & Sakli, F. (2006). Morphological characterization of individual fiber of *Agave americana* L. *Textile Research Journal*, 76(5), 367. <https://doi.org/10.1177/0040517506061965>
- Flores-Gómez, C. A., Escamilla Silva, E. M., Zhong, C., Dale, B. E., Da Costa Sousa, L., & Balan, V. (2018). Conversion of lignocellulosic agave residues into liquid biofuels using an AFEX™-based biorefinery. *Biotechnology for Biofuels*, 11(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0995-6>
- Li, Y., Wei, Y., Wang, Z., & Li, G. (2019). Enhancement of lignocellulosic biomass conversion under ultrasound pretreatment: A review. *Bioresource Technology*, 292, 121926. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121926>
- López-Aguirre, A. M., López-Malo, A., Sosa-Morales, M. E., & Palou, E. (2016). Evaluación de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales encapsulados en ciclodextrinas. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(1), 241-251.
- Lu, Y., He, Q., Fan, G., Cheng, Q., & Song, G. (2021). Extraction and modification of hemicellulose from lignocellulosic biomass: A review. *Green Processing and Synthesis*. <https://doi.org/10.1515/gps-2021-0065>
- Martínez Gutiérrez, G. A., Íñiguez Covarrubias, G., Ortiz Hernández, Y. D., López-Cruz, J. Y., & Bautista Cruz, M. A. (2013). Tiempos de apilado del bagazo del maguey mezcalero y su efecto en las propiedades del compost para sustrato de tomate. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29(3), 209-216.
- Nguyen, T. H., Pham, T. T., & Duong, N. T. (2022). Combination of ultrasound and alkaline pretreatment for enhanced polysaccharide extraction from lignocellulosic biomass. *Renewable Energy*, 185, 533-542. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.12.040>
- Ong, V. Z., Wu, T. Y., Chu, K. K. L., Sun, W. Y., & Shak, K. P. Y. (2021). A combined pretreatment with ultrasound-assisted alkaline solution and aqueous deep eutectic solvent for enhancing delignification and enzymatic hydrolysis from oil palm fronds. *Industrial Crops and Products*, 160, 112974. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112974>
- Ortiz-Tovar, G.; López-Miranda, J.; Cerrillo-Soto, M. A.; Juárez-Reyes, A.; Favela-Torres, E. and Soto-Cruz, O. (2007). Effect of solid substrate fermentation on the nutritional quality of agroindustrial residues. *INCI*. 32(5):339-343
- Perez-Pimienta, J. A., Flores-Gómez, C. A., Ruiz, H. A., Sathitsuksanoh, N., Balan, V., da Costa Sousa, L., Dale, B. E., Singh, S., & Simmons, B. A. (2016). Evaluation of agave bagasse recalcitrance using AFEX™, autohydrolysis, and ionic liquid pretreatments. *Bioresource Technology*, 211, 216–223. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.103>
- Pérez, S. (2021). Residuos de agave en el proceso de producción de mezcal artesanal en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de Morelos]. Repositorio Institucional UAEM <http://riaa.uaem.mx/xmlui/bitstream/handle/20.500.12055/2316/SUPEDI01T.pdf>
- Singh, A., Dikshit, R., Singh, N. (2023). Valorization of Agro-Industrial Wastes for Biorefinery Products. In: Mathuriya, A.S., Pandit, S., Singh, N.K. (eds) *Green Technologies for Industrial Waste Remediation. Environmental Science and Engineering*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-46858-2_6



Van Soest PJ, Rober tson JB, Lewis BA. (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Symposium: *Carbohydrate, methodology, metabolism and nutritional implications in dairy cattle*. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597.

Wei, Q., & Zhang, Y. (2023). Ultrasound-assisted polysaccharide extraction from *Cercis chinensis* and properties, antioxidant activity of polysaccharide. *Ultrasonics Sonochemistry*, 96, 106422. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106422>



Análisis por infrarrojo cercano (FT-NIR) y componentes principales (PCA) de maíz morado (*Zea mays* L.) de Ixtenco, Tlaxcala

Verónica Virginia Tepixtle-Colohua^{*2}; Alma Leticia Saucedo-Yáñez³; Benito Reyes-Trejo¹

Mesa 4: Química.

Resumen

El maíz morado (*Zea mays* L.) cultivado en Ixtenco, Tlaxcala, México, es apreciado por su alto contenido en antocianinas y sus beneficios nutraceuticos. Este estudio se planteó con el objetivo de caracterizar químicamente este grano utilizando técnicas avanzadas como la espectroscopía de infrarrojo cercano por transformada de Fourier (FT-NIR) y el análisis de componentes principales (PCA). Las muestras fueron obtenidas de cocineras tradicionales de la región y analizadas para determinar su composición bromatológica y para identificar patrones químicos que permitan diferenciar su origen geográfico. Los resultados mostraron variaciones significativas en la composición de humedad, grasas, proteínas, carbohidratos y fibra entre las muestras. Específicamente, la muestra de la Sra. Juanita presentó el mayor contenido de carbohidratos (70.35%) y grasas (5.44 %), mientras que la muestra de la Sra. Sofía destacó por su contenido proteico (10.28 %). El análisis PCA permitió identificar agrupaciones claras entre las muestras según su origen, subrayando la importancia de la diversidad genética y la trazabilidad del maíz morado. En conclusión, la combinación de FT-NIR y PCA resulta eficaz para la caracterización integral del maíz morado de Ixtenco, Tlaxcala, promoviendo su conservación y valorización tanto en el ámbito científico como en el comercial.

Palabras clave: antocianinas, análisis proximal, análisis quimiométrico, perfil espectroscópico.

Abstract

Purple corn (*Zea mays* L.) cultivated in Ixtenco, Tlaxcala, Mexico, is valued for its high anthocyanin content and nutraceutical benefits. This study aimed to chemically characterize this grain using advanced techniques such as Fourier transform near-infrared spectroscopy (FT-NIR) and principal component analysis (PCA). Samples were obtained from traditional cooks in the region and analyzed to determine their bromatological composition and identify chemical patterns that differentiate their geographical origin. The results showed significant variations in moisture, fat, protein, carbohydrate, and fiber content among the samples. Specifically, the sample from Sra. Juanita had the highest carbohydrate (70.35 %) and fat content (5.44 %), while the sample from

¹Laboratorio de Productos Naturales, Área de Química, Departamento de Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. Km 38.5 Carretera México-Texcoco. 56230, Texcoco, Edo. de México, México. benijovi@yahoo.com.mx.

²Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo. Km 38.5 Carretera México-Texcoco. 56230, Texcoco, Edo. de México, México. veronica.tepixtle.03@gmail.com.

³Laboratorio Nacional de Investigación y Servicio Agroalimentario y Forestal (LANISAF), Edif. Efraím Hernández Xolocotx, Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. C.P. 56230. allesaya@yahoo.com.



Sra. Sofía stood out for its protein content (10.28 %). The PCA analysis allowed for the identification of clear groupings among the samples based on their origin, highlighting the importance of genetic diversity and traceability of purple corn. In conclusion, the combination of FT-NIR and PCA is effective for the comprehensive characterization of purple corn from Ixtenco, Tlaxcala, promoting its conservation and valorization in both scientific and commercial contexts.

Keywords: anthocyanins, proximal analysis, chemometric analysis, spectroscopic profile.

Introducción

El maíz morado (*Zea mays* L.) es una variedad de maíz cultivada en algunos estados de México, como Puebla, Tlaxcala, estado de México e Hidalgo (Medina-Hoyos et al., 2020.), que actualmente ha despertado un creciente interés debido a sus propiedades nutraceuticas y su alto contenido en antocianinas, pigmentos responsables de su color característico y conocidos por sus beneficios antioxidantes (Rachelle et al., 2014; Salinas et al., 2013). En el municipio de Ixtenco Tlaxcala este grano ha sido cultivado desde tiempos prehispánicos mediante prácticas agrícolas ancestrales siendo el maíz morado un símbolo de identidad cultural y gastronómica local que identifica su cultura otomí (Mendoza et al., 2020). Su relevancia no se limita al ámbito cultural; también posee un alto valor nutricional y potenciales beneficios para la salud, que han sido asociados con la prevención de enfermedades crónicas y la reducción de la inflamación (Lao et al., 2017).

La caracterización de este tipo de granos se ha visto enriquecida con la aplicación de técnicas analíticas avanzadas como el Análisis por Transformada de Fourier en el Infrarrojo Cercano (FT-NIR), que permite evaluar su composición bromatológica de manera no destructiva, proporcionando información detallada sobre su contenido en proteínas, lípidos, fibra y otros componentes bioactivos (Terán et al., 2017).

Asimismo, el Análisis de Componentes Principales (PCA) es una herramienta poderosa para la identificación y caracterización geográfica del maíz morado. Este método estadístico permite distinguir las diferentes variedades y orígenes geográficos del maíz basado en su perfil químico y nutricional, lo que contribuye a la trazabilidad de las variedades autóctonas en los mercados nacionales e internacionales (Flores Aguilar & Flores-Rivera, 2018).

El presente estudio se centra en la aplicación combinada de FT-NIR y PCA para la caracterización nutricional y espectroscópica que nos permita conocer la calidad alimentaria además de generar una “huella dactilar” que pueda brindar información sobre el origen geográfico del grano.

Materiales y Métodos

Material vegetal. Las muestras de grano (n=4) de maíz morado (*Zea mays* L.), fueron proporcionadas por cocineras tradicionales durante la elaboración del atole agrio en municipio de Ixtenco, Tlax., durante el periodo de julio-diciembre de 2023. Las muestras fueron sometidas a diferentes tratamientos de secado tradicional de la región. Adicionalmente para realizar la comparación en el análisis de componentes principales entre granos se obtuvo muestras de grano azul de Texcoco de mora, Méx. y de Huejotzingo, Puebla.



Preparación de la muestra. Las muestras se molieron en un procesador de alimentos de la marca Nutribullet, hasta obtener un total de 150 gr de harina fina (Figura 1).

El análisis proximal (bromatológico). Fue determinado en el Laboratorio Nacional de Investigación y Servicio Agroalimentario y Forestal (LANISAF), en un espectrómetro FT-NIR marca Bruker, modelo: MPA (Figura 1), en donde por una técnica de infrarrojo cercano (NIR) de la muestra procesado con un algoritmo matemático se determinar la composición porcentual del contenido de humedad, grasas, proteína, fibra, ceniza y almidón, el valor de los carbohidratos totales de determino por diferencia porcentual. Las condiciones de adquisición de espectro (por triplicado): ventana espectral de $3500\text{-}11500\text{ cm}^{-1}$, detector de esfera integradora rotatoria, registro en modo absorbancia, 64 barridos, resolución 16 Hz, copa de cuarzo de 10 cm de diámetro, temperatura y presión ambiental.



Figura 5. Grano de maíz morado, procesador marca : Nutribullet, 150 gr de Harina fina, espectrómetro FT-infrarrojo cercano (NIR) marca Bruker, modelo: MPA

Análisis estadísticos. Para analizar estadístico se usó el programa Infostat software estadístico (<https://www.infostat.com.ar/>), utilizando estadísticos descriptivos que incluyen la media y la desviación estándar. Además, se llevó a cabo un Análisis de Varianza (ANOVA) para determinar las diferencias significativas entre los grupos, seguida de una prueba de comparación Tukey, con un nivel de confianza del 95%, es decir, $\alpha=0.05$. El análisis de componentes principales (PCA) se realizó con los datos de los espectros de FT-NIR de cada muestra ($4000\text{ a }11000\text{ cm}^{-1}$) en la plataforma; MetaboAnalyst (<https://www.metaboanalyst.ca>).

Resultados y discusión

Análisis proximal

Los resultados del análisis proximal se muestran a continuación (Cuadro 1), en la cual se observa el valor de cada parámetro y las diferencias significativas en la composición bromatológica de las muestras de maíz morado, en ella se aprecia que las muestras provenientes de la Sra. Ángeles y de la Sra. Dolores presentan los valores de humedad más altos (15.89 % y 15.68 %, respectivamente) mientras que la muestra de la señora Juanita tiene el valor de humedad más bajo (10.19 %), lo que sugiere que este maíz podría ser más estable y tener una mayor vida útil, ya que la humedad más baja reduce el riesgo de deterioro microbiano.



Cuadro 3. Análisis Proximal de maíz morado en Ixtenco, Tlaxcala

Muestra	Variables					
	Humedad (%)	Cenizas (%)	Grasas (%)	Proteínas (%)	Carbohidratos (%)	Fibra (%)
DOLORES	15.68 ± 0.08 a	1.42 ± 0.003 c	4.83 ± 0.03 b	7.48 ± 0.01 d	67.72 ± 0.18 b	2.87 ± 0.02 b
SOFIA	14.69 ± 0.26 b	1.69 ± 0.02 a	4.88 ± 0.10 b	10.28 ± 0.05 a	65.54 ± 0.11 c	2.92 ± 0.01 b
ANGELES	15.89 ± 0.11 a	1.62 ± 0.03 b	4.55 ± 0.08 c	9.77 ± 0.11 b	65.38 ± 0.12 c	2.79 ± 0.12 b
JUANITA	10.19 ± 0.10 c	1.72 ± 0.01 a	5.44 ± 0.02 a	9.19 ± 0.06 c	70.35 ± 0.27 a	3.11 ± 0.03 a

Media ± desviación estándar. Medias que no comparten letra son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha = 0.05$).

En los resultados relacionados con el contenido de grasas la muestra de la Sra. Juanita destaca con el mayor contenido graso (5.44%), lo que podría estar relacionado con un mayor aporte energético y potenciales aplicaciones en productos que requieren un mayor contenido de lípidos. Mientras que la muestra de la Sra. Ángeles tiene el menor contenido graso (4.55 %), lo que podría hacerla más adecuada para dietas que requieren bajo consumo de grasas.

En cuanto al contenido proteico, los resultados de la Sra. Sofia presenta el mayor contenido proteico (10.28 %), lo cual es significativamente superior a las otras localidades, indicando un maíz potencialmente más nutritivo y adecuado para la producción de alimentos ricos en proteínas.

El contenido de carbohidratos mas alto lo obtuvo la muestra de la Sra. Juanita (70.35%), lo que podría hacerla más adecuada para usos que requieren un mayor contenido energético o para la producción de harinas. Mientras las muestras de la Sra. Ángeles y la Sra. Sofia tienen los valores más bajos de carbohidratos (65.38 % y 65.54 % respectivamente).

En cuanto al contenido de fibra los resultados de la Sra. Juanita presentan el mayor contenido de fibra (3.11 %), lo que es beneficioso desde el punto de vista de la salud digestiva y podría hacer este maíz más atractivo para productos enfocados en la salud.

En general los resultados obtenidos de las variables evaluadas del maíz morado son similares entre si tal como lo reporta Mex-Álvarez et al, 2016; humedad (10.43 %), grasas (4.07 %), proteínas (6.76 %) carbohidratos (74.30 %) y fibra (3.32 %) otros autores como Valle et. al., (2019), también lo confirman.

Méndez et al., 2016, realizo un estudio donde se centró en la caracterización fisicoquímica de variedades nativas de maíz morado en diferentes regiones de México. Se encontró que los valores de humedad oscilaban entre el 11% y el 14%, similar al rango encontrado en las muestras Juanita y Sofia. El contenido de proteínas variaba entre 8% y 10%, lo cual es comparable a los valores reportados en las muestras Dolores (7.48%) y Sofia (10.28%). En cuanto al contenido de grasas, se observó un rango de 4.2% a 5.6%, muy alineado con los valores obtenidos.

El objetivo principal del análisis proximal es determinar el porcentaje de macronutrientes o componentes mayoritarios de un alimento, con el fin de describir las características de la variedad y del tipo de la especie estudiada. Las características fisicoquímicas del recurso vegetal varían debido a la influencia de factores genéticos, climáticos y edafológicos (Romo et al, 2006. Edogbanya, 2016).

Análisis quimiométrico

El PCA es una herramienta estadística que reduce la dimensionalidad de los datos al identificar las direcciones (componentes principales) que explican la mayor variabilidad en el conjunto de datos. En el modelo de PCA obtenido a partir de los espectros de FT-NIR, muestra el agrupamiento de las muestras de acuerdo con el origen de obtención de las muestras, en la Figura 2. A) observamos las muestras de las cocineras de Ixtenco, Tlaxcala; Ángeles Angoa (AA, Rojo), Dolores Bartolo (DB, Verde), Juana Patlani (JP, Azul) y Sofia Domínguez (SD, Rosa). Además de dos muestras de maíz azul de Texcoco de mora, Mex. (TM, Amarillo) y de Huejotzingo, Puebla (HP, Morado) que nos permite hacer la comparación entre muestras. Se observa diferentes agrupaciones claras lo que nos indica que existen diferencias significativas entre muestras.

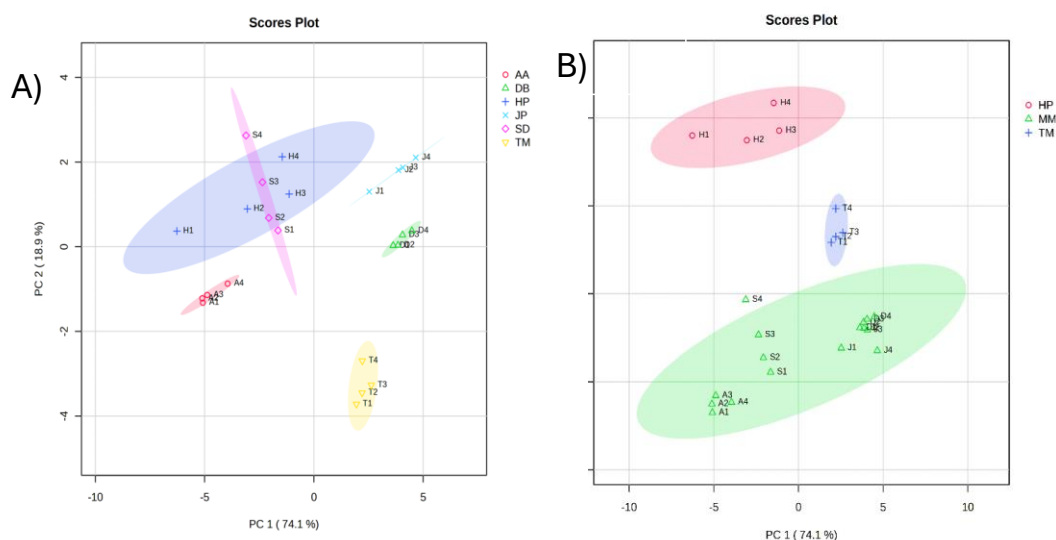


Figura 2. A). Gráficos de cargas de los modelos de PCA con negativos y B). Gráficos de cargas de los modelos de PCA con negativos Corregido

La figura 2. B) representa tres grupos diferenciados, donde las muestras de maíz azul de Texcoco de mora, Mex. (TM, Morado) y de Huejotzingo, Puebla (HP, Rojo) son distintas a las muestras obtenidas de Ixtenco Tlaxcala (MM. Verde). Este tipo de análisis es útil para identificar patrones en los datos y para clasificar las muestras en función de sus características, lo que puede ser de gran utilidad en estudios de caracterización de productos y determinar el origen geográfico de estos granos con alto valor nutricional.



Los resultados obtenidos a partir del PCA pueden compararse con estudios previos que también han utilizado FT-NIR y PCA para caracterizar maíces de diferentes regiones. Por ejemplo, en un estudio similar, Flores Aguilar & Flores-Rivera (2018) utilizaron PCA para diferenciar entre variedades de maíz morado de diferentes regiones geográficas, encontrando que las muestras agrupadas por su origen geográfico presentaban composiciones químicas similares, lo cual es consistente con lo observado en los gráficos presentados aquí.

Además, estudios previos como el de Mendoza et al. (2020) sobre maíz morado de Ixtenco sugieren que las condiciones ambientales y las prácticas agrícolas específicas de cada región tienen un impacto significativo en la composición química de los granos, lo cual podría explicar las diferencias observadas en los gráficos de PCA.

En general, los gráficos de PCA proporcionan una visión clara de la variabilidad química entre diferentes muestras de maíz morado y azul. Las diferencias observadas reflejan la influencia del origen geográfico y las prácticas de cultivo en la composición del maíz. Estos resultados son consistentes con estudios previos y subrayan la importancia de caracterizar las variedades de maíz.

Conclusiones

Se observaron variaciones significativas entre las muestras analizadas. Por ejemplo, la muestra de la Sra. Juanita presentó el mayor contenido de carbohidratos (70.35 %) y grasas (5.44 %), lo que la hace particularmente adecuada para aplicaciones que requieren un alto aporte energético. Por otro lado, la muestra de la Sra. Sofia destacó por su contenido proteico (10.28 %), lo que la posiciona como una opción nutritiva para productos ricos en proteínas. Estas diferencias resaltan el valor de la caracterización detallada de las variedades de maíz morado para su uso.

El uso combinado de FT-NIR y PCA permite una caracterización precisa y no destructiva de su composición bromatológica y perfil nutricional, lo cual es crucial para su conservación, valorización comercial, y trazabilidad en mercados nacionales e internacionales. Estos métodos han demostrado diferencias significativas entre las muestras, lo que refuerza la importancia de preservar la diversidad genética y el valor cultural de este grano tradicional.

Literatura Citada

- Aguilar, E., & Flores-Rivera, E.** (2018). Estabilidad de antocianinas, fenoles totales y capacidad antioxidante de bebidas de maíz morado (*Zea mays* L.) y uña de gato (*Uncaria tomentosa* sp). 29: 175-184. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642018000200175>.
- Bermúdez, A. R., Vásquez, J. P., & Lozano, D.** (2017). Análisis proximal y perfil de ácidos grasos en maíz morado (*Zea mays* L.) cultivado en el estado de México. *Agroproductividad*. 10(4): 42-49.
- Flores Aguilar, E., & Flores-Rivera, E.** (2018). Estabilidad de antocianinas, fenoles totales y capacidad antioxidante de bebidas de maíz morado (*Zea mays* L.) y uña de gato (*Uncaria tomentosa* sp.). *Scientia Agropecuaria*, 29(2): 175-184.



- Lao, F., Sigurdson, G., & Giusti, M. (2017). Health Benefits of Purple Corn (*Zea mays* L.) Phenolic Compounds. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 16(2): 234-246. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12249>.
- Medina-Hoyos, A. E., Narro-León, L. A., & Chávez-Cabrera, A. (2020). Cultivo de maíz morado (*Zea mays* L.) en zona altoandina de Perú: Adaptación e identificación de cultivares de alto rendimiento y contenido de antocianina. *Scientia Agropecuaria*. 11, 291-299.
- Méndez, A. T., Sánchez, G., & Rivera, M. (2016). Caracterización fisicoquímica y perfil de antocianinas en variedades nativas de maíz morado (*Zea mays* L.). *Revista Fitotecnica Mexicana*, 39(3): 243-250.
- Mendoza, C., Castillo, M., González, F., Ramírez, F., Alvarado, A., & Pecina-Martínez, J. (2020). Agronomic Performance and Grain Yield of Mexican Purple Corn Populations from Ixtenco, Tlaxcala. *Maydica*, 64, 9.
- Mex-Álvarez, R. M. J. (2016). Análisis proximal y fitoquímico de cinco variedades de maíz del Estado de Campeche, México. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 12(2), 74-80.
- Rachelle, M., Esperance, D., Rachad, S., Richard, G. & Nicolas, L. (2014). Multiple optimizations of chemical and textural properties of roasted expanded purple maize using response surface methodology. *Journal of Cereal Science*. 60: 397-405.
- Salinas, Y., García, C., Coutiño, B. & Vidal, V. (2013). Variabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul/morado de poblaciones mexicanas de maíz. *Rev. Fitotec. Mex.* 285 -294.
- Terán, J. C., López O. C. A., Gómez, S., & Campos, Á. R. M. (2017). Caracterización física, contenido de fenoles y capacidad antioxidante de maíces nativos (*Zea mays* L.) del Estado de México. *ITEA*, 113: 5-19.
- Valle C. M., García, C. J., Laos, A. D., Yarasca, C. E., Loyola, G. E., & Surco-Laos, F. (2019). Análisis proximal y cuantificación de antocianinas totales en *Zea mays* variedad morada sometido a diferentes procesos de secado. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 85(1): 109-115.
- Vázquez-Carrillo, G., Rojas-Molina, I., & Ortiz, L. (2018). Evaluación del contenido de nutrientes en maíz morado de diferentes regiones de México. *Journal of Agricultural Science*. 10(9): 123-130.



Efecto de la modificación en las propiedades funcionales en aislado de proteína de huauzontle

Adriana Herrero-Galindo¹, Diana I. López-Monterrubio², Consuelo Lobato-Calleros^{a,b,*}, E. Jaime Vernon-Carter³

Mesa 4: Química.

Resumen

Las proteínas de fuentes vegetales han cobrado importancia en la industria alimentaria, debido a los cambios en los hábitos alimenticios en la población. Sin embargo, presenta algunas desventajas con respecto a la proteína de origen animal, por lo que se han empleado métodos de modificación que ayuden a mejorar algunas de sus propiedades. En la investigación se compararon las características estructurales y propiedades funcionales en aislado de proteína de huauzontle en tres tratamientos diferentes: proteína modificada con calor (P_{calor}), ultrasonido (P_{US}), cambio de pH (P_{pH11}) y la nativa como control. Se encontró que en la proteína modificada el tamaño de partícula fue menor, lo cual se comprobó con las micrografías obtenidas, la solubilidad se evaluó de pH 3 a 11 y se observó que a pH alcalino en todos los tratamientos fue mayor, a pH 7 la nativa presentó el menor porcentaje de solubilidad (37 %) y en la modificada con calor alcanzó hasta el 87 %, el mismo tratamiento obtuvo la mayor capacidad de retención de agua. De acuerdo con los resultados obtenidos, la proteína de huauzontle podría ser una alternativa para su uso en la industria alimentaria.

Palabras clave: huauzontle, propiedades funcionales, tratamiento térmico, ultrasonido

Abstract:

Proteins from vegetable sources have gained importance in the food industry, due to changes in the eating habits of the population. However, it has some disadvantages with respect to animal protein, so modification methods have been used to help improve some of its properties. In this research, the structural characteristics, and functional properties of huauzontle protein isolate were compared in three different treatments: heat-modified protein (P_{calor}), ultrasound (P_{US}), pH change (P_{pH11}) and native protein as a control. It was found that in the modified protein the particle size was smaller, which was verified with the micrographs obtained, the solubility was evaluated from pH 3 to 11 and it was observed that at alkaline pH in all treatments it was higher, at pH 7 the native presented the lowest percentage of solubility (37 %) and in the heat modified it reached up to 87 %, the same treatment obtained the highest water retention capacity. According to the results obtained, huauzontle protein could be an alternative for use in the food industry.

¹ Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, 56230, Texcoco, México. Correo: adris10ap00@gmail.com.

² Departamento de Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, 56230, Texcoco, México. Correo: consuelobato@yahoo.com, ilopezmonterrubio@gmail.com.

³ Departamento de Ingeniería de Procesos e Hidráulica, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Apartado Postal 55-534, Iztapalapa, D.F. 09310, México. Correo: jvernoncarter@gmail.com



Keywords: huauzontle, functional properties, heat treatment, ultrasound

Introducción

De los componentes más importantes en la dieta humana se encuentran las proteínas debido a su alto valor nutricional, y por ser compuestos anfifílicos es considerado un ingrediente esencial ya que pueden crear y estabilizar las propiedades funcionales en los productos alimentarios (Day, Cakebread y Loveday, 2022). Las proteínas de origen animal se han utilizado ampliamente en la industria alimentaria por su perfil de aminoácidos esenciales y funcionalidad (Kim, Wang, y Selomulya, 2020). Sin embargo, debido a los problemas ambientales, cambio climático, baja disponibilidad, por los cambios en la alimentación de los humanos y aumento de la población se ha buscado fuentes alternativas que cumplan las funciones de una proteína animal (Wang, Miao y Sun, 2023), por lo que muchas investigaciones se han enfocado en proteínas de fuentes vegetales como legumbres y cereales principalmente, actualmente en pseudocereales como: amaranto, quinua y trigo sarraceno por su alto valor nutricional (fuentes ricas en proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas, minerales y fibras de alta calidad), así como compuestos fenólicos, saponinas y flavonoides (Langyan, Khan y Kumar, 2023). El huauzontle (*Chenopodium nuttalliae* Saff.) es un pseudocereal originario de México y se consume tradicionalmente desde la época prehispánica, se caracteriza por su alto contenido de proteína (20 %) y por su alto perfil de aminoácidos (López-Monterrubio, Lobato-Calleros, Alvarez-Ramirez y Vernon-Carter, 2020). Sin embargo, la mayoría de las proteínas de vegetales son de naturaleza globular, lo que indica que presenta una estructura plegada en forma de esfera compacta en solución acuosa. Por lo tanto, los grupos hidrófobos se encuentran incrustados en el núcleo de la estructura y los hidrófilos en la superficie los cuales reaccionan rápidamente con el medio (Dash, Singh y Singha, 2024). Por lo que, presentan baja solubilidad en soluciones acuosa a pH neutro debido a su estructura particular, lo cual afecta a las propiedades funcionales y limita su aplicación a la industria alimentaria (Zhi *et al.*, 2022). Por lo que es necesario modificar sus características para mejorar sus propiedades funcionales. Se han empleado diversos métodos físicos, químicos y biológicos que permitan mejorar estas características (Nasrabadi, Doost y Mezzenga, 2021). La modificación con cambio de pH es un método químico que consiste en someter la solución de proteína a pH extremos y luego regresarla a pH neutro (Shen *et al.*, 2023). Con el despliegue de la proteína se da un aumento de las repulsiones entre las cadenas laterales haciendo posible el desdoblamiento parcial de las estructuras secundaria y terciaria, con el repliegue de la proteína no regresa a su conformación original, si no que se obtiene una nueva estructura conocida como “glóbulo molten” (Xu *et al.*, 2023). Con la redistribución de cadenas laterales de los aminoácidos, se incrementa la solubilidad, hidrofobicidad superficial y estructuras secundarias flexibles y con ello la mejora propiedades emulsionantes y espumantes (Jiang *et al.*, 2022; Pan *et al.*, 2023).

Un métodos físicos utilizado para modificar la proteína es el tratamiento térmico (Igartúa, Dichano, Ferrari, Palazolo y Cabezas, 2024). Con este tratamiento se induce la ruptura de las interacciones hidrofóbicas, inter e intramoleculares (exposición de grupos hidrofóbicos y sulfhidrilo enterrados), en condiciones térmicas suaves se produce el desdoblamiento reversible, promoviendo un estado de glóbulo molten favoreciendo su funcionalidad (Alavi, Chen y Emam-Djomeh, 2021; Akharume, Aluko y Adedeji 2021). En cambio, en condiciones altas, va a provocar cambios irreversibles en la estructura de la proteína como la desnaturalización y agregación, así como la modificación de la



estructura secundaria y terciaria (Yang *et al.*, 2022). Otro método utilizado para modificar la conformación de la estructura de la proteína debido a los efectos de cavitación, mejorando las propiedades funcionales, es el ultrasonido de alta intensidad, por ser amigable con el medio ambiente (Zhi *et al.*, 2022). Con el ultrasonido se exponen los grupos hidrofóbicos y la disminución del tamaño de partícula, lo que podría mejorar la solubilidad, las propiedades espumantes y emulsionantes (Luo, Yang, Wang, Ashokkumar y Hemar, 2022; Yang *et al.*, 2022). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es evaluar el impacto del tratamiento térmico, ultrasonido de alta intensidad y cambio de pH sobre las propiedades funcionales del aislado de proteína de huauzontle. Envíalo

Materiales y métodos

Materiales

Las semillas de huauzontle (*Chenopodium nuttalliae* Saff) se obtuvieron de productores locales de Tepoztlán, (18°59' 7" N, 99°5' 59" W, elevación sobre el nivel del mar 1706 m) del estado Morelos, México. las semillas se lavaron y secaron en una estufa a 35 °C por 24 h y se molieron para ser desengrasadas por el método de Soxhlet. Los reactivos utilizados son grado analítico, el ácido clorhídrico (HCl) y el hidróxido de sodio (NaOH) fueron comprados en J.T. Baker (Xalostoc, estado de México, México). Para todos los experimentos se utilizó agua destilada y desionizada.

Modificación de la proteína

La proteína de huauzontle se obtuvo mediante extracción alcalina y precipitación isoelectrica (López-Monterrubio *et al.*, 2020). El aislado proteico se dispersó en agua desionizada, se agitó magnéticamente y se ajustó a pH 7 con HCl e NaOH al 1 M, se agitó durante una hora y posteriormente la solución se sometió a tres tratamientos diferentes para la modificación de su estructura: 1) con calor, la solución se mantuvo a pH 7 y se calentó a 70 °C por 20 min en un baño de agua. Posteriormente la solución se enfrió con cubitos de hielo; 2) la solución de proteína modificada con ultrasonido de alta intensidad fue procesada a una frecuencia 20 kHz, 50 % de amplitud por 10 min (duración del pulso: 5 min en 5 min) con un procesador de ultrasonidos (Sonics and Materials, Inc, Newtown, CT, USA) equipado con una sonda de punta plana de 8 mm de diámetro, se colocó un baño de hielo para evitar el calentamiento de muestra; 3) la solución de proteína tratada con cambio de pH se ajustó a pH 11 utilizando NaOH y HCl al 1M, una vez ajustado el pH, la solución se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente, después el pH se redujo a pH 7 con HCl e NaOH al 0.5 M y se agitó durante una hora . El control, designada como proteína nativa no se le realizó ningún ajuste, únicamente se mantuvo a pH 7. La solución de proteína y modificada se dejó reposar por 12 para su completa hidratación en refrigeración a 4 °C. Para eliminar la proteína insoluble presente se centrifugó a 1238 ×g por 30 min, cada una de las muestras de proteína nativa y modificada fueron liofilizada y se designaron como P_{nativa}, P_{calor}, P_{US}, P_{pH11}.

Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Las características morfológicas de la proteína de huazontle se observaron con un microscopio electrónico de barrido (JSM6360, JEOL, Tokio, Japón). Cada muestra se colocó sobre la superficie



de soportes de aluminio con cinta adhesiva de carbono y se recubrió con oro durante 5 min a 1.5 kV, 56 mA en un JFC 1100 por recubrimiento por pulverización catódica (JEOL, Tokio, Japón) y se observó bajo un voltaje de aceleración de 13 Kv a 2000× (Cuevas-Bernardino *et al.*, 2016).

Solubilidad de la proteína

La solubilidad en las muestras de proteína se determinó por el método propuesto por Yu, Zeng, Qin, He, y Chen, (2017). Se prepararon soluciones acuosas de proteína (1 %, p/v) en tampón fosfato al 0.01 M a pH 3, 5, 7, 9 y 11. Las dispersiones se agitaron durante 1 hora a temperatura ambiente y se centrifugaron a 4400 ×g por 20 min. El contenido de proteína se determinó de los sobrenadantes siguiendo el método de Lowry modificado por Peterson (1970). La absorbancia de los sobrenadantes se midió a 750 nm en un espectrofotómetro Genesys 10S UV-VIS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.). La solubilidad de muestras se reportó en porcentaje de proteína restante en la solución.

$$\text{Soluble protein (\%)} = \frac{\text{concentración de la proteína en el sobrenadante}}{\text{concentración de la proteína en la dispersión}} \times 100 \quad (1)$$

Capacidad de retención de agua y aceite

La capacidad de retención de agua (CRA) en la proteína se determinó por el método propuesto por Gong *et al.* (2016) con ligeras modificaciones. A continuación, se describe ampliamente, cada tratamiento de la proteína de huauzontle se pesó en un tubo de centrifuga (W₁) (~1 g W₀) a pH 7±0.1. seguido se añadieron 10 mL de agua destilada a las muestras y se agitaron durante 1 hora a temperatura ambiente, transcurrido este tiempo se dejó reposar a temperatura ambiente por 30 min y luego se centrifugaron a 3000 ×g durante 20 min. Se retiró el sobrenadante y se pesó el tubo de centrifuga que contenía el sedimento (W₂). El WHC (g de agua/g de proteína) se calculó según la siguiente ecuación:

$$CRA = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \quad (2)$$

Para determinar la capacidad de absorción de aceite (COA) en las muestras de proteína se pesó aproximadamente 1 g de proteína a pH 7, se colocó y pesó en un tubo de centrifuga (W₁), se agregaron 5 mL de aceite de soja a cada muestra y durante 5 min se mezclaron en un vortex. Luego se dejaron reposar por 30 min a temperatura ambiente y se centrifugaron a 3000 ×g durante 20 min, el sobrenadante se retiró del tubo, el sedimento se pesó (W₂). La CRA se reportó como gramo de proteína por gramo de aceite, empleando la siguiente ecuación:

$$COA = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \quad (3)$$



Análisis estadístico

Todas las variables fueron analizadas por triplicado a partir de tres experimentos independientes. Los resultados fueron expresados como la media $\pm$ desviación estándar. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico (SAS versión 9.4, SAS Institute Inc., NC, USA). Se realizó el análisis de varianza ANOVA para determinar las diferencias significativas empleando la prueba de Tukey con un nivel de significancia $p < 0.05$.

Resultados y discusión

Análisis de la proteína de huauzontle MEB

En la figura 1 se muestran las micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido de la proteína de huauzontle nativa y modificada, la morfología en cada uno de los tratamientos es muy similar, presentando forma irregular y rugosa, sin embargo, la diferencia en tamaño es significativa, principalmente en P_{US} , esto debido a la fuerza de cavitación a la cual se somete, así como a la generación de microcorrientes y turbulencias, lo cual da lugar a la reducción del tamaño en la proteína (Mir, Riar y Singh, 2019). Por su parte, el tratamiento en condiciones alcalinas permite que la proteína se despliegue a una estructura de glóbulo fundido y se vuelva a replegar en condiciones de pH neutro favoreciendo las interacciones intermoleculares en la superficie, lo que da lugar a partículas de tamaño irregular, conglomeradas con superficies ásperas y escamosas (Chen, Zhang, Xue y Xu 2020). Este tipo de morfología han demostrado una mejora en las propiedades de adsorción interfacial, como interacciones proteína-agua, formación de espumas y emulsiones (Karabulut *et al.*, 2024). El tratamiento térmico induce la modificación estructural mediante el despliegue de las estructuras proteicas exponiendo los grupos hidrofóbicos a la superficie de la molécula, favoreciendo la formación de agregados de proteína mediante interacciones hidrofóbicas. (Igartúa *et al.*, 2024). Sin embargo, los efectos del tratamiento térmico sobre la estructura de la proteína huauzontle no fueron suficientes para inducir un cambio significativo en su tamaño y morfología. Resultados similares fueron observados en aislado proteína de arroz bajo tratamiento térmico (Igartúa *et al.*, 2024).

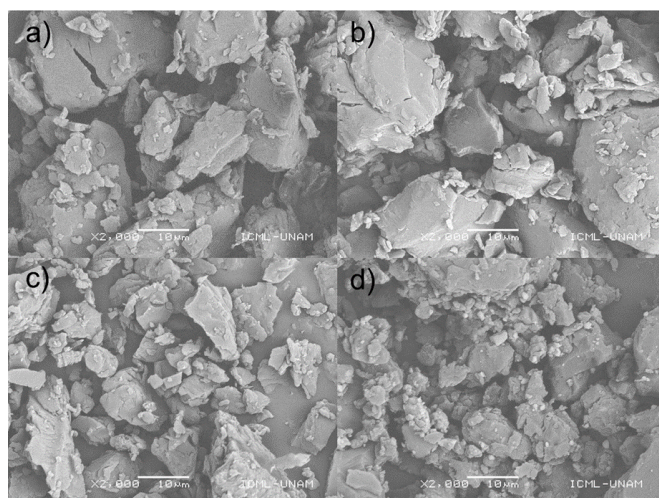


Figura 1. Micrografías obtenidas por microscopia electrónica de barrido (magnificación 200x) de biopolímeros; a) P_{nativa}, (b) P_{calor}, (c) P_{US}, (d) P_{pH11}.

Solubilidad

La solubilidad determina la aplicación de la proteína ya sea como ingrediente alimentario o como material de encapsulación, algunas de las características que depende la solubilidad son la relación hidrofóbica/hidrofílica, el tamaño de partícula y la hidrofobicidad superficial, así como el grado de desnaturalización y agregación (Yildiz, Ding, Andrade, Engeseth y Feng, 2018). En la figura 2 se presentan los resultados obtenidos de solubilidad de aislado de proteína de huazontle nativa y modificada, se observa que la mayor solubilidad proteica de pH 7 a 11 se obtuvo en los tratamientos con calor y ultrasonido. La mejora de la solubilidad en proteínas tratadas térmicamente se ha asociado con el desdoblamiento parcial de la estructura de la molécula de proteína que da lugar a un estado de glóbulo fundido con mayor funcionalidad (Nasrabadi *et al.*, 2021). Por su parte, el ultrasonido promueve la solubilidad de las proteína por tres factores: i) la cavitación interrumpe la estructura secundaria, terciaria y cuaternaria de la proteína, provocando cambios en las regiones hidrofóbicas/hidrofílicas; ii) disminuye el tamaño de partícula y aumenta la superficie de contacto con el agua; iii) disocia los agregados de proteínas interrumpiendo las interacciones no covalentes (Gao, Helikh, Duan y Xie, 2024). Respecto al tratamiento con cambio de pH, al exponer la molécula de proteína a condiciones alcalinas conduce a la pérdida de las interacciones de las cadenas laterales, aumento en la flexibilidad de la molécula de proteína, disminución del tamaño de partícula y redistribución de la nube de electrones favoreciendo la solubilidad de la proteína (Jiang *et al.*, 2022; Pan *et al.*, 2023; Wang *et al.* 2023). Aunado a esto, al desdoblar y replegar la estructura de la proteína durante el tratamiento se destruyen las estructuras α -hélice de las globulinas, dando como resultado una estructura de glóbulo fundido la cual ha demostrado mejora en las propiedades tecno-funcionales (Pan *et al.*, 2023).

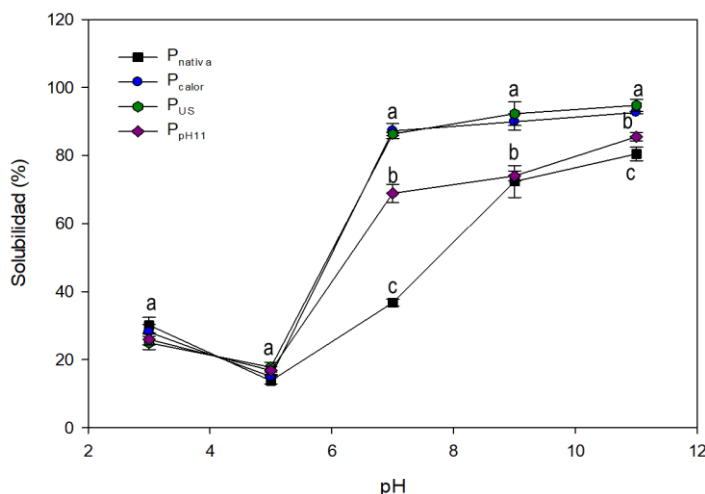


Figura 2. Solubilidad de la proteína de huauzontle nativa y modificada en un rango de pH de 3 a 11. Las barras de error representan medias y letras distintas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$).

Capacidad de retención de aceite

El CRA de las proteínas (figura 3) refleja su capacidad para interactuar con moléculas no polares como los lípidos. Este parámetro es de gran importancia para la industria alimentaria debido a su relación con la retención del sabor, la vida útil y las propiedades emulsionantes (Deng *et al.*, 2019). En este trabajo, el OAC de P_{nativa} fue de 1.10 g/g, mientras que las proteínas modificadas mostraron valores de 1.11 g/g, 1.04 ± 0.04 g/g y 1.09 g/g, para P_{heat}, P_{US} y P_{pH11} respectivamente. Donde puede observarse que los diferentes tratamientos no tuvieron una influencia significativa sobre la capacidad de retención de aceite. Tang *et al.* (2023) evaluaron la OAC de chícharo, arroz, avena y cáñamo, en la proteína de arroz la modificación con cambio de pH no afectó significativamente el valor con respecto a la proteína nativa (1.18 g/g), mientras que en la proteína de chícharo el tratamiento influyó de manera negativa ya que disminuyó de 1.28 a 0.82 g/g.

Capacidad de retención de agua

La mayor capacidad de retención de agua (CRA) se observó (figura 3) en el tratamiento térmico con 5.27 ± 0.16 g/g, en general esta capacidad de la proteína se atribuye al desdoblamiento de las moléculas proteicas donde los grupos hidrófobos e hidrofílicos enterrados de los aminoácidos se exponen. Lo cual hace posible el aumento de la polaridad y de la carga eléctrica de las proteínas,

debido a la ionización de los grupos ionizables en los aminoácidos. Los cuales participan en la formación de enlaces de hidrógeno e interacciones iónicas, permitiendo así reordenamientos e interacciones moleculares para formar fuertes interacciones con el agua (Mor y Ha, 1993; Mir *et al.*, 2021). En el tratamiento a pH alcalino se registró el valor más bajo (1.78 ± 0.11 g/g). Este comportamiento podría atribuirse al incremento de estructuras hoja- β (56.29 %), las cuales se caracterizan por ser estructuras rígidas y con baja flexibilidad estructural, por lo cual, se han asociado con la disminución de WHC (Jeong y Cho, 2024). La capacidad de retención de agua es importante en la industria alimentaria, ya que es un parámetro que se emplea para formular distintos alimentos, como los productos cárnicos donde las proteínas juegan un papel importante en la textura (Das, Mir, Chandla y Singh 2021). Los valores encontrados para esta investigación se encuentran dentro del rango propuesto por Deng *et al.* (2019), que van de 1.49 a 4.72 g/g para ser aplicado a alimentos viscosos, por lo que la proteína de huauzontle nativa y modificada podría usarse en la formulación de alimentos viscosos como sopas y aderezos.

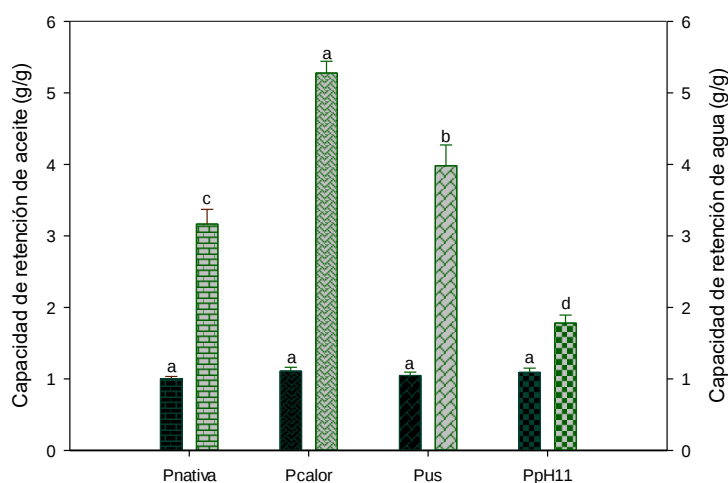


Figura 3.- Capacidad de retención de aceite y agua de la proteína de huauzontle nativa y modificada. Las barras de error representan medias y letras distintas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$).

Conclusiones

La investigación se enfocó en analizar las propiedades fisicoquímicas, estructurales y funcionales con métodos de modificación como el ultrasonido, calor y cambio de pH, debido a que las proteínas vegetales pese a su alto valor nutricionales, aun ve se limitada para sus uso en la elaboración de alimentos por su característica hidrofóbica. Con la modificación algunas propiedades funcionales mejoraron, como la solubilidad a pH neutro lo cual es clave para estabilizar interfases como emulsiones y espumas. La nueva conformación que se obtiene después de la modificación aumenta



la solubilidad y la exposición de los residuos de aminoácidos en la superficie de la proteína mejora la capacidad de retención de agua como se observó con el tratamiento térmico. En la proteína de huauzontle la información sobre su modificación para mejorar su funcionalidad es escasa, por lo que los resultados de esta investigación tienen gran potencial para el desarrollo de futuros trabajos.

Literatura Citada

- Akharume, F. U., Aluko, R. E., & Adedeji, A. A. (2021). Modification of plant proteins for improved functionality: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 198-224. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12688>
- Alavi, F., Chen, L., & Emam-Djomeh, Z. (2021). Effect of ultrasound-assisted alkaline treatment on functional property modifications of faba bean protein. *Food Chemistry*, 354, 129494
- Cuevas-Bernardino, J. C., Leyva-Gutierrez, F. M. A., Vernon-Carter, E. J., Lobato-Calleros, C., Román-Guerrero, A., & Davidov-Pardo, G. (2018). Formation of biopolymer complexes composed of pea protein and mesquite gum – Impact of quercetin addition on their physical and chemical stability. *Food Hydrocolloids*, 77, 736–745. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.015>
- Chen, J., Zhang, X., Xue, S., & Xu, X. (2020). Effects of ultrasound frequency mode on myofibrillar protein structure and emulsifying properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1768-1779. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.114>
- Dash, D. R., Singh, S. K., & Singha, P. (2024). Viscoelastic behavior, gelation properties and structural characterization of Deccan hemp seed (*Hibiscus cannabinus*) protein: Influence of protein and ionic concentrations, pH, and temperature. *International Journal of Biological Macromolecules*, 130120. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130120>
- Das, D., Mir, N. A., Chandra, N. K., & Singh, S. (2021). Combined effect of pH treatment and the extraction pH on the physicochemical, functional and rheological characteristics of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) seed protein isolates. *Food Chemistry*, 353, 129466.
- Day, L., Cakebread, J. A., & Loveday, S. M. (2022). Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 428-442. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.020>
- Deng, Y., Huang, L., Zhang, C., Xie, P., Cheng, J., Wang, X., & Li, S. (2019). Physicochemical and functional properties of Chinese quince seed protein isolate. *Food Chemistry*, 283, 539-548. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.083>
- Gao, D., Helikh, A., Duan, Z., & Xie, Q. (2023). Thermal, structural, and emulsifying properties of pumpkin seed protein isolate subjected to pH-shifting treatment. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(3), 2301-2312. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01776-6>
- Gong, K. J., Shi, A. M., Liu, H. Z., Liu, L., Hu, H., Adhikari, B., & Wang, Q. (2016). Emulsifying properties and structure changes of spray and freeze-dried peanut protein



isolate. *Journal of Food Engineering*, 170, 33-40.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.09.011>

Igartúa, D. E., Dichano, M. C., Ferrari, S. B., Palazolo, G. G., & Cabezas, D. M. (2024). Combination of pH-shifting, ultrasound, and heat treatments to enhance solubility and emulsifying stability of rice protein isolate. *Food Chemistry*, 433, 137319. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137319>

Jeong, M. S., & Cho, S. J. (2024). Effect of pH-shifting on the water holding capacity and gelation properties of mung bean protein isolate. *Food Research International*, 177, 113912. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113912>

Jiang, H., Pan, J., Hu, X., Zhu, M., Gong, D., & Zhang, G. (2022). A combination of alkaline pH-shifting/acidic pH and thermal treatments improves the solubility and emulsification properties of wheat glutenin. *Food Chemistry*, 393, 133358. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133358>

Karabulut, G., Kapoor, R., Yemis, O., & Feng, H. (2024). Manothermosonication, high-pressure homogenization, and their combinations with pH-shifting improve the techno-functionality and digestibility of hemp protein. *Food Hydrocolloids*, 150, 109661. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109661>

Kim, W., Wang, Y., & Selomulya, C. (2020). Dairy and plant proteins as natural food emulsifiers. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 261-272. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.012>

Langyan, S., Khan, F. N., & Kumar, A. (2023). Advancement in nutritional value, processing methods, and potential applications of pseudocereals in dietary food: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 1-20. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03109-x>

López-Monterrubio, D. I., Lobato-Calleros, C., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2020). Huauzontle (*Chenopodium nuttalliae* Saff.) protein: Composition, structure, physicochemical and functional properties. *Food Hydrocolloids*, 108, 106043. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106043>

Luo, L., Yang, Z., Wang, H., Ashokkumar, M., & Hemar, Y. (2022). Impacts of sonication and high hydrostatic pressure on the structural and physicochemical properties of quinoa protein isolate dispersions at acidic, neutral and alkaline pHs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 91, 106232. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106232>

Mir, N. A., Riar, C. S., & Singh, S. (2019). Physicochemical, molecular and thermal properties of high-intensity ultrasound (HIUS) treated protein isolates from album (*Chenopodium album*) seed. *Food Hydrocolloids*, 96, 433-441. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.05.052>

Morr, C. V., & Ha, E. Y. W. (1993). Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 33(6), 431-476. <https://doi.org/10.1080/10408399309527643>



- Nasrabadi, M. N., Doost, A. S., & Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids*, 118, 106789. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106789>
- Pan, J., Xu, H., Dabbour, M., Mintah, B. K., Chen, W., Yang, F., ... & Ma, H. (2023). Effect of alkaline pH-shifting process on extraction rate, structural, and functional properties of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae protein. *LWT*, 185, 115180. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115180>
- Peterson, G. L. (1977). A simplification of the protein assay method of Lowry *et al.* which is more generally applicable. *Analytical biochemistry*, 83(2), 346-356. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(77\)90043-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(77)90043-4)
- Shen, Q., Dai, H., Wen, L., Zheng, W., Li, B., Dai, J., ... & Chen, Y. (2023). Effects of pH-shifting treatments on the emulsifying properties of rice protein isolates: Quantitative analysis of interfacial protein layer. *Food Research International*, 164, 112306. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112306>
- Tang, Y. R., Stone, A. K., Wang, Y., Zhou, L., Kimmel, J., House, J. D., & Nickerson, M. T. (2023). Effect of a pH shift treatment on the functional properties of individual and blended commercial plant protein ingredients. *European Food Research and Technology*, 1-9.
- Wang, S., Miao, S., & Sun, D. W. (2023). Modifying structural and techno-functional properties of quinoa proteins through extraction techniques and modification methods. *Trends in Food Science & Technology*, 104285. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.104285>
- Xu, H., Pan, J., Dabbour, M., Mintah, B. K., Chen, W., Yang, F., ... & Ma, H. (2023). Synergistic effects of pH shift and heat treatment on solubility, physicochemical and structural properties, and lysinoalanine formation in silkworm pupa protein isolates. *Food Research International*, 165, 112554. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112554>
- Yang, J., Duan, Y., Geng, F., Cheng, C., Wang, L., Ye, J., ... & Deng, Q. (2022). Ultrasonic-assisted pH shift-induced interfacial remodeling for enhancing the emulsifying and foaming properties of perilla protein isolate. *Ultrasonics Sonochemistry*, 89, 106108. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106108>
- Yildiz, G., Ding, J., Andrade, J., Engeseth, N. J., & Feng, H. (2018). Effect of plant protein-polysaccharide complexes produced by mano-thermo-sonication and pH-shifting on the structure and stability of oil-in-water emulsions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 47, 317-325. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.03.005>
- Yu, M., Zeng, M., Qin, F., He, Z., & Chen, J. (2017). Physicochemical and functional properties of protein extracts from *Torreya grandis* seeds. *Food Chemistry*, 227, 453-460. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.114>
- Zhi, Z., Yan, L., Li, H., Dewettinck, K., Van der Meeren, P., Liu, R., & Van Bockstaele, F. (2022). A combined approach for modifying pea protein isolate to greatly improve its solubility and emulsifying stability. *Food chemistry*, 380, 131832. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131832>



Obtención del aceite de semillas de calatola (*Calatola mollis*) y su transformación a biodiésel como alternativa sustentable con el medio ambiente

Benito Reyes Trejo^{*1}, Erick Cortes Garay^{*1}, Ulises Murrieta Dionicio¹ y Enrique Guizar Nolasco²

Mesa 4: Química.

Resumen

Este estudio se centró en evaluar la viabilidad de producir biodiésel a partir de las semillas de calatola (*Calatola mollis*). A través de análisis exhaustivos, se determinó que este aceite vegetal cuenta con el potencial energético necesario para su transformación en biocombustible. Se obtuvo un aceite con un rendimiento del 2.8%, sin embargo, la acidez fue del 6.8%, por lo que fue sometido a un pretratamiento ácido, para obtener el biodiésel, los resultados de las pruebas fisicoquímicas, como densidad, viscosidad y calor de combustión demostraron que el biodiésel obtenido cumple con las especificaciones técnicas requeridas. Tanto al aceite como su biodiésel y las mezclas preparadas entre ambos, se les determinaron otras propiedades fisicoquímicas como, densidad, viscosidad a varias temperaturas, mostrando un descenso al aumentar la temperatura, finalmente se estimaron los calores de combustión del aceite, el biodiésel y sus mezclas. Los valores de entalpías de combustión del biodiésel fueron de 40.18 y comparado con el diésel petroquímico de 46.03 kJ/kg.

Palabras clave: Biodiésel, Viabilidad, Calatola, Transesterificación, Política energética

Abstract

This study focused on evaluating the feasibility of producing biodiesel from calatola seeds (*Calatola mollis*). Through comprehensive analyses, it was determined that this vegetable oil possesses the necessary energy potential for its conversion into biofuel. The seeds afforded 2.8% yield; however, its acidity was 6.8%, so it was subjected to an acid pretreatment to produce the biodiesel. The results of the physicochemical tests, such as density, viscosity, and heat of combustion, demonstrated that the obtained biodiesel possesses the required technical specifications to the European normativity (EN 14214/07). Several properties such as physicochemical properties, such as density and viscosity at different temperatures, were also determined for the oil, mixtures prepared between diesel and biodiesel, showing a decrease as the temperature increased. Finally, the heats of combustion of the oil, biodiesel, and their mixtures were estimated. The combustion enthalpy values for the biodiesel were 40.18, compared to the petrochemical diesel of 46.03 kJ/kg.

¹ Laboratorio de Productos Naturales, Área de Química Depto. de Preparatoria Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México, C.P. 56230. Correo-e: (BRT) benijovi@yahoo.com.mx, (ECG) erick8milth@gamil.com

² División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México, C.P. 56230. Correo*: benijovi@yahoo.com.mx



Key words: Biodiesel, feasibility, Calatola, transesterification, oil

¹Laboratorio de Productos Naturales, Área de Química Depto. de Preparatoria Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México, C.P. 56230. Correo-e: (BRT) benijovi@yahoo.com.mx, (ECG) erick8milth@gamil.com

²División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México, C.P. 56230. Correo*: benijovi@yahoo.com.mx

1. Introducción

La producción de biodiésel en México enfrenta una serie de desafíos complejos que requieren una atención integral. A lo largo de los años, se han realizado varios intentos fallidos para establecer plantas comerciales de producción de biodiésel. Ejemplos notables incluyen las instalaciones en Cadereyta, Nuevo León; Lázaro Cárdenas, Michoacán; y en el estado de Chiapas, las cuales se basaron en diferentes materias primas, como grasas animales, *Jatropha curcas* e higuera. Sin embargo, estas plantas fueron afectadas por la escasez de materias primas esenciales, lo que eventualmente resultó en el cese de sus operaciones. A diferencia de lo que sucede en Europa, donde el desarrollo del biodiésel ha sido más consolidado, en México no se ha logrado el mismo progreso, evidenciado por la falta de leyes que impulsen su adopción a gran escala. De hecho, desde 2012 se ha observado una disminución significativa tanto en el financiamiento como en el interés hacia proyectos relacionados con el biodiésel (Riegelhaupt et al, 2016). A pesar de los esfuerzos gubernamentales, como los descritos por la Secretaría de Agricultura en 2017 en su comunicado sobre el impulso a la producción de biocombustibles (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2017), y en el taller de bioenergía sustentable realizado por la Secretaría de Energía en 2014, estos esfuerzos no han sido suficientes para generar un cambio significativo en la industria. En paralelo, el mundo ha comenzado una transición acelerada hacia los vehículos eléctricos (VE), impulsada por los beneficios ambientales y la mayor eficiencia de estos vehículos. Diversos gobiernos están implementando políticas que fomentan la adopción de VE, como incentivos fiscales y el desarrollo de infraestructura de carga (United Nations Environment Programme, 2022). Sin embargo, es fundamental destacar que aún existen oportunidades significativas para investigar y optimizar la producción de biodiésel en México, particularmente en sectores específicos. Las industrias marítima y ferroviaria, por ejemplo, ofrecen aplicaciones viables para el uso de biodiésel, lo que permitiría reducir las emisiones contaminantes y fomentar el desarrollo de tecnologías más sostenibles. Adicionalmente, el biodiésel tiene aplicaciones prometedoras en el sector de calefacción residencial e industrial. Su uso podría reemplazar a los combustibles fósiles tradicionales, contribuyendo a la reducción de la huella de carbono y a la mejora de la calidad del aire en zonas urbanas.

Como parte de este estudio, se analizará la viabilidad de la semilla de *Calatola mollis*, originaria de Teziutlán, Puebla, esta planta ha sido poco estudiada, aunque investigaciones previas sobre sus hojas han revelado la presencia de un raro compuesto noriridoide (Villa-García et al, 2015) En este estudio, evaluamos el potencial del [nombre del aceite] como materia prima para la producción de

biodiésel. Para ello, se determinaron sus propiedades fisicoquímicas clave, incluyendo índice de acidez, viscosidad, densidad y calor de combustión. Además, se llevó a cabo un análisis detallado de su composición mediante cromatografía de gases. Estas propiedades son fundamentales para evaluar la viabilidad del aceite en procesos de transesterificación, una reacción química que convierte los triglicéridos del aceite en biodiésel (Sandesh, 2016), como se muestra en la figura 1.

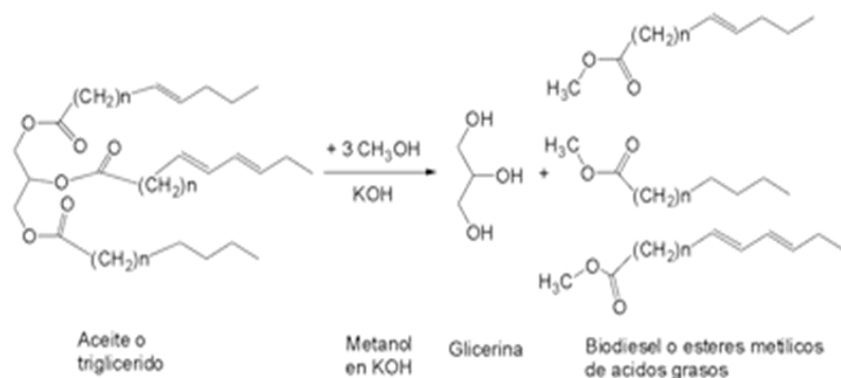


Figura 1. Reacción general de transesterificación en medio básico para la obtención de biodiésel

2. Material y Métodos

2.1.-Colecta de materia prima

Se recolectaron semillas de calatola (*Calatola mollis*) en una zona boscosa del Barrio de Ahuateno, Teziutlan, Estado de Puebla, en enero de 2024.

2.2.-Selección, limpieza y secado

Se colectaron 18 Kg de semillas calatola (*C. mollis*) y fueron separadas de forma manual de la cascara, una vez que se obtuvieron aquellas semillas que presentaban algún daño o indicios de germinación fueron separadas del resto, posterior a esto se lavaron solamente con agua, con el propósito de retirar la tierra y después de dicha acción las semillas fueron cortaron en trozos pequeños y posteriormente fueron secadas en un deshidratador de aire de convección a 60 °C Marca "sedona" durante 24 horas.

2.3.-Extracción del aceite

Se extrajo aceite de 8 kg de semillas deshidratadas mediante maceración con hexano. El material vegetal se sumergió en hexano durante 72 horas a temperatura ambiente, en un recipiente sellado. Trascurridos tres días el extracto hexánico fue decantado y concentrado en un evaporador rotatorio, con el objetivo de eliminar el disolvente y recuperar únicamente el aceite. Finalmente, se midió la masa del aceite obtenido utilizando una balanza analítica de precisión.



2.4 Determinación de la acidez del aceite

Se pesaron por triplicado muestras de 5 gramos de aceite y se disolvieron en 25 mL de etanol. Tras enfriar, se añadieron dos gotas de fenolftaleína como indicador. Posteriormente, se titularon con una solución de hidróxido de sodio 0.1185 M (estandarizada con biftalato de potasio). El porcentaje de acidez obtenido fue de 6.78%, un valor considerablemente alto (Atabani et al. 2012). Este elevado índice sugiere una hidrólisis significativa de los triglicéridos, lo cual podría favorecer reacciones secundarias como la saponificación. Por lo tanto, se realizó un tratamiento previo (esterificación) del aceite para reducir la acidez y minimizar la ocurrencia de reacciones colaterales indeseables.

2.5. Reacción de esterificación

Se llevó a cabo una reacción de esterificación en un matraz de bola, utilizando 20 mL de aceite, 30 mL de metanol y 2 mL de ácido sulfúrico como catalizador. La mezcla se sometió a reflujo durante 3 horas, con agitación constante, para favorecer la reacción. Posteriormente, se realizó una purificación del producto mediante lavados sucesivos con agua hasta alcanzar neutralidad (pH 6-7). Finalmente, se eliminó el exceso de agua con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el solvente en un evaporador rotatorio. Los resultados obtenidos mostraron una reducción significativa de la acidez del aceite hasta un 1%, valor que cumple con los requisitos establecidos en la literatura para proceder a la etapa de transesterificación (Rashid et al., 2013).

2.6-Reacción de transesterificación

En un matraz de bola se adicionan 3 mL de metanol y 0.06 g de NaOH mismos que se mantuvieron en agitación vigorosa durante 30 minutos, una vez transcurrido el tiempo se adicionan 10 ml de aceite obtenidos por en la extracción con hexano, y se dejó a reflujo manteniendo agitación constante y una temperatura de 60 °C. El progreso de la reacción se monitoreó mediante cromatografía en capa fina (TLC) utilizando placas de silica gel F254 y una mezcla de hexano/acetato de etilo/ácido acético (9:1:0.1) como sistema de elución. Una vez finalizada la reacción, el producto crudo se transfirió a un embudo de separación y se lavó repetidamente con agua destilada caliente para eliminar los subproductos de reacción. Posteriormente, el biodiesel se secó con sulfato de sodio anhidro. Para evaluar el potencial del biodiesel obtenido como combustible alternativo, se prepararon mezclas con diésel comercial en diferentes proporciones (v/v). Las propiedades fisicoquímicas de estas mezclas, incluyendo índice de acidez, viscosidad cinemática, densidad y calor de combustión, se determinaron y compararon con las del diésel comercial.

2.7.-Cromatografía de gases

Se empleó la técnica de cromatografía de gases para determinar la composición de ácidos grasos en el biodiésel. La identificación de los ácidos grasos se realizó por comparación con un estándar de referencia conocido como **37 FAME Mix (Supelco)**, empleando una columna SP-2560 de 75 m x 0.18 mm y 0.14 mm de espesor de película, empleando un detector de ionización de flama (FID), con un flujo de 1.6 mL/min y su gas de arrastre fue Hidrógeno. La temperatura del Horno fue de en una rampa de 140 °C en 4°C/min hasta 240 °C, midiéndose el % de esteres metílicos de ácidos grasos.

3.-Resultados y discusión

3.1.- Colecta de materia prima

La región de recolección de las semillas fue en la zona boscosa del Barrio de Ahuateno, Teziutlan, Estado de Puebla, la figura 2, en el periodo del enero de 2024. Se logró identificar y se recogieron aproximadamente 20 kg de semilla,



Figura 2 Región del bosque Teziutlán donde se realizó la expedición de campo para su recolección.

3.2. Contenido de humedad

La masa de las muestras se midió antes y después de la deshidratación, lo que permitió calcular el porcentaje de humedad, que resultó ser del 38.9%. Este alto contenido de humedad es coherente con la apariencia brillante y húmeda de la semilla, que también presenta una textura suave y un sabor dulce.

3.3 Obtención del aceite de calatola

Se evaluó el rendimiento de aceite de las semillas de calatola (*Calatola mollis*) tras dos maceraciones con hexano. En la primera extracción, la muestra, deshidratada y colocada en un vaso de precipitados, produjo un 1.8% de aceite, mientras que la segunda extracción, realizada con el residuo sólido de la primera, resultó en un 1.0%. El rendimiento total de aceite fue de aproximadamente 2.8%, valor que es explicable por el alto contenido de humedad de las semillas de calatola.

3.4 Caracterización del aceite

Después de obtener el aceite se procedió en la evaluación del contenido de acidez que proporcionan los ácidos grasos libres. El resultado del análisis indica que el índice de acidez es de 6.78 %. Es crucial mantener un nivel de ácidos grasos libres por debajo de 0.5 mg KOH/g de muestra para garantizar resultados óptimos en la reacción de transesterificación. Un exceso de ácidos grasos libres durante la transesterificación provocaría que el hidróxido de potasio (KOH) reaccione con ellos no para neutralizarlos, sino para formar jabón mediante una reacción de saponificación. Para

contrarrestar este efecto no deseado, se ha implementado un pretratamiento con catalizadores ácidos, lo que reduce significativamente la cantidad de ácidos grasos presentes.

El índice de acidez obtenido fue de 0.38 mg KOH/g de muestra. Cabe destacar que durante este proceso se logró una reducción significativa en el porcentaje de ácidos grasos libres, lo cual representa un avance notable en la producción de biodiésel a partir de aceite de calatola. sin embargo, también implica el riesgo de que la cantidad de materia prima (aceite de calatola) disminuya debido a pérdidas durante el mismo tratamiento. Al final del tratamiento se obtuvo 17.6 mL de aceite, por lo que el rendimiento a partir de los 20 mL de aceite es de 88 %.

3.5 Obtención de Biodiésel

La reacción de transesterificación se llevó a cabo la reacción de transesterificación. El rendimiento obtenido fue del 75%. Cabe mencionar que no se pudo optimizar aún más la reacción debido a la limitada cantidad de aceite disponible, ya que todo el material inicial se había empleado en experimentos previos. La figura 3 muestra la última placa de cromatografía en capa delgada realizada, donde se aprecia la diferencia en la elución del aceite y el biodiésel.

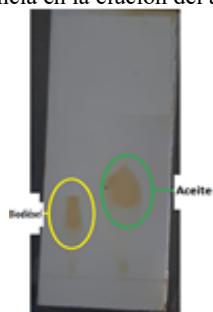


Figura 3: Placa de cromatografía de capa delgada de aceite de calatola y biodiésel

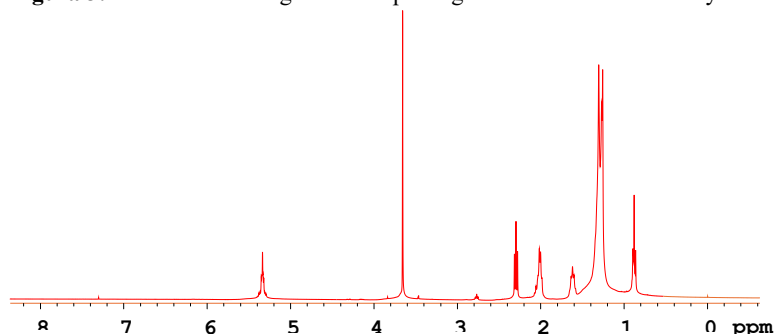


Figura 4: Espectro de RMN de ^1H de 400MHz del biodiésel de *C. mollis*

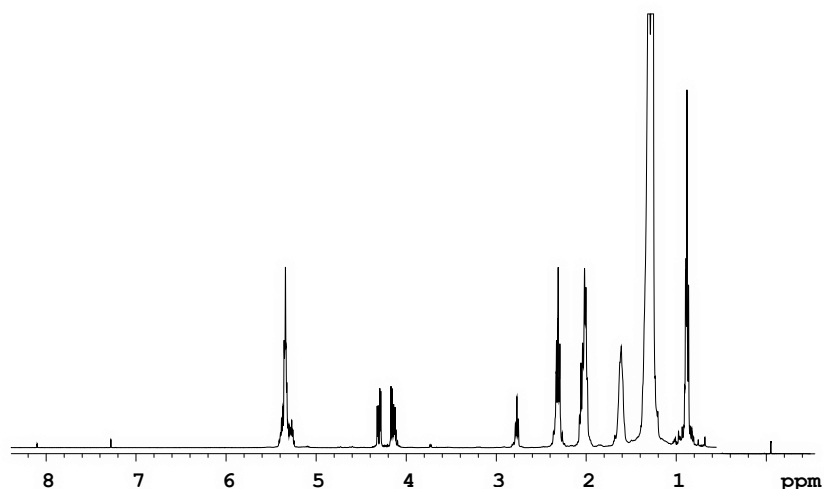


Figura 5: Espectro de RMN de ^1H de 400MHz del aceite de *C.mollis*.

Dado que se puede suponer que la reacción de transesterificación fue exitosa, esta técnica nos permite visualizar la separación de los reactivos y productos de la reacción en función de sus propiedades de polaridad. En este caso, el aceite, presenta un bajo valor de R_f (factor de retención), mientras que el biodiésel, al ser menos polar, presenta un mayor valor de R_f . La observación de estas bandas separadas en la placa CCD nos proporciona una fuerte evidencia de que la reacción de transesterificación ha ocurrido exitosamente. De manera complementaria también se determinaron los RMN de protón de biodiésel (Figura 4) y de aceite (Figura 5)

Observando los espectros, es posible apreciar diferencias significativas en el conjunto de señales características. Ambos muestran señales en la región de hidrógenos vinílicos (5.34 ppm) por los protones en carbonos sp^2 . Sin embargo, las señales en la región de hidrógenos del glicerol (4-4.5 ppm) aparecen solo en el aceite, indicando que el glicerol se ha eliminado durante la transesterificación en el biodiésel. En la región de hidrógenos alfa (2.3 ppm), las señales se mantienen tanto en el aceite como en el biodiésel. Finalmente, el biodiésel presenta una señal característica a 3.8 ppm por los hidrógenos metoxilo en los ésteres metílicos, ausente en el aceite. Si bien el biodiésel ofrece ventajas ambientales y económicas como alternativa renovable al diésel convencional, su uso directo en motores sin las medidas adecuadas puede acarrear problemas. Esto se debe principalmente a las diferencias en las propiedades físicas y químicas del biodiésel en comparación con el diésel tradicional.

3.6 Caracterización del biodiésel

Una vez concluido el proceso de obtención de biodiésel, al producto final se le realizaron pruebas para determinar sus propiedades y con ello verificar su viabilidad para el uso como biocombustible, para ello se comparó con biodiésel petroquímico y con valores establecidos por Normas Europeas.



3.61 Índice de acidez

Los valores de acidez aparecen en la Tabla 1, donde se nota que los valores en este parámetro se encuentran dentro de los límites que marca la Norma EN 14214/07, ahora bien, es importante identificar a la acidez como un indicador de deterioro para el biodiésel, ya que, al incrementar el valor de acidez, el tiempo de envejecimiento del biodiésel será mayor, es decir se tendrá un producto más degradado. Asimismo, un valor alto de acidez propiciara sedimentos en el motor de combustión interna además de corrosión en materiales metálicos.

3.6.2 Índice de Yodo

El índice de yodo en las determinaciones para biodiésel mostrado en la Tabla 1, no solo se encuentra dentro de los valores requeridos por la Norma Europea EN 14212/07, si no que dista mucho del valor indicado como máximo (120 g I2/100 g muestra), y es que si se considera que el índice de yodo indica la cantidad de yodo que reacciona con los dobles enlaces que podría presentar el biodiésel, un valor alto en este valor nos indicaría una inestabilidad del producto, y dado esta cantidad de dobles enlaces la degradación sería más propicia por lo que el biodiésel obtenido sería poco viables para la generación de biocombustible.

3.6.3 Densidad

En la Tabla 1 se observa que la densidad para el biodiésel se encuentra dentro del intervalo establecido por la norma, pero debemos mencionar que la cantidad densidad depende de la cantidad de insaturaciones que presente el aceite, es por ello que cuanto menor sea el valor de densidad, existe menor cantidad de insaturación, pese a que la densidad del biodiésel es menor respecto a la del aceite dicho propiedad se encuentra muy cerca del valor máximo, por lo que es factor limitante y crítico.

3.6.4 Viscosidad

Tras la reacción de transesterificación lo que se busca en el valor de viscosidad cinemática es que dicho valor disminuya y con ello la oposición a fluir del biodiésel, específicamente para el aceite de calatola y el biodiésel que se obtuvo de dicha materia prima, el valor de viscosidad cinemática encontrado en la Tabla 1, si se vio disminuido considerablemente, aunque es notorio que el valor no entra en el intervalo permitido por la norma, esto puede deberse a que la reacción de transesterificación no está completa, por lo que los valores de viscosidad no disminuyeron suficiente porque aún se encuentran presentes proporciones de triglicéridos.

3.6.5 Entalpía de combustión

Los valores de las entalpías de combustión descritos en la Tabla 1, para el biodiésel que se obtiene del aceite de calatola es lo mínimo que indica la norma, se considera viable al biodiésel producido, además de intuir una buena eficiencia en el motor y un medio de formación de biocombustible viable.

Estos resultados confirman que la temperatura y la proporción de biodiésel en la mezcla tienen un impacto significativo en la viscosidad dinámica y cinemática, con tendencias claras que pueden ser utilizadas para optimizar el uso de biodiésel en diferentes condiciones de operación.

Tabla 1. Comparación de propiedades del biodiésel y diésel petroquímico

PRUEBA	Biodiésel Aceite de Calatola	Diésel Petroquímico	Normas Europea (EN 14214/07)
Índice de acidez (mg KOH/muestra)	0,48 ± 0,81	0.42±0.38	0,5 Max
Índice de Yodo (g I ₂ /100 g muestra)	47,99 0,5		120 Max
Densidad Relativa (g/cm ³)	0.8795	0.8167	0,860-0,900
Viscosidad (mm ² /s 20°C)	8,4803	3,2184	3,5-5
Entalpía de combustión (kJ/g muestra)	40,1812	46.03	39,99±0,18

3.7. Composición química del Biodiésel

Mediante cromatografía de gases, se determinó la composición en ácidos grasos del biodiésel. Los resultados, presentados en la Tabla 2, revelan un perfil lipídico caracterizado por una alta proporción de ácidos grasos insaturados ácido palmitoleico, ácido oleico ácido linoleico. En particular, el ácido oleico destaca como componente mayoritario. Los ácidos grasos saturados identificados incluyen palmitico, esteárico y nervónico, aunque en proporciones significativamente menores.

Tabla 2.- Composición de ácidos grasos en el aceite de semillas de calatola

Ácido graso	Composición en %
Palmítico	12.000
Palmitoleico	0,229
Esteárico	3,062
Oleico	54.668
Linoleico	14.233
Nervónico	4,063
Otros ácidos grasos	12

3.8. Mezclas Diesel-Biodiésel

Con el propósito de conocer el comportamiento del biodiesel obtenido se prepararon mezclas diésel-biodiesel en proporciones 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 y 50:50. A dichas mezclas se les determino, densidad, viscosidad cinemática y dinámica, entalpía de combustión, cuyos comportamientos se muestran en las figura 5, 6, 7 y 8 respectivamente, , que exponen el comportamiento de dichas mezclas.

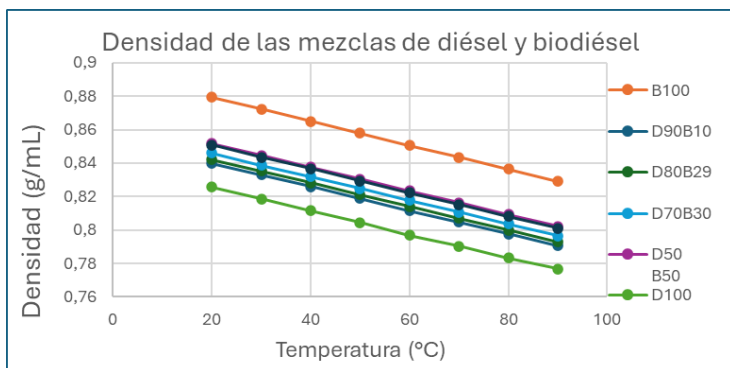


Figura 5: Efecto de la Temperatura en la Densidad de las mezclas diésel-biodiésel

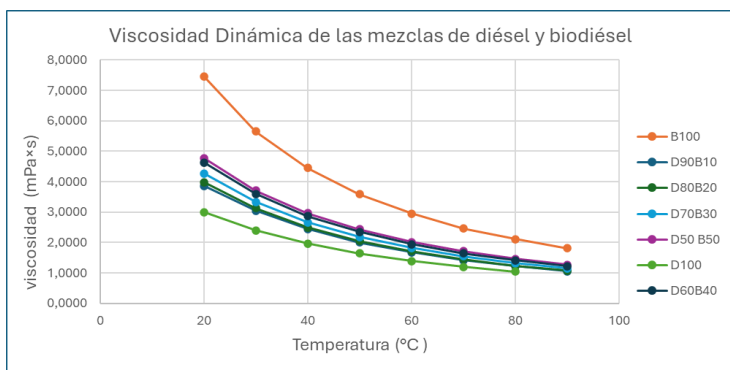


Figura 6: Efecto de la Temperatura en la Viscosidad cinemática de las mezclas diésel-biodiésel

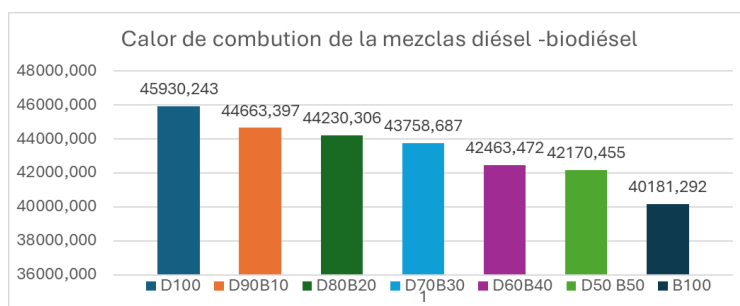
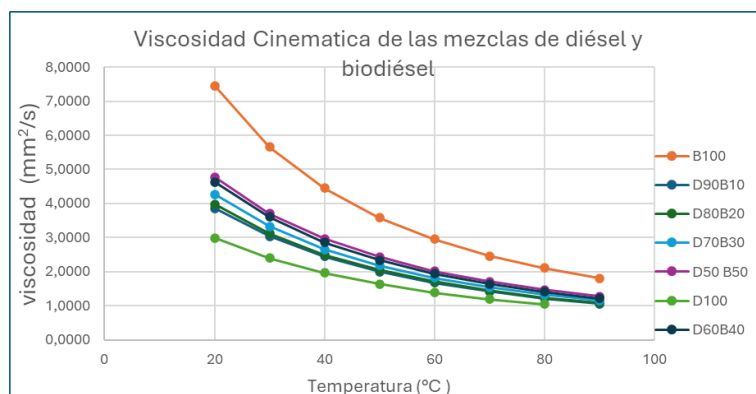


Figura 7: Calor de combustión de las mezclas diésel -biodiésel

Con base en las figuras 5 y 6 podemos notar que el comportamiento de densidad y viscosidad del biodiesel, diésel y las mezclas disminuye conforme se aumenta la temperatura, se puede observar también que cuando la proporción de biodiesel aumenta la densidad también es mayor, asimismo ambas propiedades tienen diferencias entre sí, es decir mientras que la densidad tiene un comportamiento lineal en el descenso de sus valores, las viscosidades disminuyen haciéndolo de forma asintótica. Ahora bien la finalidad de elaborar mezclas de combustibles radica en el aumento de su potencial térmico. la mezcla cuyas proporciones son 90:10 diesel, biodiesel respectivamente muestra valores que se encuentran dentro del rango establecido por la EN 590, asimismo dichos valores no distan significativamente de los obtenidos en el diésel petroquímico, como se muestra en la figura 7. Se debe considerar que el mayor valor de entalpía de combustión alcanzado en las mezclas de diesel:biodiesel está representado por las proporciones 90:10 con un valor de 44.66 kJ/g



asimismo es importante señalar que mayor cantidad de biodiésel en la mezcla el valor de la entalpía disminuye.

Estos resultados confirman que la temperatura y la proporción de biodiésel en la mezcla tienen un impacto significativo en la viscosidad dinámica y cinemática, con tendencias claras que pueden ser utilizadas para optimizar el uso de biodiésel en diferentes condiciones de operación.

Conclusión

En conclusión, el proceso de extracción y análisis del aceite de calatola reveló importantes consideraciones sobre su viabilidad como fuente de biodiésel. A pesar de los esfuerzos por maximizar el rendimiento a través de múltiples maceraciones, el bajo porcentaje de aceite recuperado (aproximadamente 2.8%) sugiere que la semilla de calatola no es un candidato ideal para la producción de biodiésel a gran escala. Adicionalmente, el pretratamiento logró reducir significativamente el porcentaje de ácidos grasos libres, permitiendo una transesterificación exitosa. Las mezclas de biodiésel con diésel convencional mostraron mejoras en las propiedades físicas, haciéndolas más adecuadas para aplicaciones en motores.

Referencias

- Alatorre, G., et al., (2015) Protocolos experimentales para la asignatura de Laboratorio de Tecnología de Alimentos. México, Ciudad de México, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, 24-25
- Aprovechamiento sustentable de las semillas de Guanábana (*Annona Muricata*) en la obtención de biodiésel. Tesis para obtener el título de Química de Alimentos, Facultad de Química, UNAM. 74-78.
- Association for Testing Materials (ASTM), Estandarization, (2009). Normas para el biodiesel [en línea]. Disponible en: http://www.astm.org/SNEWS/SPANISH/SPJF09/nelson_spjf09.html, ultimo acceso (27 de Mayo del 2016).
- Association of Official Agricultural Chemists. 1995, USA. Method: 925.09 (Humedad) y Method 920.159 (Índice de yodo).
- Atabani, A. E., Silitonga, A. S., Badruddin, I. A., Mahlia, T. M. I., Masjuki, H. H., y Mekhilef, S. (2012). A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(4), 2070-2093
- Bravo, F. J., (2014). Optimización del proceso de obtención de biodiésel a partir de aceite de cocina usado. Tesis para obtener el título de Químico, Facultad de Química, UNAM. 34-35 y 43-45.
- Demirbas, A. (2008). Biodiesel: A realistic fuel alternative for diesel engines. Springer-Verlag London. <https://doi.org/10.1007/978-1-84628-995-8>
- Enrique Riegelhaupt, Jorge Odenthal, Luis Janeiro (12 de Agosto de 2016) Diagnóstico de la situación actual del biodiésel en México y escenarios para su aprovechamiento Ecofys 2016 por orden de: Banco Interamericano de Desarrollo para SENER
- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. (2008). Volumen 1. Novena Edición, MGA 0001. Helwani Z, Othman M., Aziz N., Fernando W, Kim J. (2009).
- Howard, R. A., 1976, Flora of Panama, Icacinaeae. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 63: 399-41
- Cuatrecasas, J. (1949). Studies in South American plants. I. *Lloydia* 11: 185-225
- Knothe, G., Krah, J., & Van Gerpen, J. (Eds.). (2010). *The biodiesel handbook* (2nd ed.). AOCS Press.
- Meisam Tabatabaei Mortaza Aghbashlo "Biodiesel From Production to Combustion" (2019).
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2017, 11 de febrero). Impulsa SAGARPA producción de biocombustibles en México. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/impulsa-sagarpa-produccion-de-biocombustibles-en-mexico>



- Secretaría de Energía (2014) Con el objetivo de promover el desarrollo de biocombustibles en México, se llevó a cabo el Taller de Bioenergía Sustentable recuperado de <https://www.gob.mx/sener/prensa/con-el-objetivo-de-promover-el-desarrollo-de-biocombustibles-en-mexico-se-llevo-a-cabo-el-taller-de-bioenergia-sustentable>
- Technologies for production of biodiesel focusing on green catalytic techniques: a review. Fuel Process Tech, 90, 1502-1514. Juárez, G. H. (2012).
- United Nations Environment Programme. (2022). Global Electric Mobility Report 2022. Retrieved from <https://www.unep.org/resources/report/global-electric-mobility-report-2022>
- Verma P., Sharma M. P., (2016). Review of process parameters for biodiesel production from different feedstocks, Ren. Sust. Energ. Rev., 62, 1063- 1071.
- Villa García, M. (2015). Structure and absolute configuration of the 11-noriridoid “Chapingolode” (pp. 1417-1422). In HETEROCYCLES (Vol. 91).
- Zhang, Y., Chen X., Yu G., Zhou X. (2015). A physicochemical method for increasing methane production from rice straw: Extrusion combined with alkali pretreatment. Applied Energy, 51, 39-48.



Efecto de la temperatura de extracción sobre las propiedades funcionales y fisicoquímicas de la goma de semilla de chirimoya

Jairo Omar Ramírez-Rojas¹, Consuelo Silva Olivia Lobato-Calleros², José Alvarez Ramírez³, Landy Hernández-Rodríguez², Eleazar Aguirre Mandujano²

Mesa: 4. Química.

Resumen

Durante el procesamiento de la chirimoya (*Annona cherimola* Mill) se generan diversos subproductos agroindustriales, mismos que pueden ser fuente de biopolímeros y de esta manera ser incorporados a matrices alimentarias para su consumo. Una de las fracciones no comestibles, son las semillas, mismas que son una fuente de gomas de distintas índoles. Es importante señalar que algunas ventajas, en contraste con productos sintéticos, son las siguiente: son no tóxicas, biodegradables y biocompatibles. Es por ello por lo que los objetivos del presente trabajo fueron establecer los métodos de extracción de la goma contenida en las semillas de chirimoya (GC), así como evaluar diversas propiedades fisicoquímicas y funcionales. En este sentido, se contribuye al aprovechamiento de las semillas de chirimoya, que actualmente son un desecho agroindustrial, y sentar las bases para el uso de la GC a partir del conocimiento de sus propiedades tecnofuncionales. Para la extracción de la GC, se utilizaron semillas de chirimoya, las cuales fueron secadas previamente, molidas y tamizadas; subsecuentemente se extrajo la GC mediante una solubilización acuosa y precipitación con etanol al 96°. Posteriormente se procedió a determinar sus propiedades funcionales y fisicoquímicas. Se establecieron los métodos de extracción de GC a diferente temperatura: 70, 80 y 90 °C. Se espera que los conocimientos generados contribuyan al aprovechamiento de este residuo agroindustrial del cual sus propiedades funcionales y fisicoquímicas no han sido exploradas.

Palabras clave: *Annona cherimola*, color, goma de semilla de chirimoya, grado de pureza.

¹ Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo, Km 38.5 Carretera México-Texcoco, 56230, Texcoco, México. Correo: jairo.omar_jes@hotmail.com

² Departamento de Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Km 38.5 Carretera México-Texcoco, 56230, Texcoco, México. Correo: consuelobato@yahoo.com, eleagman@yahoo.com, landy14hr@yahoo.com.mx

³ Departamento de Procesos e hidráulica, Universidad Autónoma Metropolitana, Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina, Delegación Iztapalapa, 09340, Ciudad de México, México. jjar1963@gmail.com



Abstract

During the processing of cherimoya (*Annona cherimola* Mill), various agroindustrial by-products are generated, which can serve as sources of biopolymers and be incorporated into food matrices for consumption. One of the non-edible fractions is the seeds, which are a source of different types of gums. It is important to note that some advantages, in contrast to synthetic products, include being non-toxic, biodegradable, and biocompatible. Therefore, the objectives of this work were to establish extraction methods for the gum contained in cherimoya seeds (CG), as well as to evaluate various physicochemical and functional properties. In this sense, it contributes to the utilization of cherimoya seeds, which are currently an agroindustrial waste, and lays the groundwork for the use of CG based on an understanding of its techno-functional properties. For the extraction of CG, cherimoya seeds were used, which were previously dried, ground, and sifted; subsequently, CG was extracted through aqueous solubilization and precipitation with 96% ethanol. The functional and physicochemical properties were then determined. Extraction methods for GC were established at different temperatures: 70, 80, and 90 °C. It is hoped that the knowledge generated will contribute to the utilization of this agroindustrial waste, whose functional and physicochemical properties have not been explored.

Key words: *Annona cherimola*, glycofructan, cherimoya seed gum, extraction temperature

*Autor de correspondencia. Dirección: Km. 38.5, Carretera México-Texcoco, Texcoco 56230, México. E-mail: consuelobato@yahoo.com (Lobato-Calleros, C.)

1. Introducción

Las gomas de semillas de plantas (GSP) se han estudiado recientemente por sus características como biopolímeros emergentes, sus propiedades funcionales (espesante, ligante de agua, gelificante, estabilizante y emulsionante), así como su potencial de aplicación en la industria farmacéutica e industria alimentaria (Archana et al., 2013; Soukoulis et al., 2018). Además, las GSP son ampliamente disponibles, no tóxicas, biodegradables y biocompatibles (Avachat et al., 2011). De esta manera, las semillas de plantas procedentes de las industrias de procesamiento agroalimentario son una fuente interesante y económica de gomas con una amplia variedad de funciones útiles para la manufactura de productos de valor añadido (Chandra et al., 2018; Ravindran y Jaiswal, 2016).

La familia de plantas *Annonaceae* incluye alrededor de 130 géneros y 2,300 especies distribuidas principalmente en zonas tropicales y subtropicales (Quílez et al., 2018). La semilla de chirimoya es un subproducto de la industria de la pulpa de chirimoya. Dentro del género *Annona*, las especies que han alcanzado mayor desarrollo comercial son: guanábana (*Annona muricata* L.), chirimoya (*Annona cherimola* Mill) y saramuyo o anona (*Annona squamosa* L.) (Vidal et al., 2014). El uso de las gomas en la industria alimentaria es muy extenso: helados, confitería, jugos de fruta, cerveza, vinos, quesos, mermeladas, aderezos, embutidos, productos dietéticos, entre otros. En cada caso, las gomas desempeñan un papel muy característico, gracias a las propiedades funcionales que



desarrollan; estas últimas dependen de diversos factores, como: la concentración de la goma, las sales minerales en el medio, el pH, el uso individual o combinado de gomas (Badui, 2006).

Las gomas vegetales de uso generalizado son los galactomananos de semillas de guar y algarrobo europeo, los exudados de acacia y karayay, goma arábica y tragacanto, las de las algas, carragenanos y alginatos. Todas ellas son conocidas por sus aplicaciones tecnológico-alimentarias en todo el mundo (Mumtaz, 2019). La goma de semilla de chirimoya (GC) por su parte, se puede considerar como un biopolímero prometedor con posibles aplicaciones como estabilizante, espesante, agente de viscosidad, emulsionante, gelificante, vehículo de fármacos, retardante en la liberación de compuestos bioactivos y agente aglutinante en las industrias farmacéutica y de alimentos (Joseph et al., 2012; Mirhosseini y Amid, 2012).

Recientemente, la demanda de alimentos naturales por parte de los consumidores ha incentivado la búsqueda de fuentes alternativas de gomas alimenticias, una de esas fuentes puede ser las semillas. Las gomas así obtenidas deben ser caracterizadas para determinar sus posibles aplicaciones. En este contexto, que los objetivos del presente trabajo fueron establecer los métodos de extracción de la goma contenida en las semillas de chirimoya (GC), así como evaluar diversas propiedades fisicoquímicas y funcionales

2. Materiales y métodos

2.1 Materiales

Se utilizó como solvente de extracción alcohol etílico, pureza 96 % (Ferandelh, S.A. de C.V., Texcoco, Edo. México). Todos los reactivos utilizados fueron grado analítico y en todos los casos se utilizó agua destilada desionizada (ADD).

2.2 Material vegetal

Los frutos de chirimoya (*Annona cherimola*) se obtuvieron del Municipio de Ocuituco, Morelos, México (18° 52' 41" LN, 98° 46' 31" LO) y altitud media de 1933 m. Se cosecharon en estado de madurez fisiológica, considerando la firmeza, tamaño, color uniforme y ausencia de daños físicos.

2.3 Lugar de estudio

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Tecnología de Alimentos 2 del Departamento de Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco de Mora, Edo. México.

2.4 Diseño experimental

Los análisis se llevaron a cabo por triplicado de muestras independientes (media $\pm$ DE), usando un diseño experimental con arreglo completamente al azar en la composición química proximal.

2.5 Extracción de goma de semilla de chirimoya (GC)

Las semillas de chirimoya se retiraron manualmente de la pulpa, se lavaron con agua corriente y se desinfectaron con NaClO al 1% v/v. Posteriormente, esta fracción no comestible fue secada en



una estufa HCF-62 (Riossa Digital, Ciudad de México, México) a 40 °C, por 48 h y se almacenó en frascos transparentes cubiertos con papel aluminio para protegerla de la luz y el calor hasta su uso (Cardoso et al., 2016).

La goma de semilla de chirimoya fue sometida a tres procedimientos de extracción térmicos (Figura 1), partiendo de la almendra de la semilla desgrasada: la primera goma extraída a 70 °C (GC₇₀), la segunda a 80 °C (GC₈₀) y la tercera a 90 °C (GC₉₀).

La goma se extrajo mediante el método seguido por Alpizar et al. (2017), con ligeras modificaciones. Las almendras desgrasadas fueron pulverizadas en una licuadora mod. 465-15/13 2V, motor de 500 W (Osterizer, Sunbeam Mexicana, S.A. de C.V, Ciudad de México, México) durante dos lapsos de 1 min cada uno y después se sometieron a un segundo ciclo de trituración en un procesador de alimentos mod. NB-201, motor de 600 W (Nutribullet®, Marcas de Renombre, S.A. de C.V., Ciudad de México, México) durante intervalos de 20 s hasta completar 1 min. Posteriormente, la harina (HSC) se pasó a través de tamices tipo industrial del N° 20 con abertura de 0.840 mm (MONTINOX, Ciudad de México, México). La harina de semilla de almendra (HSA) se sometió a un análisis químico proximal, determinando humedad, proteína, extracto etéreo, fibra cruda, cenizas y carbohidratos (AOAC, 2002). Finalmente, la HSA fue almacenada en frascos de vidrio transparente cubiertos con papel aluminio para proteger de la luz y calor.

Las almendras se separaron manualmente de la testa de la semilla para su posterior trituración y molienda. Además, el polvo del grano se desgrasó en un equipo Soxhlet, utilizando hexano como solvente, a 70 °C durante 6 h.

La muestra (60 g) de polvo de almendra de semilla de chirimoya se colocó en un vaso de precipitados de 2 L y se añadió agua destilada en una proporción de 1:30 p/v. La mezcla resultante se homogeneizó en una parrilla magnética Mod. SP131635 (Thermo Scientific Cimatec™, Essex, Reino Unido) aplicando un nivel 9 de agitación, durante 10 minutos; se calentó a 70 °C durante 30 minutos y se dejó reposar a 20 °C durante 24 h para asegurar la liberación de la goma. La mezcla se agitó en una parrilla Mod. RO 15 P S1 (IKA-WERKE, GMBH & CO. KG, Staufen, Alemania) a 6 000 rpm durante 10 minutos. Posteriormente, el material no disuelto se eliminó con ayuda de una centrífuga Centrifuge 5810 R (Eppendorf, AG, Hamburgo, Alemania) a 10 °C durante 15 minutos a 524×g. La goma se precipitó del sobrenadante mediante la adición de etanol al 96 % v/v en una relación 1:3 v/v, aplicando agitación constante (5 000 rpm) durante 10 minutos y la mezcla se dejó reposar durante 2 horas a temperatura ambiente (20 ± 2 °C). Posteriormente, de la mezcla se decantó el sobrenadante para obtener el precipitado. El precipitado resultante fue secado a 35 °C durante 18 h (Bansal & Kumar, 2014) y se trituró con un mortero hasta obtener un polvo fino al cual se le denominó goma de semilla de chirimoya (GC₇₀).

Para el caso de las GC₈₀, GC₉₀ la muestra (60 g) de polvo de grano se procesó de la misma manera que se describió anteriormente para GC₇₀ modificando la temperatura de extracción a 80 °C y 90 °C hasta obtener GC₈₀ y GC₉₀, respectivamente.

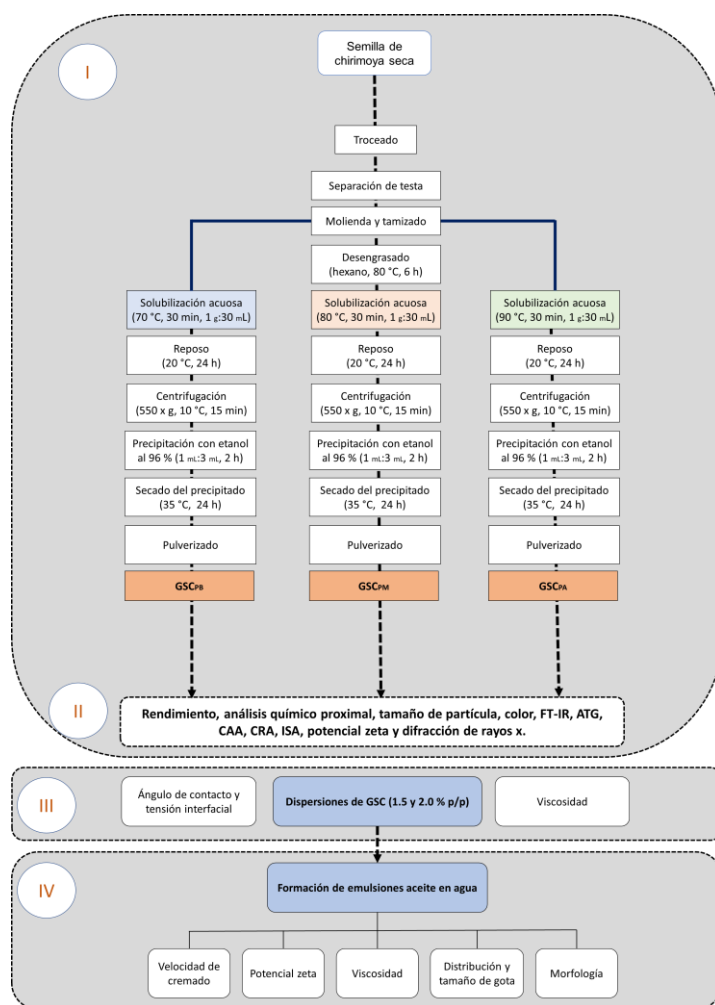


Figura 6. Proceso de extracción de la goma de semilla de chirimoya (GC) como función del grado de purificación.

2.6 Rendimiento de la GC

El rendimiento fue expresado como porcentaje de la cantidad de goma seca obtenida a partir de 100 g de semillas de chirimoya secas (Alpizar-Reyes et al., 2017), siguiendo la Ecuación (1).



$$\text{Rendimiento (\% p/p)} = \frac{\text{peso seco de goma (GSC) en g}}{\text{peso seco de semillas de chirimoya(SC) en g}} \times 100 \quad \text{Ec. 1}$$

2.7 Análisis químico proximal de GC

Se determinó contenido de humedad, extracto etéreo, cenizas, fibra cruda y proteína de la goma de semilla de chirimoya de acuerdo con los métodos estándar de la AOAC (2002): 925.23, 920.39, 945.46 y 920.105 respectivamente; el contenido de carbohidratos se realizó por diferencia.

2.8 Perfil de monosacáridos de GC

La composición de monosacáridos se determinó mediante un análisis cuantitativo utilizando cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), siguiendo la metodología de Rodrigues et al. (2016), pero en lugar de determinar la relación manosa-galactosa como en su caso, establecimos la relación glucosa-fructosa. Además, se cambiaron las condiciones de la etapa de hidrólisis, donde se realizó la hidrólisis con ácido sulfúrico a 100 °C durante 3 horas (Liyanage et al., 2015).

2.9 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Se registraron espectros infrarrojos con un espectrofotómetro FTIR CARY 630 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.), equipado con un accesorio universal de reflectancia total atenuada, utilizando el procedimiento descrito por Martínez-Velasco et al. (2018). Se colocaron muestras de GC (10 g) en contacto con el cristal de diamante, ajustando la geometría a una calibración de fuerza de 60 unidades. La absorbancia se registró en longitudes de onda de 4000 cm⁻¹ a 750 cm⁻¹ con una resolución de 4 cm⁻¹ y 64 escaneos.

Se determinó la actividad acuosa (Aw) a la goma, utilizando 1.5 g de muestra. El análisis se realizó mediante el instrumento para determinar el índice de agua libre Aqualab serie 3 (Decagon Devices Inc., WA, EE. UU.), previamente calibrado con agua desionizada. Durante la medición, la temperatura fue mantenida a 25 ± 1 °C (Sarabandi et al., 2014).

2.10 Perfil de aminoácidos

El perfil de aminoácidos de GC₈₀ sigue el procedimiento descrito por López-Monterrubio et al. (2020); los resultados se informaron en g por cada 100 g de GC.

3. Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizarán de acuerdo con el Diseño experimental propuesto y se someterán a análisis de varianza de clasificación simple, en casos pertinentes se realizará prueba de comparación de medias por el método de Tukey, el nivel de significancia se establecerá en $p \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizará con el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc., Cambridge, MA, EE. UU.).

4. Resultados y discusión

4.1 Rendimiento de extracción y composición química



El contenido de humedad de la CG varió del 6.06 al 7.34%, y la composición proximal se expresó en base seca (Cuadro 1). La composición química de la GC se vio afectada significativamente por la temperatura de extracción ($p \leq 0.05$). El rendimiento de la GC y el contenido de proteínas fueron mayores a 80 °C que a 70 o 90 °C, mientras que el contenido de carbohidratos mostró una tendencia inversa con respecto al contenido de proteínas. El rendimiento de la GC se situó dentro del rango reportado para la goma de semilla de *Lepidium perfoliatum* (10.83-28.60%) y fue superior al informado para la goma de semillas de lino (7.9%) (Cui et al., 1994).

Cuadro 1. Rendimiento y composición química de la goma de semilla de chirimoya.

	Goma de Semilla de chirimoya		
	CC ₇₀	GC ₈₀	GC ₉₀
Rendimiento (%)	20.58 ± 0.28 ^b	21.05 ± 0.04 ^a	18.35 ± 0.41 ^c
Cenizas (%)	6.87 ± 0.01 ^b	6.52 ± 0.00 ^c	7.06 ± 0.11 ^a
Proteínas (%)	70.14 ± 0.70 ^a	68.39 ± 0.32 ^b	65.84 ± 0.11 ^c
Grasa (%)	0.86 ± 0.01 ^c	1.51 ± 0.21 ^a	1.45 ± 0.11 ^b
Fibra cruda (%)	0.75 ± 0.00 ^b	0.72 ± 0.03 ^c	0.82 ± 0.00 ^a
Carbohidratos (%)	21.40 ± 0.70 ^c	22.86 ± 0.49 ^b	24.84 ± 0.33 ^a

Media ± desviación estándar. Los superíndices con letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). GC₇₀, GC₈₀, GC₉₀: goma de semilla de chirimoya extraída a 70, 80 y 90 °C, respectivamente.

4.2 Perfil de monosacáridos de GC

La composición de monosacáridos de CG₈₀ por cada 100 g, determinada por HPLC, fue: glucosa (8.69 ± 0.05), fructosa (8.23 ± 0.06), xilosa (5.65 ± 0.05), galactosa (3.64 ± 0.01) y manosa (3.36 ± 0.01). Estos resultados demostraron que GC es un heterobiopolímero que alberga monómeros ácidos y neutros. La xilosa, galactosa y manosa representaron los monómeros neutros, mientras que la glucosa y la fructosa se encuentran entre los monómeros ácidos. La glucosa es el componente principal (29.39%), seguida de la fructosa (27.89%), por lo que se puede considerar que CG tiene una estructura de glucofructano. La relación G/F fue de aproximadamente 1.05. Malafaia et al. (2015) informaron que la goma de *Allium ampeloprasum* var. *porrum*, considerada un glucofructano, tiene una relación G/F de 1.7. En este sentido, Qi et al. (2024) informaron que la administración in vitro del polisacárido de *Polygonatum sibiricum*, compuesto principalmente por fructosa y glucosa (F/G = 0.054), tuvo efectos positivos como prebiótico y regulador de la microbiota intestinal. Se ha informado que los glucofructanos se utilizan como sustitutos potenciales bajos en calorías y no cancerígenos en dulces, bebidas, carnes procesadas y productos lácteos (Chacón-Villalobos, 2006).

4.3 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Los espectros FTIR de las GC se muestran en la Figura 1. En general, la temperatura de extracción tuvo una influencia mínima en las bandas de transmitancia. La banda ancha centrada en 3273 cm^{-1} es característica de un anillo de carbohidratos y demuestra vibraciones de estiramiento de -OH (Dhull et al., 2020). Los picos estrechos alrededor de 2923 y 2852 cm^{-1} se deben a la resonancia de C-H (Rashid et al., 2018). El pico en 1745 cm^{-1} representa la región de estiramiento del grupo carbonilo (C=O) de la parte amida I (García-de la Rosa et al., 2023; Nevara et al., 2022). Picos intensos a 1623 cm^{-1} y 1524 cm^{-1} corresponden a las amidas I y II, respectivamente (Shehata et al., 2020; Trujillo-Ramírez et al., 2018), confirmando la presencia de proteínas en las gomas (Cuadro 1). Un pico agudo en 1390 cm^{-1} puede atribuirse a la flexión de -CH_2 . El pico en 1445 cm^{-1} corresponde a la vibración esquelética de C-C (Sudharsan et al., 2016). Se detectaron otras bandas de absorción características en el rango de $1200\text{-}950\text{ cm}^{-1}$, correspondientes a vibraciones de estiramiento de C-O (1050 cm^{-1}) en grupos alcohólicos y C-OH en grupos de carbohidratos (Alpizar-Reyes et al., 2017). Esta región sirve como una huella dactilar de carbohidratos, sensible a cambios conformacionales y configuraciones de polisacáridos (Vanloot et al., 2012). Además, Li et al. (2013) informaron que los picos alrededor de 3400 , 2900 , 1600 y 1050 cm^{-1} son características estándar que caracterizan a los polisacáridos.

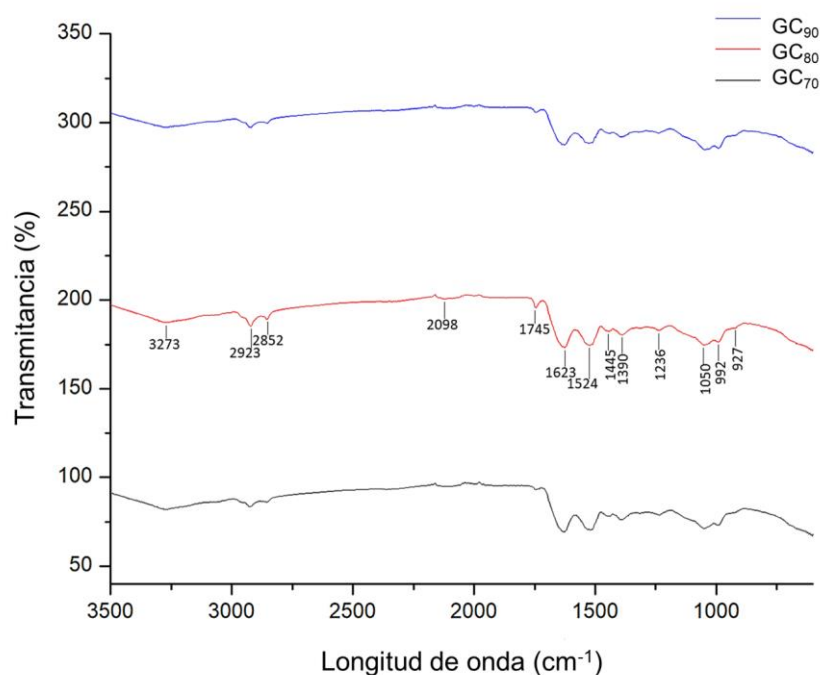


Figura 1. Espectros FTIR de goma de semilla de chirimoya extraída a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ (GC_{70}), $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (GC_{80}) y $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ (GC_{90}).



4.4 Perfil de aminoácidos

GC₈₀ tuvo altos contenidos de todos los aminoácidos esenciales (Cuadro 1). Los valores son más altos que los recomendados por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud/Universidad de las Naciones Unidas (FAO/OMS/UNU, 1985) para el consumo diario en adultos y para la mayoría de los aminoácidos en comparación con la quinua, excepto la treonina.

Cuadro 2. Composición de aminoácidos de CG₈₀ (g 100 g⁻¹ de goma).

Aminoácidos esenciales	Contenido (g 100 g ⁻¹)	Recomendación para el consumidor FAO/OMS/UNU ^x	Amaranto*	Quinua**
Isoleucina	5.67	1.3	2.8	0.8
Treonina	3.80	0.9	4.2	5.7
Valina	3.42	1.8	3.6	1.0
Fenilalanina + tirosina	7.23	1.9	5.8	2.7
Leucina	2.46	1.9	6.4	2.5
Lisina	2.32	1.6	5.0	2.4
Metionina + cisteína	2.63	1.7	1.7	0.4
Aminoácidos no esenciales				
Arginina	5.77	0.5	8.5	3.0
Ácido	5.64	1.8	18.1	8.8
Tirosina	4.49	0.5	2.3	1.2
Ácido	4.24	0.9	12.9	3.7
Serina	4.23	0.5	10.7	1.7
Histidina	1.85	n.n	n.dd	n.dd
Cisteína	1.77	n.dd	n.dd	n.dd
Asparagina	1.23	n.dd	n.dd	n.dd
Alanina	1.13	0.3	4.3	2.2
Glicina	n.d	0.2	11.4	3.0
Glutamina	n.d	n.dd	n.dd	n.dd



CG₈₀: goma de semilla de chirimoya extraída a 80 °C; n.d: no detectado; n.n: no necesario en adultos; n.dd: no disponible; *Requerimientos para adultos según la FAO/OMS/UNU (1985); *Pator et al (2007); **Escuredo et al (2014).

5. Conclusión

Se evaluó el efecto de la temperatura de extracción (70, 80 y 90 °C) en las propiedades de la goma de semilla de chirimoya. El rendimiento de la goma aumentó del 18.35 al 20.58% en base seca con la temperatura. GC₇₀ mostró el mayor contenido de proteínas, mientras que CG₉₀ tuvo el mayor de carbohidratos. Estas variaciones químicas resultaron en diferencias en propiedades fisicoquímicas, como el potencial ζ , el tamaño de partícula, y la capacidad de absorción de agua y aceite, lo que afectó la emulsificación y estabilidad de la goma en sistemas de aceite en agua. Los resultados sugieren que las propiedades y características de la goma pueden ser ajustadas al elegir una temperatura de extracción adecuada para aplicaciones específicas.

6. Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías, por el financiamiento otorgado para los estudios de Doctorado.

A la Universidad Autónoma Chapingo, al Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, al Departamento de Ingeniería Agroindustrial y al Departamento de Preparatoria Agrícola por las facilidades brindadas para la realización de esta investigación.

7. Literatura citada

Alpizar-Reyes, E., Carrillo-Navas, H., Gallardo-Rivera, R., Varela-Guerrero, V., Alvarez-Ramirez, J., & Pérez-Alonso, C. (2017). Functional properties and physicochemical characteristics of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed mucilage powder as a novel hydrocolloid. *Journal of Food Engineering*, 209, 68-75. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.021>

AOAC. (2002). Association of official analytical chemists. (18th ed.). Arlington: Association of Official Analytical Chemists. WA, DC.

Archana G., Sabina, K., Babuskin, S., Radhakrishnan, K., Fayidh, M. A., & Saravana, P. A. (2013). Preparation and characterization of mucilage polysaccharide for biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, 98 (1), 89-94. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.04.062>

Avachat, A.M., Dash, R. R., & Shrotriya, S. N. (2011). Recent investigations of plant based natural gums and mucilages in novel drug delivery systems. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 45, 86-89.

Badui, S. (2006). Química de los alimentos. Estado de México, México: Pearson Educación.

Bansal, J., & Kumar, N. (2013). Extraction and evaluation of tamarind seed polysaccharide as pharmaceutical *In situ* gel forming system. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 9(1), 1-5. <https://doi.org/10.5829/idosi.aejr.2013.9.1.8259>



Cardoso, P. M., Dariva, C., Barroso, G. Â., & Hense, H. (2016). Extraction and evaluation of antioxidant potential of the extracts obtained from tamarind seeds (*Tamarindus indica*), sweet variety. *Journal of Food Engineering*, 173, 116-123. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.11.001>

Chacón-Villalobos, A. (2006). Perspectivas agroindustriales actuales de los oligofructosacáridos (FOS). *Agronomía Mesoamericana* 17 (2), 265-286.

Chandra Mohan, C., Harini, K., Vajiha Aafrin, B., Lalitha priya, U., Maria jenita, P., Babuskin, S., Sudarshan, K., Renuka, V., & Sukumar, M. (2018). Extraction and characterization of polysaccharides from tamarind seeds, rice mill residue, okra waste and sugarcane bagasse for its biothermoplastic properties. *Carbohydrate Polymers*, 186, 394-401. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.01.057>

Cui, W., Mazza, G., Oomah, B. D., & Biliaderis, C. G. (1994). Optimization of an aqueous extraction process for flaxseed gum by response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 27, 363-369. <https://doi.org/10.1006/fstl.1994.1074>

Dhull, S., Sandhu, K., Punia, S., Kaur, M., Chawla, P., & Malik, A. (2020). Functional, thermal and rheological behavior of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) gums from different cultivars: A comparative study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159, 406-414. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.094>

Escuredo, O., Martín, M. I. G., Moncada, G. W., Fischer, S., & Hierro, J. M. H. (2014). Amino acid profile of the quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) using near infrared spectroscopy and chemometric techniques, *Journal of Cereal Science*, 60, 67-74. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.01.016>

García-de la Rosa, G., Lobato-Calleros, C., Hernández-Rodríguez, L., & Aguirre-Mandujano, E. (2023). Rheological and structural properties of complex coacervates of *Amaranthus hypochondriacus* protein-citrus pectin. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 22(1), 1-13. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Alim3003>

Joseph J., S. N. Kanchalochana, G. Rajalakshmi, V. Hari, & R.D. Durai. (2012). Tamarind seed polysaccharide: A promising natural excipient for pharmaceuticals. *International Journal of Green Pharmacy*, 6, 270-278. DOI: 10.4103/0973-8258.108205

Li, Q., Yu, N., Wang, Y., Sun, Y., Lu, K., & Guan, W. (2013). Extraction optimization of *Bruguiera gymnorrhiza* polysaccharides with radical scavenging activities. *Carbohydrate Polymers*, 96, 148-155. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.054>

Liyanage, S., Abidi, N., Auld, D., & Moussa, H. (2015). Chemical and physical characterization of galactomannan extracted from guar cultivars (*Cyamopsis tetragonolobus* L.). *Industrial Crops and Products*, 74, 388-396. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.013>

Lopez-Monterrubio, D. I., Lobato-Calleros, C., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2020). Huauzontle (*Chenopodium nuttalliae* Saff.) protein: Composition, structure, physicochemical and functional properties, *Food Hydrocolloids*, 108, 106043. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106043>



- Malafaia, C., da Silva, B., Tinoco, L., & Parente, J. (2015). Structural characterization and gastroprotective property of a novel glucofructano from *Allium ampeloprasum* var. *porrum*. *Carbohydrate Research*, 492, 44-49. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2014.10.022>
- Martínez-Velasco, A., Lobato-Calleros, C., Hernández-Rodríguez, B. E., Román-Guerrero, A.N., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2018). High intensity ultrasound treatment of faba bean (*Vicia faba* L.) protein: Effect on surface properties, foaming ability and structural changes. *Ultrasonic Sonochemistry*, 44, 97-105. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.02.007>
- Mirhosseini, H., & Amid, B. T. (2013). Effect of different drying techniques on flowability characteristics and chemical properties of natural carbohydrate-protein gum from durian fruit seed. *Chemistry Central Journal*, 7(1), 1-14. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-1>
- Mumtaz A., Ahmed, I., & Ahmad, N. (2019). Sources, structure, properties and health benefits of plant gums: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 46-61. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.05.103
- Nevara, G. A., Muhammad, S. K. S., Zawawi, N., Mustapha, N. A., & Karim R. (2022). Physicochemical and functional properties of carbohydrate-protein gum extracted from kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed. *International Journal of Food Science and Technology*, 57, 258-267. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15421>
- Pastor, J. R., Alaíz Barragán, M., Megías, C., & Vioque, J. (2007). *Caracterización proteica de las semillas de once especies de amaranto*, *Grasas y Aceites*, 58 (1), 49-55. ISSN: 0017-3495. <http://hdl.handle.net/10261/1510>
- Qi, Z., Gao, T., Li, J., Zhou, S., Zhang, Z., Yin, M., Hu, H., & Liu, H. (2024). Structural characterization and prebiotic potential of polysaccharides from *Polygonatum sibiricum*. *Food Science and Human Wellness*, 13(4), 2208-2220. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134068>
- Quílez, A. M., Fernández-Arche, M. A., García-Giménez, M. D., & De la Puerta, R. (2018). Potential therapeutic applications of the genus *Annona*: Local and traditional uses and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 225, 244-270. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.06.014>
- Rashid, F., Hussain, S., & Ahmed, Z. (2018). Extraction purification and characterization of galactomannan from fenugreek for industrial utilization. *Carbohydrate Polymers*, 180, 88-95. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.025>
- Ravindran R., & A. K. Jaiswal. (2015). Exploitation of food industry waste for high-value products. *Trends in Biotechnology*, 34(1), 58-69. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.10.008>
- Rodrigues, D. C., Cunha, A. P., Brito, E. S., Azeredo, H. M. C., & Gallão, M. I. (2016). Mesquite seed gum and palm fruit oil emulsion edible films: Influence of oil content and sonication. *Food Hydrocolloids*, 56, 227-235. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.12.018>
- Sarabandi, K., Peighambaroust, S. H., & Shirmohammadi, M. (2014). Physical properties of spray dried grape syrup as affected by drying temperature and drying aids. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 7, 928-934.



Shehata, M. G., Darwish, A. M. G., & El-Sohaimy, S. A. (2020). Physicochemical, structural and functional properties of water-soluble polysaccharides extracted from Egyptian agricultural by products. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(1), 21-27. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2020.05.004>

Soukoulis C., Gaiani, C., & Hoffmann, L. (2018). Plant seed mucilage as emerging biopolymer in food industry applications. *Current Opinion in Food Science*, 22, 28-42. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.004>

Sudharsan, K., Mohan, C. C., Babu, P. A. S., Archana, G., Sabina, K., Sivarajan, M., & Sukumar, M. (2016). Production and characterization of cellulose reinforced starch (CRT) films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 83, 385-395. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.037>

Vanloot, P., Dupuy, N., Guiliano, M., & Artaud, J. (2012). Characterisation and authentication of *A. senegal* and *A. seyal* exudates by infrared spectroscopy and chemometrics. *Food Chemistry*, 135, 2554-2560. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.125>

Vidal, H. L., López M., Vidal, N. A., Ruiz, B., Castillo, R., & Chiquito, C. (2014). La situación de las *Annonaceae* en México: principales plagas, enfermedades y su control. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36, 044-054.



Efecto del tostado sobre las propiedades fisicoquímicas y bioactivas en bebidas de café (*Coffea arabica* L.)

Parrado Muñoz, Lina Ximena¹; Guerra Ramírez, Diana²; Partida Sedas, José Gervasio³; Gutiérrez Guzmán, Nelson⁴

Mesa 4: Química.

Resumen

El café está catalogado como un alimento funcional debido a su contenido de compuestos bioactivos, como son los compuestos fenólicos y la composición nutricional. Esta investigación tiene como objetivo analizar el efecto del nivel de tostado de café sobre las propiedades fisicoquímicas y bioactivas de bebidas preparadas a base de granos verdes y con diferentes niveles de tostado. Se utilizaron muestras de café de Colombia, Veracruz y Puebla en México, como factor origen y cuatro tratamientos como segundo factor: Café verde (V), tueste bajo (T1), tueste medio (T2) y tueste alto (T3), para realizar extracción de bebidas (5.5 g de muestra en 100 ml de agua desionizada a 93°C por 10 min). Se determinó: análisis fisicoquímico, pH y sólidos solubles totales (°Brix); análisis proximal (%), materia seca, cenizas y proteína; contenido fenólico (mg GAE/mL) y capacidad antioxidante por FRAP y ABTS (umol ET/mL). Se identificó que cafés con tueste bajo y medio mostraron mayor contenido fenólico, mayor capacidad antioxidante, pH bajo, sólidos solubles totales altos y bajo contenido de: materia seca, ceniza y proteína, en comparación con los cafés del tueste alto y verdes, sin embargo, no mostró composición proximal baja de estos nutrientes. Lo que implica que el tueste bajo y medio contiene composición proximal y bioactiva alta en este estudio. Estos resultados son un avistamiento sobre el comportamiento bioactivo de los cafés estudiados aquí, y es el inicio de lo que implica la investigación detallada y profunda para cuantificar compuestos químicos funcionales.

Palabras clave: Análisis proximal, café tostado, café verde, capacidad antioxidante, fenoles, pH y sólidos solubles.

¹ Universidad Autónoma de Chapingo, Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C. P. 56230, MÉXICO.

² Universidad Autónoma de Chapingo, Preparatoria Agrícola, Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C. P. 56230, MÉXICO.

³ Universidad Autónoma de Chapingo, Centro Regional Universitario Oriente (CRUO), Carr. Huatusco-Jalapa Km 6, Huatusco, Veracruz, México,

⁴ Universidad Surcolombiana, Centro Surcolombiano de Investigación en Café (CESURCAFE), Carrera 5 23 40, Neiva, Huila, Colombia,

Correo: linaxparrado@gmail.com, Guerrard@correo.chapingo.mx, jcruczc@chapingo.mx, ngutierrezg@usco.edu.co



Abstract

Coffee is classified as a functional food due to its content of bioactive compounds, such as phenolic compounds and nutritional composition. This research aims to analyze the effect of coffee roasting level on the physicochemical and bioactive properties of beverages prepared from green beans and with different roasting levels. Coffee samples from Colombia, Veracruz and Puebla in Mexico were used as the origin factor and four treatments as a second factor: Green coffee (V), low roast (T1), medium roast (T2) and high roast (T3), to perform beverage extraction (5.5 g of sample in 100 ml of deionized water at 93 ° C for 10 min). The following were determined: physicochemical analysis, pH and total soluble solids (° Brix); proximal analysis (%), dry matter, ash and protein; phenolic content (mg GAE/mL) and antioxidant capacity by FRAP and ABTS (umol ET/mL). It was identified that low and medium roast coffees showed higher phenolic content, higher antioxidant capacity, low pH, high total soluble solids and low content of: dry matter, ash and protein, compared to high roast and green coffees, however, it did not show low proximate composition of these nutrients. This implies that low and medium roast contain high proximate and bioactive composition in this study. These results are a glimpse into the bioactive behavior of the coffees studied here, and it is the beginning of what involves detailed and in-depth research to quantify functional chemical compounds.

Keywords: Proximal analysis, roasted coffee, green coffee, antioxidant capacity, phenols, pH and soluble solids.

Introducción

Las especies de café son arbustos de hoja perenne que pertenecen a la familia Rubiaceae, la familia de plantas más grande del mundo que consta de 450 géneros y 6500 especies (Wiert, 2006). Un informe de la Organización Internacional del Café (OIC) muestra que la producción de café a nivel mundial en 2016 fue de aproximadamente 151 millones de sacos con un valor de exportación de veinte mil millones de dólares (ICO, 2016). El café verde se caracteriza por la presencia de granos claros y color verde. Sin embargo, cuando los granos se someten a un proceso de tostado, se produce un cambio en la concentración de sus compuestos bioactivos. Los granos de café verde son granos sin tostar que están enriquecidos con polifenoles. En los últimos años, los polifenoles se han convertido en uno de los componentes más prometedores para la industria de alimentos funcionales debido a las actividades biológicas. Se ha considerado que los polifenoles del café verde poseen efectos de pérdida de peso debido al ácido clorogénico. El café está catalogado como un alimento funcional de origen vegetal debido a su contenido de compuestos bioactivos (Drago *et al.*, 2006). Los ácidos clorogénicos son los principales compuestos fenólicos presentes en los granos de café (Clifford *et al.*, 2003). Al finalizar el proceso de beneficiado del café se obtienen el grano de café verde el cual se somete a un proceso de tostado para su consumo como bebida. El



objetivo de este trabajo es analizar el efecto del nivel de tostado del café sobre las propiedades fisicoquímicas y bioactivas de bebidas preparadas a base de granos verdes y con diferentes niveles de tostado. Esto permitirá a los consumidores elegir la bebida que cumpla, tanto con las características de sabor y contenido de compuestos bioactivos.

Materiales y métodos

Material vegetal

Nueve (9) muestras de café fueron obtenidas en café pergamino seco de tres regiones: Colombia (C1, C2, C3), Veracruz-México (H1, H2, H3) y Puebla-México (P1, P2, P3). Los granos de café fueron procesados aplicando 4 tratamientos: tres (3) niveles de tostado (T1, T2, T3) y uno (1) sin tostar (V).

Reactivos

Se utilizaron los siguientes estándares: Carbonato de sodio monohidratado ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$; Sigma-Aldrich, Co., USA; CAS: 5968-11-6; Peso Molecular: 124 g mol⁻¹; Pureza > 99.5%); ácido gálico (3, 4, 5-Trihydroxybenzoic acid; Sigma-Aldrich, Co., USA; CAS: 149-91-7; Peso Molecular: 170.12 g mol⁻¹, Pureza > 97.5%); Nitrito de Sodio (NaNO_2 ; Fermont, Monterrey; CAS: 7632-00-0; Peso Molecular: 69 g mol⁻¹; Pureza > 99.3%); Cloruro de Aluminio (AlCl_3 ; Fermont, Monterrey; CAS: 7784-13-6; Peso Molecular: 241.43 g mol⁻¹); Hidróxido de Sodio (NaOH ; Macron Fine Chemicals, Suecia; CAS: 1310-73-2; Peso Molecular: 40 g mol⁻¹); ácido Sulfúrico (H_2SO_4 ; Fermont, Monterrey; CAS: 7664-93-9; Peso Molecular: 98.07 g mol⁻¹, Pureza > 97.3%); glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$; Mallinckrodt, USA; CAS: 10043-52-4); Fenol ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$; Sigma-Aldrich, Co., USA; CAS: 108-95-2, Peso Molecular: 94.12 g mol⁻¹; Pureza > 99%); Tartrato de Sodio y Potasio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; Sigma-Aldrich, Co., USA, CAS: 6381-59-5; Peso Molecular: 282,22 g mol⁻¹; Pureza > 99%); Folin & Cicalteu's phenol reagent (Sigma-Aldrich Co., USA); Trolox ((±)-6-Hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethyl-chromane-2-carboxylic acid; Sigma-Aldrich, Co., USA; CAS: 53188-07-1; Peso Molecular: 250.28 g mol⁻¹; pureza > 97%); TPTZ (2, 4, 6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine; Sigma-Aldrich, Co., USA; CAS: 3682-35-7; pureza > 98%); Catequina ((+)-Catechin hydrate; Sigma-Aldrich, Co., USA; CAS: 22594-10-0; Peso Molecular: 290.27 g mol⁻¹; Pureza > 98%); ABTS ($\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2$; Roche Diagnostic GmbH, Alemania); Iron (III) (Sigma-Aldrich, Co., USA; CAS: 10025-77-1; Peso Molecular: 270.3 g mol⁻¹; Pureza > 97 %).

Caracterización fisicoquímica

Se prepararon bebidas a base de granos de café sin tostar y con tres niveles de tostado, mediante un proceso de extracción convencional, mezclando 5.5 g de en 100 mL de agua a 93°C durante 10 min. Después de enfriar, se determinó el pH (Potenciómetro digital PH700, Apera instruments, Columbus, OH, USA) y Sólidos Solubles Totales (Refractómetro digital ABBE®, Leica Mark II).



Análisis proximal

El análisis proximal se realizó en los granos molidos de café verde y tostados en base seca, mediante la metodología experimental de la AOAC (2016) por convección forzada.

Propiedades antioxidantes

En el extracto se determinaron el contenido de fenoles totales libres (Singleton y Rossi (1965). Asimismo, se evaluó la capacidad antioxidante mediante los ensayos ABTS (Re *et al.*, 1999) y FRAP (Benzie y Strain, 1996). Todas las muestras se analizaron por triplicado.

Análisis estadístico

Los resultados se evaluaron mediante un diseño completamente al azar con arreglo factorial y se presentaron como valores medios $\pm$ desviación estándar. Las diferencias entre los valores medios se establecieron mediante la prueba de Tukey. El nivel de significancia se basó en un nivel de confianza del 95% ($p \leq 0.05$).

Resultados y discusión

Sólidos solubles y pH

Los valores de pH y sólidos solubles totales encontrados para bebidas extraídas de granos de cafés verdes y tostados se presentan en la tabla 1. El pH mostró valores más altos en todas las bebidas de café verde frente a las muestras tostadas, con valores de 5.71 ± 0.03 , 5.68 ± 0.04 y 5.85 ± 0.10 para Colombia, Veracruz y Puebla respectivamente y entre ellas no presentaron diferencias estadísticas significativas. Sin embargo, se observa una variación significativa de pH debido al proceso de tostado, en cuanto inicia el proceso de tostado disminuye el pH y en tostados mayores también aumenta el pH en las bebidas, es decir, los valores de pH más bajos son los de tueste bajo, esto es posible debido a que durante el proceso de tostado tiende a aumentar la concentración de ácidos volátiles debido a la degradación de los azúcares y a la desecación del grano por acción de las altas temperaturas dentro de la tostadora (Freitas *et al.*, 2024). Posteriormente en el tostado medio y alto donde los granos fueron sometidos a mayor tiempo de tostado y mayores temperaturas dentro de la tostadora, se observa aumento del pH, debido a que la concentración de ácidos disminuye con el aumento de la temperatura por la descomposición de los ácidos clorogénicos (Badmos *et al.*, 2019). En todas las regiones de estudio se observa que no hubo cambios significativos de pH en el tueste bajo y medio pero el tueste alto si los presentó. También se observa el aumento de la temperatura de tostado y la consiguiente degradación de los ácidos, hace evidente estos resultados ya que se obtienen valores de pH más altos. Otras investigaciones reportaron resultados similares al obtener pH bajo en tostado suaves (Rune *et al.*, 2023).

Tabla 1. Composición fisicoquímica de bebidas de café verde y tostado.



Origen	Nivel de tostado	SST (°Brix)	pH
Colombia	T1	1.59 ± 0.11 ^b	4.76 ± 0.07 ^a
	T2	1.39 ± 0.04 ^a	4.82 ± 0.04 ^a
	T3	1.58 ± 0.04 ^b	5.15 ± 0.05 ^b
	V	2.01 ± 0.04 ^{efg}	5.71 ± 0.03 ^{de}
Veracruz, México	T1	1.90 ± 0.04 ^{cde}	5.26 ± 0.09 ^{bc}
	T2	1.82 ± 0.32 ^{cd}	5.38 ± 0.10 ^c
	T3	1.93 ± 0.04 ^{def}	5.72 ± 0.09 ^{de}
	V	2.1 ± 0.04 ^{fg}	5.68 ± 0.04 ^{de}
Puebla, México	T1	1.86 ± 0.08 ^{cde}	5.59 ± 0.20 ^d
	T2	1.72 ± 0.14 ^{bc}	5.64 ± 0.13 ^d
	T3	1.74 ± 0.04 ^{bc}	5.83 ± 0.21 ^e
	V	2.17 ± 0.04 ^g	5.85 ± 0.10 ^e
DMS		0.1872	0.1778

Columnas con medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

El contenido de sólidos solubles representa la concentración de azúcares, ácidos orgánicos y otros constituyentes menores (Clifford, 1979). En este estudio se reportó mayor contenido de sólidos solubles en café verde de las tres regiones, sin diferencias estadísticamente significativas entre sí, con valores de 2.01 ± 0.04 , 2.1 ± 0.04 y 2.17 ± 0.04 . Posteriormente se observó disminución de los sólidos solubles tras el inicio del proceso de tostado. Las bebidas extraídas del tostado bajo y medio presentaron menor contenido de sólidos solubles que en bebidas de café verde, esto se debe a que los sólidos solubles disminuyen con temperaturas de tostado más altas debido a la pérdida de componentes químicos durante el proceso de tostado a altas temperaturas (Murthy, P.K. y Kusumoto, 2019). Los cafés tostados en tuestes más oscuros tienen un menor contenido de sólidos solubles que los cafés de tuestes más claros, debido a la pérdida de ácidos orgánicos y a la volatilización de compuestos debido a la acción del calor durante el tostado (Mendonça *et al.*, 2005). Por último, se observó en muestras de tostado oscuro mayor contenido que los tostados bajo y medio debido posiblemente a la coloración oscura por producción de melanoidinas como consecuencia del pirólisis de los azúcares presentes en el café (Coelho *et al.*, 2014).



Análisis proximal: Materia seca, ceniza y proteína

Los valores de ceniza, materia seca y proteína de los granos de café molidos tostados y verdes se muestran en la tabla 2. La materia seca de los cafés varió entre 93.4 % y 93.06 % para cafés verdes y 96.35 % - 96.83 % para cafés tostados, se esperan valores de materia seca más bajos en cafés verdes. La ceniza de los cafés verdes estudiados varió entre 3.54 % a 3.76 % y los cafés tostados de 3.78 % a 4.02 en base seca, lo que significó un aumento de cenizas en el café tostado en comparación del café verde, sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre si ($p>5$). Resultados similares han sido demostrados por de Souza Costa *et al.*, (2024) con un contenido de cenizas que varió entre 4.34 % y 4.72 % para tuestes ligeros y oscuros respectivamente. Es importante comprender que las cenizas son compuestos inorgánicos y termoestables, y que a medida que otros compuestos se degradan cantidades elevadas, en los tuestes más oscuros, el contenido de cenizas va en aumento, ya que la masa final del grano molido es menor que en los tuestes más ligeros y en granos sin tostar (Hu *et al.*, 2019). El contenido proteico de los granos osciló entre 10.83 % y 14.41 %, se encontró para todas las regiones que los cafés tostados tenían mayor contenido de proteína que los cafés verdes con diferencias significativas ($p>5$) solo en cafés de Veracruz, resultados similares fueron reportados por Agunbiade *et al.*, (2022) Estas composiciones proximales revelaron que todos los granos de café tienen una buena composición nutricional, ninguna de ellas carece de ninguno de los nutrientes analizados.

Tabla 1. Análisis proximal de los granos de café tostados y verdes

Origen	Tratamiento	MATERIA SECA (%)	CENIZA (%)	PROTEÍNA (%)
Colombia	Tostado	96.35 ± 0.11 ^c	4.00 ± 0.02 ^a	11.84 ± 0.36 ^{ab}
	Verde	92.40 ± 0.04 ^a	3.76 ± 0.04 ^a	10.83 ± 0.31 ^a
Veracruz, México	Tostado	96.83 ± 0.04 ^d	4.02 ± 0.02 ^a	14.41 ± 0.66 ^c
	Verde	93.08 ± 0.32 ^b	3.73 ± 0.03 ^a	11.39 ± 2.06 ^a
Puebla, México	Tostado	96.71 ± 0.08 ^{cd}	3.78 ± 1.93 ^a	14.28 ± 0.01 ^{bc}
	Verde	93.06 ± 0.14 ^b	3.54 ± 0.01 ^a	13.29 ± 0.38 ^{abc}
DMS		0.42619	2.16541	2.51153

Columnas con medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p>0.05$)

Análisis de propiedades antioxidantes: Contenido de fenoles libres y capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante mediante las metodologías FRAP y ABTS se muestran en la figura 1. Se identificó mayor capacidad antioxidante en cafés con tueste bajo en comparación con las de

tueste alto. También se determinó que los cafés de Veracruz presentaron mayor capacidad antioxidante que las demás regiones.

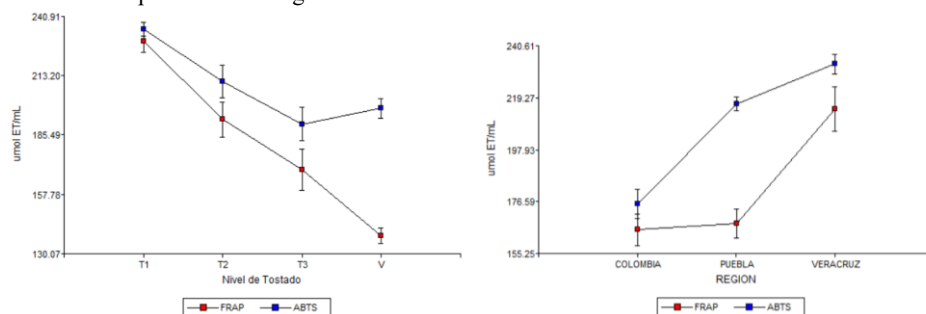


Figura 1. Capacidad antioxidación mediante FRAP y ABTS Para bebidas de café verde y tostados.

El contenido de fenoles para cafés verdes y tostados se representa en la figura 2. Las bebidas con tostado bajo y medio, contrastan con aquellas de tueste alto y de café verde, debido a que tuvieron las concentraciones más altas de fenoles totales.

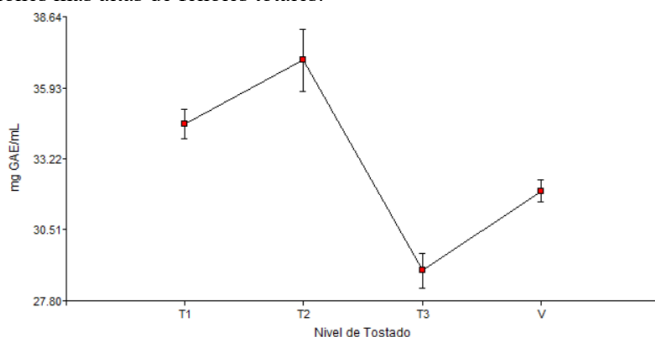


Figura 2. Contenido de fenoles para bebidas de café verde y tostados

El contenido fenólico en tuestes bajos es mayor que en los tuestes altos debido a la pérdida de compuestos fenólicos por el mayor tiempo y las altas temperaturas a las que es sometido el grano. Para el caso de los granos de café verde, las concentraciones bajas de compuestos fenólicos podrían ser explicadas por la presencia de diversos carbohidratos complejos como celulosa, hemicelulosa, almidón y pectina en la pared celular, actúan como barrera, reduciendo así la eficiencia de extracción bajo las condiciones convencionales en las que se realizó (Acosta *et al.*, 2014).

Conclusiones

Se logró identificar los contenidos de sólidos solubles totales, fenoles, cenizas, materia seca y proteína, así como la determinación de pH y capacidad antioxidante para los cafés verdes y tostados



de tres regiones. Es interesante ver el comportamiento de los cafés verdes y los cafés con tueste bajo, medio y alto, ya que el bajo Ph de tueste alto implicaría alto contenido de ácidos, principalmente el ácido clorogénico que dispone que estas mismas sean muestras con alto contenido fenólico y capacidad antioxidante. De la misma forma se puede ver que los altos contenido de sólidos solubles totales en cafés verdes implica menor contenido de materia seca debido a la pérdida de agua tras el proceso de tostado y bajo contenido de cenizas frente a cafés tostados mostrando incidencia directa por el tiempo y la temperatura que los cafés tostados tuvieron dentro de la tostadora. En general las composiciones revelaron que todos los granos y bebidas tienen una buena composición nutricional y bioactiva para cafés con tueste ligero y medio, ninguna de ellas carece de ninguno de los compuestos analizados.

La identificación de fenólicos, la capacidad antioxidante, el análisis fisicoquímico y proximal en granos y bebidas de cafés verdes y tostados permitirán entender de forma general el contexto a profundidad sobre la composición química, ya que a partir de esta primera parte podemos conocer de manera generalizada su comportamiento y entrar en una evaluación química de mayor criterio para identificar ganancia y pérdida de compuestos de interés debido a los niveles de tostado, como son los ácidos clorogénicos, la cafeína, la trigonelina y los diterpenos que influyen significativamente en muchas de las propiedades funcionales y antioxidantes de la bebida. Esta investigación nos permitió comprender el estatus generalizado de las bebidas frente a los análisis estudiados aquí, y permitirá abordar con mayor seguridad en otros aspectos a profundidad permitiendo cuantificar compuestos químicos funcionales para predecir que tan saludable es el consumo del café con diferentes metodologías de tostado que podría ser aplicado de manera industrial, y además identificar factores como región y formas de cultivo que hacen parte de este estudio complejo y delicado en la búsqueda de alimentos más saludables.

Literatura citada

1. Acosta Estrada, B.A, Gutiérrez Uribe, J.A y Serna Saldívar, S.O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, 152. pp. 46-55.
2. Agunbiade, H.O., Fagbemi, T.N., y Aderinola, T.A. (2022). Antioxidant properties of beverages from graded mixture of green/roasted coffee and hibiscus sabdariffa calyx flours. *Applied Food Research*. 2 (2). doi.org/10.1016/j.afres.2022.100163
3. Benzie IFF y Strain JJ (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239(1): 78-93.
4. Clifford, M., Johnston, K., Caballero, S., Kuhnert, N. (2003). Hierarchical scheme for LC-MSn identification of chlorogenic acids. *J. Agric. Food Chem.* 51. Pp. 2900-2911.
5. Coelho, C. y Ribeiro, M. (2014). Nature of phenolic compounds in coffee melanoidins, *J. Agric. Food Chem.* 62, Pp.7843–7853.



6. de Souza Costa, A.M., Soares, A.L., de Souza Silveira, L., Verdin. F.A., Louzada, P., Moreira, O.V., Fronza, M. y Scherer, R. (2024). Influence of maturation and roasting on the quality and chemical composition of new conilon coffee cultivar by chemometrics. 176. doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113791
7. Drago Serrano, M.E, López López, Marisol y Saínz Espuñes, T.R. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 37(4). Pp. 58-68.
8. Freitas, V.V., Rodrigues B.L.L., Días, C.G.A, Almeida, L.F., Crepalde, L.T., dos Barros Kobi, H., Teixeira, R.V.M.C., dos Santos, M.H., Fernandes, S.A., Maitan-Alfenas, G.P., Stringheta, P.C. (2024). Influence of roasting levels on chemical composition and sensory quality of Arabica and Robusta coffee: A comparative study. Food Bioscience. 59. doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104171
9. Hu, G.L., Wang, X., Zhang, L. y Qiu, M.H. (2019). The sources and mechanisms of bioactive ingredients in coffee Food & Function, 10 (6). pp. 3113-3126, doi.org/10.1039/C9FO00288J
10. Kubola J y Siriamornpun S (2011) Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). Food Chemistry. 127 (3): 1138-1145.
11. Mendonça, L. M. V. L., Pereira, R. G. F. A., & Mendes, A. N. G. (2005). Parametro bromatologicos ´ de grãos crus e torrados de cultivares de café (*Coffea arabica* L.). Food Science and Technology, 25, 239–243. doi.org/10.1590/S0101- 20612005000200009
12. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A et al (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization. Free Radical Biology and Medicine 26(4): 45-65.
13. Singleton VL y Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Australian Journal of Enology and Viticulture 16(3): 48-56.



La química computacional como una herramienta de apoyo al trabajo experimental de la Química orgánica

Lino Joel Reyes Trejo¹, María Inés Nicolás Vázquez², Benito Reyes Trejo³, Sara Suárez Torres¹

Mesa 4: Química.

Resumen

El uso de la Química computacional en la química orgánica ofrece varios beneficios pedagógicos, como capacidad de predecir y explicar estructuras químicas desde el punto de vista geométrico y energético, así como la posibilidad de racionalizar su reactividad y explorar sus propiedades moleculares. El objetivo de esta propuesta es elaborar un manual que facilite el desarrollo de las habilidades mínimas necesarias para la utilización de las herramientas computacionales. Se han impartido varios talleres empleando parte de este material, resultando de interés para el profesorado, quienes encuentran ventajas de visualizar las moléculas y manejarlas de forma interactiva. Se presenta como ejemplo una práctica donde los alumnos deben calcular y analizar la relación del área superficial molecular con el punto de ebullición de una serie homóloga de alcanos. Como alternativa, puede visualizar los resultados obtenidos en un reservorio de archivos (AMYD, FQ). Esto con el propósito de darle prioridad al análisis de resultados.

Palabras clave: Química computacional, Química experimental, aprendizaje activo

Abstract

The use of Computational Chemistry in organic chemistry offers several pedagogical benefits, such as the ability to predict and explain chemical structures from a geometric and energetic point of view, as well as the possibility of rationalizing their reactivity and exploring their molecular properties. The aim of this proposal is to elaborate a manual that facilitates the development of the minimum skills necessary for the use of computational chemistry. Several workshops have been given using part of this material, being of interest to teachers, who find advantages of visualizing the molecules and handling them interactively. As an example, a practice is presented where students must calculate and to analyze the relationship of the molecular surface area with the boiling point of a homologous series of alkanes. Alternatively, they can view the results obtained in a file pool (AMYD, FQ). This is for the purpose of giving priority to the analysis of results.

Keywords: Computational chemistry, Experimental chemistry, active learning

Introducción

Si bien el laboratorio de Química es un lugar ideal para el aprendizaje de muchos conceptos y procedimientos, el uso tradicional del laboratorio, basado en la realización de prácticas con receta

¹ Facultad de Química, Departamento de Química Orgánica, Universidad Nacional Autónoma de México, C.P. 04510 Mexico City, Mexico. linoj23@yahoo.com.mx; miztisuares@gmail.com

² Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlan 54740, Estado México, México. nicovain@yahoo.com.mx

³ Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México- Texcoco km 38.5, Chapingo, 56230, Texcoco de Mora, Estado de México. benijovi@yahoo.com.mx



donde el estudiante sigue fielmente las indicaciones escritas en un guion, se desaprovecha el potencial de este importante recurso (Arias y Peralta, 2011). La metodología seguida, muy estructurada y rígida, no da lugar a la construcción de nuevos conocimientos en los estudiantes y produce, como consecuencia negativa, reforzar el aprendizaje memorístico y la disociación entre teoría y práctica. Desde hace más de 50 años se realiza esta actividad, de la misma forma, con algunos esfuerzos aislados para salir de esta rutina, pero sin algún cambio sustancial (Silva, y Maturana 2017). Esto es justificado por el problema del aumento de la matrícula sin el aumento de nuevos espacios. Adicionalmente, el tiempo para realizar cada práctica, solo permite su realización experimental, sin dar espacio al análisis de la información obtenida y mucho menos relacionarla con los conceptos teóricos de la química (Unesco, 2004). Desde hace tiempo la Química y otras ciencias hacen uso de recurso tecnológicos tanto de software como de hardware para obtener nuevo conocimiento, a esta herramienta se la llama Química computacional (QC) o Modelado molecular (Esselman y Hill. 2016). Esta herramienta puede ser útil en mostrar a los alumnos, fenómenos inobservables a simple vista, permitiendo con esto un mejor entendimiento de los conceptos de la química impartidos en el salón de clases y en el laboratorio. Para lograr lo anterior, se han empleado programas como: Spartan, Gauss View, Gaussian y Chem Draw (Young, 2001). Estos programas y otros son herramientas de las tecnologías de la información y la comunicación (TIC) que hacen posible la visualización de estructuras moleculares para realizar el análisis de parámetros químicos, como la distribución de carga, los mapas de potencial electrostático y el estudio de reacciones en general (Tuvi-Arad, 2022). La presente propuesta pretende resolver el problema planteado elaborando un manual de experimentos para capacitar a estudiantes y profesores en el uso de los diferentes métodos de la química computacional y puedan disponer de las herramientas necesarias para interpretar más eficazmente sus datos experimentales obtenidos en el laboratorio.

Materiales y métodos

El manual propuesto para integrar la química computacional al laboratorio de química orgánica está planteado en función de la mayoría de las actividades del manual de prácticas del Laboratorio de química orgánica, donde se incluyen las operaciones básicas para aislar y purificar sustancias orgánicas, así como ejemplos de sus reacciones, útiles en la síntesis de compuesto sencillos.

Las prácticas de Química orgánica computacional incluidas en el manual propuesto son las siguientes: Práctica 1 Empleando Gauss View en la construcción de moléculas de compuestos orgánicos en 3D, Práctica 2. Propiedades físicas y descriptores moleculares, Práctica 3. Obtención del espectro de IR del ácido acético empleando Gaussian, Práctica 4. Obtención del espectro de RMN del ácido fenoxiacético empleando Gaussian, Práctica, 5. Análisis conformacional de alcanos y cicloalcanos empleando mecánica molecular, Práctica 6. Cargas atómica y acidez de ácidos carboxílicos, Práctica 7. Bromación de alquenos. Obtención de su perfil de energía, Práctica 8. Reacción SN2 mecanismo y actividad, Práctica 9. Reacción E2 mecanismo y reactividad, Práctica 10. Reacciones de Sustitución Electrofílica Aromática reactividad y selectividad, Práctica 11 Dienófilos en la reacción de Diels-Alder. Orbitales Homo y Humo, Práctica 12. Esterificación de ácidos carboxílicos. Mecanismo.

Estas prácticas se efectuarán empleando Gaussian 03 (cálculos mecano-cuánticos) y los visulizadores GaussView y Spartan (contiene Mecánica molecular).



Se organizan e imparten talleres de introducción a la Química computacional para capacitar a alumnos y profesores. Esta actividad es útil para y adaptar lo mejor posible los protocolos de las prácticas, nivel de complejidad y duración de la actividad.

Se realizan actividades de análisis de resultados experimentales apoyados por descriptores cuánticos y no cuánticos calculados mediante Gaussian 03 y Gaussview, así como la obtención teórica de espectros de UV, IR y RMN.

Al principio del semestre, se imparte a los alumnos un taller de dos horas empleando las prácticas del manual propuesto. Durante el mismo semestre, se plantea un procedimiento computacional con Gaussian y otros programas para generar descriptores cuánticos (en su mayoría) que ayuden a explicar algunos datos experimentales de cada práctica.

Resultados y discusión

En la Facultad de Química, UNAM, se han impartido a la comunidad, talleres introductorios para la comprensión de los fundamentos de la Química computacional; los comentarios de los asistentes consideran los cursos muy novedosos y útiles para la enseñanza de la Química. Otra idea expresada está relacionada con las ventajas de visualizar las moléculas y manejarlas de forma interactiva, el poder realizar una comparación de datos experimentales con teóricos, facilitando el aprendizaje de conceptos difíciles como la electrofilia o nucleofilia.

Del manual propuesto se presenta como ejemplo la práctica computacional: “Propiedades físicas y descriptores moleculares”. Donde, por ejemplo, el alumno calcula y analiza la relación del área superficial molecular con el punto de ebullición de una serie homóloga de alcanos. Si bien el alumno conoce el procedimiento para obtener el área superficial de una molécula empleando el programa Spartan, los puede visualizar en un reservorio de archivos (AMYD, FQ). Ya sea en tablas o los puede obtener al abrir los archivos obtenidos por cálculo, empleando los programas de visualización. Con lo anterior efectúa el análisis de sus resultados experimentales empleando descriptores cuánticos y no cuánticos. En la Tabla 1 se presentan los puntos de ebullición de una serie homóloga de alcanos con sus respectivas áreas superficiales.

Se incluyen preguntas como: ¿Se observa alguna correlación entre el área superficial y el punto de ebullición en los alcanos?, ¿Debería observarse alguna correlación? Explique.



Tabla 1. Punto de ebullición y área superficial molecular de varios alcanos

Compuesto	Punto de eb. (°C)	Área Superficial (Å ²)
<i>n-Alcanos</i>		
<i>Etano</i>	-88.6	72.12
<i>Propano</i>	-42.1	92.18
<i>Butano</i>	-0.5	112.25
<i>Pentano</i>	36.1	132.31
<i>Hexano</i>	69	152.36
<i>Heptano</i>	98.4	172.42
<i>Octano</i>	125.7	192.48
<i>Nonato</i>	150.8	212.53
<i>Decano</i>	174.1	232.59

Conclusiones

La elaboración de un manual de experimentos de Química computacional facilita la preparación de maestros y alumnos para el desarrollo de las habilidades mínimas necesarias para la utilización de los conceptos de esta disciplina orientados al estudio de estructuras moleculares y la estimación de sus propiedades físicas y químicas, así como el estudio de la reactividad y selectividad de las reacciones orgánicas. De esta manera, el manual es de gran ayuda en el uso de la Química computacional para el análisis de los resultados experimentales obtenidos en las asignaturas de química orgánica, incluyendo el desarrollo experimental de las investigaciones realizadas en el trabajo de tesis.

En general, un gran número de instituciones carecen de programas de la Química computacional y de personal especializado de apoyo que les permita abordar sus tareas de docencia e investigación empleando esta valiosa herramienta. La Facultad de Química, UNAM, no presenta este problema, sin embargo, existe desinterés en la mayoría del profesorado, donde continúa la idea de que la química solo se realiza en la mesa de trabajo.

Referencias

- Arias, Roberto y Peralta, Helga. (2011). La enseñanza, una puerta para la complejidad y la crítica. Estudios pedagógicos, 37(1), 293-302.
- Esselman, B. J. & Hill, N. J. (2016). Integration of Computational Chemistry into the Undergraduate Organic Chemistry Laboratory Curriculum . J. Chem. Educ. 93, 932–936
- Silva Quiroz, J. y Maturana Castillo, D. (2017). Una propuesta de modelo para introducir metodologías activas en educación superior Innovación Educativa, vol. 17, núm. 73, enero-abril, pp. 117-131 Instituto Politécnico Nacional Distrito Federal, México



Tuvi-Arad, I. (2022). Computational Chemistry in the Undergraduate Classroom– Pedagogical Considerations and Teaching Challenges. *Isr. J. Chem.* 2022, 62, e202100042 (2 of 9)

UNESCO (2004): Las tecnologías de la información y la comunicación en la formación docente. Paris, FR: Informe UNESCO

Young, David C. (2001). Computational Chemistry. (A practical Guide for Applying Techniques to Real-World Problems). Wiley-Interscience a John Wile & Sons, Inc.



Propiedades fisicoquímicas, estructurales y digestibilidad de almidón de maíz cacahuacintle modificado con OSA

**Diana Edith López-Vázquez¹, Alberto Ramos Rodríguez², Eleazar Aguirre-Mandujano²,
Consuelo Lobato-Calleros², Landy Hernández-Rodríguez²**

Mesa 4: Química.

Resumen

El maíz cacahuacintle, dada su diversidad genética y condiciones agroecológicas particulares, presenta un almidón nativo con características únicas. En este estudio, se evaluó el impacto de la modificación química con anhídrido octenil succínico (OSA) sobre las propiedades fisicoquímicas, estructurales y digestibilidad del almidón de maíz cacahuacintle. Los resultados obtenidos, respaldados por análisis de FTIR y microscopía, demostraron que la modificación con OSA redujo significativamente la susceptibilidad del almidón a la hidrólisis enzimática, incrementando la proporción de almidones de lenta digestión y resistente. Además, se observaron cambios en las propiedades reológicas de las pastas de almidón. Estos hallazgos posicionan al almidón de maíz cacahuacintle modificado con OSA como una fuente novedosa de ingredientes funcionales para la industria alimentaria, con aplicaciones potenciales en alimentos que requieren una baja digestibilidad.

Palabras clave: maíz cacahuacintle, modificación química OSA, propiedades reológicas, almidón resistente.

Abstract

Cacahuacintle maize, given its unique genetic diversity and specific agro-ecological conditions, presents a native starch with distinctive characteristics. This study evaluated the impact of chemical modification with octenyl succinic anhydride (OSA) on the physicochemical, structural, and digestibility properties of cacahuacintle corn starch. Results obtained, supported by FTIR and microscopy analyses, demonstrated that OSA modification significantly reduced the starch's susceptibility to enzymatic hydrolysis, increasing the proportion of slowly digestible and resistant starch. These modifications are attributed to the hydrophobic interactions induced by OSA, which hinder the access of enzymes to the amylose and amylopectin chains. Additionally, changes in the rheological properties of starch pastes were observed. These findings position OSA-modified cacahuacintle maize starch as a novel source of functional ingredients for the food industry, with potential applications in foods requiring low digestibility.

Keywords: cacahuacintle maize, OSA chemical modification, rheological properties, resistant starch.

¹ Universidad Autónoma Chapingo, Doctorado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C. P. 56230, México.

² Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Preparatoria Agrícola. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C. P. 56230, México.
Corre: dianae.lopez.vazquez@gmail.com, intiar@hotmail.com, eleagman@yahoo.com, consuelobato@yahoo.com,
landy14hr@yahoo.com.mx.



Introducción

El maíz (*Zea mays* L.) originario de América Latina, es un pilar fundamental para la seguridad alimentaria mundial, especialmente en regiones como África, Sudeste Asiático y América Latina. Las razas nativas de maíz, caracterizadas por su gran diversidad genética, son cultivadas por pequeños agricultores mediante sistemas agrícolas tradicionales. La conservación de estas variedades de maíz es de extrema importancia, ya que contienen la mayor parte de la diversidad genética de este cultivo, lo que es esencial para afrontar los desafíos globales como el cambio climático y la pérdida de biodiversidad (Guzzon et al., 2021).

En los últimos años, ha surgido una creciente demanda por alimentos producidos de manera sostenible y que respeten la diversidad cultural, esta tendencia ha impulsado el interés en variedades locales como el maíz cacahuacintle. Este maíz, caracterizado por su grano de gran tamaño y textura harinosa, es un ingrediente clave en la elaboración de platillos tradicionales como el pozole. Su alto contenido de almidón, que alcanza aproximadamente 70 %, lo posiciona como una materia prima prometedora para la industria alimentaria, especialmente en la producción de almidón, lo que amplía sus aplicaciones y genera nuevas oportunidades en las regiones donde se cultiva (Téllez-Silva et al., 2016).

El almidón es un componente importante en diversas industrias, tanto alimentaria como no alimentaria, por su bajo costo y versatilidad. Se almacena en las plantas en forma de gránulos y está compuesto por amilosa, una molécula lineal, y amilopectina, que es ramificada (Altuna et al., 2018; Khurshida et al., 2021). No obstante, los almidones nativos presentan ciertas limitaciones, como su propensión a la retrogradación, alta viscosidad, baja estabilidad térmica, y limitada resistencia a la congelación y descongelación. Para superar estos inconvenientes, se ha recurrido a la modificación del almidón, mejorando sus propiedades funcionales (Basilio-Cortés et al., 2019).

Las modificaciones pueden realizarse mediante técnicas físicas, químicas o enzimáticas, cada una dirigida a mejorar las propiedades tecnológicas y nutricionales del almidón (Bajaj et al., 2019). Entre las técnicas físicas se encuentran el tratamiento de calor-humedad y la congelación-descongelación, mientras que las químicas incluyen la esterificación y oxidación, y las enzimáticas abarcan la ramificación y la hidrólisis (Obadi et al., 2023).

Una técnica destacada es la esterificación con anhídrido octenil succínico (OSA), que mejora las propiedades emulsionantes y anfífilas del almidón al sustituir los grupos hidroxilo por componentes hidrofóbicos (Lopez-Silva et al., 2020). El almidón modificado con OSA también incrementa la fracción de almidón resistente, estabiliza emulsiones mediante el mecanismo "Pickering" y permite la creación de películas comestibles, mostrando importantes aplicaciones en la industria alimentaria (Altuna et al., 2018; Zhou et al., 2023).

Por lo tanto, el objetivo de este estudio es evaluar las propiedades fisicoquímicas, morfológicas, estructurales y reológicas del almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado con anhídrido octenil succínico (MC_{OSA}), así como su efecto sobre la digestibilidad *in vitro*.



Materiales y métodos

Se obtuvieron granos de maíz cacahuacintle (*Zea mays* L.) de un productor local de la comunidad de Calimaya, Estado de México, con coordenadas GPS de 17° 40' 00" N y 97° 20' 00" O y una elevación sobre el nivel del mar de 2511 m. Los reactivos como ácido clorhídrico (HCl), hidróxido de sodio (NaOH) y acetona, fueron adquiridos de J.T. Baker (Xalostoc, Estado de México, México). El anhídrido octenil succínico (OSA), el ácido dinitrosalicílico y la α -amilasa pancreática (30 U·mL⁻¹) se adquirieron de Sigma Aldrich (St Louis, MO, EE. UU.). El agua utilizada en todos los experimentos desionizada.

Extracción de almidón de maíz cacahuacintle

El almidón de maíz cacahuacintle (MC) se extrajo a partir de granos de maíz siguiendo el método de Mir et al. (2017) con modificaciones. Los granos se sumergieron en metabisulfito de sodio al 0.16% durante 24 h, se lavaron, molieron y tamizaron. Luego, se agitó con una solución de NaOH al 0.2% por 4 h. Tras varios lavados hasta alcanzar un pH de 7, la mezcla se centrifugó (5810R, Eppendorf, Hamburgo, Alemania) a 5000 × g durante 10 min. Finalmente, el almidón fue secado en una estufa (HCF-62, Riossa Digital, Puebla, México) a 40 °C durante 24 h.

Modificación del almidón MC con OSA, grado de sustitución y contenido aparente de amilosa

El almidón de maíz cacahuacintle se modificó con anhídrido octenil succínico (OSA) según el método de López-Monterrubio et al. (2023). Se dispersaron 30 g de almidón en agua, ajustando el pH a 8.75 con NaOH y agregando OSA (3% del peso del almidón seco) durante 6 horas a 25 °C, manteniendo el pH. Tras la reacción, se neutralizó con HCl, se centrifugó (5810R, Eppendorf, Hamburgo, Alemania) a 3410 x g por 5 min, se lavó con agua y luego con acetona, finalmente se secó en una estufa (HCF-62, Riossa Digital, Puebla, México) a 35 °C por 24 h.

El grado de sustitución del almidón modificado, se determinó mediante el método de titulación propuesto por Lopez-Silva et al. (2020). Además, el contenido aparente de amilosa se determinó según el método de unión al yodo (Zhu et al., 2008).

Distribución del tamaño de los gránulos de almidón

La distribución del tamaño y el diámetro medio de Sauter ($D_{3,2}$) se estimaron mediante análisis de difracción láser utilizando un equipo Mastersizer 3000 (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Reino Unido). La muestra se preparó dispersando 50 mg (base en peso seco) en 5 mL de agua y se colocó en un modulo Hydro 2000, hasta que alcanzaron un valor de oscurecimiento del 12-17%. Los índices de refracción del agua y el almidón fueron 1.33 y 1.52, respectivamente. (Cortés-Viguri et al., 2021).

Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

La morfología de los almidones se analizó mediante MEB, utilizando un equipo (JEOL, Tokio, Japón) operado a 10 kV. Las muestras se montaron en soportes de aluminio con cinta de carbono y se recubrieron con oro. Se usaron aumentos de 250×, 1500× y 2500× (Yang et al., 2019).



Espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier (FTIR)

Los espectrogramas de los almidones se registraron con un espectrofotómetro FTIR (Frontier, Perkin Elmer, Ciudad de México, México), equipado con un accesorio universal de reflectancia total atenuada. Las mediciones se realizaron de acuerdo con las pautas de Gómez-Luría et al., (2019).

Propiedades de la pasta

Las propiedades de la pasta de las suspensiones de almidón se evaluaron usando un reómetro Physica MCR 301 con placas paralelas de 50 mm de diámetro. Se analizaron dispersiones acuosas al 5 % p/p de MC y MC_{OSA}, ajustando el espacio de medición a 0.5 mm. Para evitar la deshidratación, se aplicó aceite de silicona en los bordes. El ensayo siguió un ciclo de calentamiento y enfriamiento a una frecuencia de 1 Hz y deformación del 1 %, iniciando a 25 °C, subiendo a 90 °C, y regresando a 25 °C, a una velocidad de 6 °C por minuto. De las gráficas se obtuvieron valores de temperatura pico, viscosidad máxima, final y de ruptura (Mendez-Montealvo et al., 2011).

Propiedades reológicas

Se prepararon geles de almidón de maíz (MC y MC_{OSA}) calentando dispersiones al 5 % p/p con agitación magnética a 90 °C durante 20 min, y luego enfriándolos a 25 °C (Cortés-Viguri et al., 2021). Las propiedades reológicas de estos geles se evaluaron usando un reómetro Physica MCR 301 con geometría de placas paralelas y un gap de 5 mm. Para evitar la evaporación, se aplicó aceite de silicona en los bordes, y todas las pruebas se realizaron a 25 °C controladas por un sistema Physica TEK 150P.

Propiedades viscoelásticas: Se determinaron realizando barridos de frecuencia de 0.01 a 100 Hz con una deformación del 0.1 %, y barridos de deformación entre 0.01 % y 10 % a 1 Hz. Se obtuvieron los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G'') usando el software US200/32 V.50 (Carrillo-Navas et al., 2014).

Viscosidad aparente: Se evaluó variando la tasa de corte de 10^{-3} a 10^3 s^{-1} . Los datos experimentales se ajustaron al modelo de Herschel-Bulkley ($R^2 > 0.99$), que describe la relación entre esfuerzo cortante (τ), punto de cedencia (τ_0), coeficiente de consistencia (K), tasa de corte ($\dot{\gamma}$), y el índice de comportamiento de flujo (n).

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n \quad \text{Ec. (1)}$$

Digestibilidad *in vitro*

La digestibilidad de los almidones MC y MC_{OSA}, se evaluó siguiendo el método de Lee y Chang (2019), con ligeras modificaciones. Se dispersaron 0.5 g de almidón en 25 mL de agua desionizada y se incubaron en un baño de agua a 37 °C con agitación durante 30 min. Posteriormente, se añadieron 0.75 mL de solución de α -amilasa pancreática ($30 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$) a cada muestra, que fueron nuevamente incubadas a 37 °C con agitación constante. Se tomaron muestras a los 0, 20 y 120 minutos para medir el contenido de glucosa usando el método del ácido dinitrosalicílico (DNS). Se determinó el contenido total de almidón (TS) y se clasificaron los almidones según su tasa de hidrólisis en almidón de rápida digestión (ARD, digerido en los primeros 20 minutos), almidón de lenta digestión (ALD, digerido entre 20 y 120 minutos), y



almidón resistente (AR, no digerido después de 120 minutos), utilizando las siguientes ecuaciones:

$$RDS = \left(\frac{(G_{20} - FG)(0.9)}{TS} \right) (100) \quad \text{Ec.}$$

(2)

$$ALD = \left(\frac{(G_{120} - G_{20})(0.9)}{TS} \right) (100) \quad \text{Ec.}$$

(3)

$$RS = 100 - (RDS + SDS) \quad \text{Ec.}$$

(4)

donde: FG es el contenido de glucosa libre y TS es el contenido de almidón total, G_{20} y G_{120} representan el contenido de glucosa liberada después de 20 y 120 minutos, respectivamente.

Análisis estadístico

Todos los experimentos fueron llevados a cabo por triplicado, utilizando un diseño completamente aleatorizado. Los datos fueron expresados como media $\pm$ desviación estándar. Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA), y en los casos aplicables, se aplicó una prueba de comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete Statgraphics Plus (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc., Cambridge, MA, USA).

Resultados y discusión

Contenido de amilosa, amilopectina y grado de sustitución

El Cuadro 1 presenta el contenido de amilosa, amilopectina y el grado de sustitución (DS). El contenido de estos polisacáridos varía según el origen botánico, lo que genera diferencias en la proporción de amilosa/amilopectina (Obadi et al., 2023). Se observó una disminución significativa en el contenido de amilosa en MC_{OSA} en comparación con el MC. Este hallazgo coincide con estudios previos que también reportan una reducción de amilosa tras la modificación con OSA (López-Monterrubio et al., 2023; Yao et al., 2024). Además, durante la modificación, la expansión de la superficie del gránulo facilita la unión de los grupos octenilsuccinato, lo que provoca la lixiviación de amilosa y, por tanto, su reducción (Yao et al., 2024).

Cuadro 1. Contenido de amilosa, amilopectina y grado de sustitución de almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado (MC_{OSA}).

Tipo de almidón	Contenido de amilosa (%)	Contenido de amilopectina (%)	Grado de sustitución
MC	27.40 ± 0.38^a	72.60 ± 0.02^a	-
MC_{OSA}	22.20 ± 0.09^b	77.80 ± 0.01^b	0.017 ± 0.005

Los datos son expresados como media $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre las medias ($p < 0.05$). MC y MC_{OSA} son almidones de maíz cacahuacintle en su forma nativa y modificada con OSA, respectivamente.

Por otro lado, el contenido de amilopectina en MC_{OSA} ($77.80 \pm 0.01\%$) aumentó significativamente frente al de MC ($72.60 \pm 0.02\%$). Este incremento refleja la relación inversa entre amilosa y amilopectina, ya que, al reducirse el contenido de amilosa, aumenta el de amilopectina en el almidón modificado con OSA.



El grado de sustitución (DS), que mide el número promedio de grupos octenilsuccinato por unidad de glucosa, para MC_{OSA} fue de 0.017 ± 0.005 , un valor ligeramente superior al reportado para almidón de maíz normal modificado con OSA (0.0112 ± 0.001) por López-Silva et al. (2020). Esta diferencia podría atribuirse al mayor contenido de amilosa en MC. La esterificación con OSA es un proceso complejo influenciado por el contenido de amilosa, el tamaño de partícula y la estructura molecular, y ocurre principalmente en las regiones amorfas del almidón (Simsek et al., 2015).

Tamaño de partícula

El Cuadro 2 presenta un análisis del tamaño de los gránulos de MC y MC_{OSA}. EL MC_{OSA} exhibe un diámetro medio de Sauter ($D_{3,2}$) significativamente mayor en comparación con el MC. Este incremento en el tamaño de los gránulos se refleja también en los valores de d_{10} , d_{50} y d_{90} , que corresponden a los diámetros en los que se acumula el 10%, 50% y 90% de la distribución, respectivamente. La esterificación con OSA provoca cambios estructurales en la superficie de los gránulos de almidón, aumentando su tamaño debido a la introducción del grupo octenilsuccinato (Bajaj et al., 2019; López-Silva et al., 2019).

Cuadro 2. Diámetro medio de Sauter ($D_{3,2}$) y los diámetros de los gránulos en el 10%, 50% y 90% de la distribución acumulativa.

Almidón	d_{10} (μm)	d_{50} (μm)	d_{90} (μm)	$D_{3,2}$ (μm)	Span
MC	9.73 ± 0.01^b	15.23 ± 0.06^b	23.43 ± 0.06^b	14.26 ± 0.06^b	0.90 ± 0.01^b
MC _{OSA}	10.33 ± 0.06^a	17.13 ± 0.13^a	88.43 ± 0.40^a	16.80 ± 0.10^a	4.33 ± 0.06^a

Los datos son expresados como media $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre las medias ($p < 0.05$). MC y MC_{OSA} son almidones de maíz cacahuacintle en su forma nativa y modificada con OSA, respectivamente; d_{10} , d_{50} , y d_{90} son diámetros de partícula correspondientes a 10%, 50%, y 90% de distribución acumulativa, respectivamente.

El parámetro span, que indica la dispersión del tamaño de partícula, fue significativamente mayor en MC_{OSA}, siendo 4.8 veces más alto que en MC, lo que sugiere una mayor aglomeración de gránulos. MC_{OSA} presentó una distribución bimodal con picos en $1.17 \mu\text{m}$ y $12.04 \mu\text{m}$, mientras que MC mostró una distribución unimodal con un pico en $14.39 \mu\text{m}$.

Microscopía Electrónica de Barrido

La microscopía electrónica de barrido (MEB) se ha utilizado ampliamente para estudiar los cambios en la estructura de los almidones causados durante las modificaciones (Bajaj et al., 2019). La Figura 1 muestra las micrografías MEB de los gránulos de almidón MC y MC_{OSA}. Los gránulos MC exhibieron principalmente formas esféricas, aunque algunos presentaron formas más ovaladas o cilíndricas. Estas variaciones morfológicas están influenciadas por el genotipo de maíz y por una matriz proteica menos rígida en el endospermo harinoso como la que presenta el maíz cacahuacintle (Timm et al., 2020). La superficie de los gránulos de MC era principalmente lisa, aunque algunos presentaban ligeras rugosidades. Sin embargo, la modificación con OSA alteró significativamente la morfología de la superficie de los gránulos de almidón, observándose superficies más rugosas con depresiones más pronunciadas y bordes menos definidos, posiblemente como resultado de reacciones de esterificación o de una hidrólisis leve durante el tratamiento preliminar con NaOH. Las protuberancias que presentaron los gránulos MC_{OSA} están probablemente relacionadas con la agregación de cadenas de amilosa esterificadas con OSA concentradas en la superficie del gránulo (Lopez-Silva et al., 2019). Esto

sugiere que la reacción ocurrió principalmente en la superficie y no en el interior de los gránulos (Xu et al., 2023).

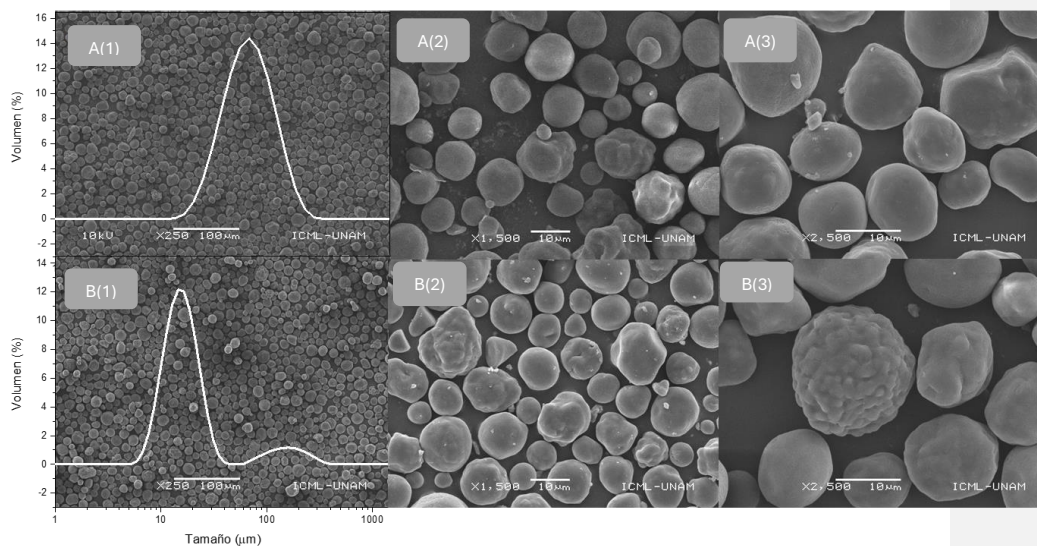


Figura 1. Micrografías y distribución de tamaño de gránulos de almidón de maíz cacahuacintle: **A** MC: almidón de maíz cacahuacintle y **B** MC_{OSA}: almidón de maíz cacahuacintle modificado con OSA. Magnificaciones: (1) 250×, (2) 1500×, (3) 2500×.

Análisis FTIR

Los espectros de infrarrojo de los almidones MC y MC_{OSA} revelaron la formación de grupos carboxilato. Los almidones nativo y OSA presentaron perfiles similares, destacando un pico ancho entre 3500-3000 cm⁻¹, relacionado con los grupos hidroxilo del almidón (O-H). Los picos a 2930 y 2880 cm⁻¹ se atribuyeron a las vibraciones de los grupos alifáticos CH₂ y CH₃, que indican la presencia de ácidos grasos libres (Wei et al., 2020). Una banda en el rango de 1700-1600 cm⁻¹ sugiere la presencia de proteínas en la superficie del almidón debido al grupo Amida I, mientras que el pico entre 1100 y 920 cm⁻¹ representa la "huella digital" de los almidones, asociado al estiramiento del enlace C-O (Lu et al., 2019).

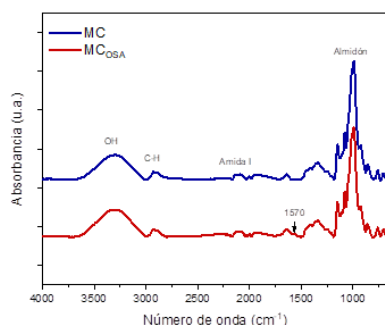


Figura 2. Espectro FTIR del almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado con OSA (MC_{OSA}). El almidón modificado con OSA mostró una banda a 1570 cm⁻¹, correspondiente a la vibración del grupo carboxilo o carboxilato, lo que confirma la formación de otenilsuccinato en sistemas alcalinos. Los espectros FTIR confirmaron la modificación, evidenciando la esterificación de las cadenas de almidón por el grupo succinilo, lo que demuestra la eficacia del proceso de modificación y su potencial en la industria alimentaria (Romero-Hernández et al., 2021).

Propiedades de la pasta

Los parámetros de las propiedades de la pasta de los almidones MC y MC_{OSA} se muestran en el Cuadro 3 y para una apreciación más detallada se muestra la Figura 3. La viscosidad pico (VP) de MC fue significativamente mayor que la de MC_{OSA}. La modificación química observada en FTIR, junto con los cambios estructurales, redujo la capacidad de los gránulos modificados para retener agua, lo que resultó en una menor viscosidad máxima (Salazar-Irrazabal et al., 2023). La temperatura de pasta (TP) de MC_{OSA} fue menor (60.90 °C) que la de MC (66.50 °C), lo que indica que la incorporación del grupo octenilsuccinato alteró la estructura del almidón, facilitando la absorción de agua y la hinchazón a temperaturas más bajas. Esto concuerda con estudios previos sobre almidón modificado con OSA, que también reportan una disminución en la TP (López-Monterrubio et al., 2023; Bello-Flores et al., 2014).

Cuadro 3. Parámetros de las propiedades de la pasta de almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado con OSA (MC_{OSA}).

Tipo de almidón	Temperatura de la pasta (°C)	Viscosidad pico (Pa.s)	Viscosidad de ruptura (Pa.s)	Viscosidad final (Pa.s)	Viscosidad de retroceso (Pa.s)
MC	66.50 ± 1.13 ^a	3.41 ± 0.09 ^a	1.18 ± 0.13 ^a	2.54 ± 0.21 ^a	0.31 ± 0.02 ^a
MC _{OSA}	60.90 ± 0.99 ^b	0.50 ± 0.01 ^b	0.19 ± 0.11 ^b	0.61 ± 0.17 ^b	0.11 ± 0.01 ^b

Los datos son expresados como media ± desviación estándar. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre las medias (p < 0.05). MC y MC_{OSA}, almidones de maíz cacahuacintle nativo y modificado con OSA, respectivamente.

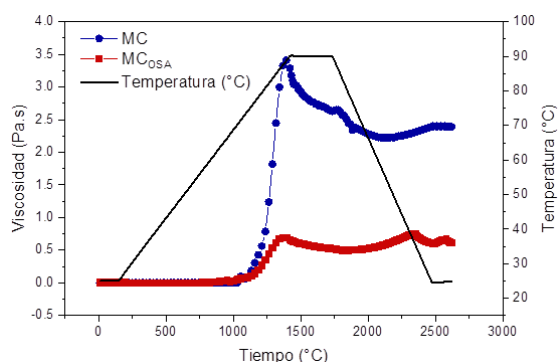


Figura 3. Perfil de la pasta de almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado con OSA (MC_{OSA}).

La viscosidad de ruptura (VR) de los almidones varió entre 0.19 y 1.18 Pa.s, siendo MC el que presentó el valor más alto, lo que indica mayor estabilidad frente a los almidones modificados con OSA. Este comportamiento se atribuye a una reestructuración de las fracciones del almidón y a un mayor rearrreglo de la matriz polimérica (Nuñez-Bretón et al., 2024). La viscosidad final (VF) de MC_{OSA} fue considerablemente menor que la de MC, un comportamiento similar al observado en almidón de papa modificado con OSA frente a su versión nativa (Won et al., 2017).

Propiedades reológicas

Viscosidad aparente

En la Figura 4 se muestran las curvas de viscosidad aparente en función de la tasa de corte para ambos geles de almidón (MC y MC_{OSA}), donde la viscosidad disminuye al aumentar la tasa de corte, debido a la alineación de las moléculas de biopolímero y la interrupción de las interacciones entre ellas (Cortés-Viguri et al., 2021). MC presentó viscosidades más altas en todo el rango de tasa de corte.

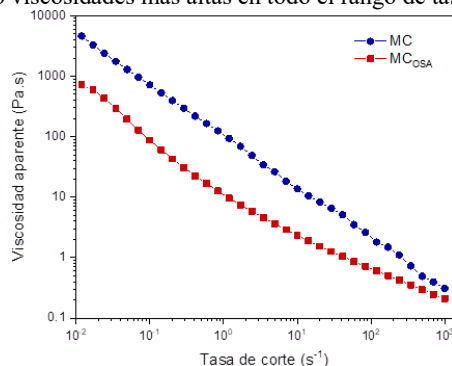


Figura 4. Curvas de flujo de los geles de almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado con OSA (MC_{OSA}).

El Cuadro 4, muestran los parámetros reológicos del modelo Hershel-Bulkley debido a que el comportamiento de flujo de los geles de MC y MCOSA se ajustaron con un $R^2 > 0.98$. Los valores de "n" entre 0.16 y 0.59 indicaron un comportamiento pseudoplástico ($n < 1$), siendo MC el que mostró mayor estructura en la fase dispersa, con un valor de K mucho más alto (99.19) que MC_{OSA} (3.66), lo que explica sus viscosidades más altas (Marboh y Mahanta, 2023).

Cuadro 4. Parámetros reológicos del modelo de Herschel-Bulkley.

Tipo de almidón	τ_0 (Pa)	K (Pa s ⁿ)	n
MC	3.85 ± 0.25 ^b	99.19 ± 0.71 ^a	0.16 ± 0.01 ^b
MC _{OSA}	8.12 ± 0.28 ^a	3.66 ± 0.19 ^b	0.59 ± 0.02 ^a

Los datos son expresados como media ± desviación estándar. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre las medias ($p < 0.05$). MC y MC_{OSA} son almidones de maíz cacahuacintle en su forma nativa y modificada con OSA, respectivamente.

Espectro mecánico

Los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G'') de los geles de MC y MC_{OSA} mostraron comportamientos diferentes (Figura 5). En MC, G' fue mayor que G'' , lo que indica un comportamiento predominantemente elástico, con un aumento constante de G' en todo el rango de frecuencia, reflejando la formación de redes similares a geles elásticos. En contraste, los geles de MC_{OSA} presentaron un aumento regular de G' y G'' hasta los 25 Hz, seguido de una disminución gradual hasta los 65 Hz, donde G' bajó drásticamente, cambiando de un carácter elástico a viscoso. La modificación con OSA afectó significativamente la consistencia de los geles, ya que los grupos octenilsuccinato modificaron la hidrofobicidad del almidón, debilitando los puentes de hidrógeno y reduciendo la fuerza del gel al limitar las interacciones de la cadena de amilosa (Zhang et al., 2021).

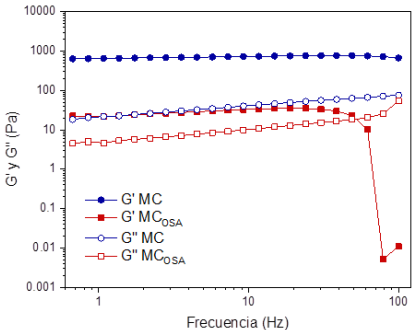


Figura 5. Espectros mecánicos de los geles de almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado con OSA (MC_{OSA}).

Digestibilidad in vitro

El Cuadro 5 muestra el porcentaje digestibilidad de los almidones de maíz cacahuacintle (MC y MC_{OSA}). El almidón se clasifica generalmente en tres fracciones de digestibilidad: almidón



de rápida digestión (ARD), almidón de lenta digestión (ALD) y almidón resistente (AR), según su velocidad y grado de digestión. Estas clasificaciones están relacionadas con el efecto fisiológico del almidón después del consumo con fines nutricionales (Miao et al., 2014).

Cuadro 5. Digestibilidad *in vitro* del almidón de maíz cacahuacintle nativo (MC) y modificado con OSA (MC_{OSA}).

Tipo de almidón	ARD (%)	ALD (%)	AR (%)
MC	66.74 ± 0.59 ^a	14.85 ± 0.37 ^b	21.74 ± 0.02 ^b
MC _{OSA}	45.65 ± 0.50 ^b	25.86 ± 0.09 ^a	28.49 ± 0.05 ^a

Los datos son expresados como media ± desviación estándar. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre las medias ($p < 0.05$). MC y MC_{OSA} son almidones de maíz cacahuacintle en su forma nativa y modificada con OSA, respectivamente.

El MC exhibió un mayor contenido de ARD, siendo $66.7 \pm 0.6 \%$ y después de la modificación MC_{OSA} mostró una disminución ($45.7 \pm 0.5 \%$), lo que sugiere que los grupos OSA se injertaron en el interior de los almidones e interfirieron con la hidrólisis enzimática de la molécula de almidón (Shi et al., 2022). Por otro lado, después de la modificación con OSA, se observó un aumento en la fracción de ALD. Esto podría atribuirse a que la introducción de grupos éster y cadenas largas de carbono en las moléculas de almidón crean obstáculos que impiden que las enzimas se unan y degraden el almidón de manera efectiva (Zhang et al., 2017).

El contenido de AR fue mayor en MC_{OSA}, este resultado podría atribuirse a su mayor contenido de amilosa, además del tratamiento con OSA, como lo han informado en otras investigaciones (López-Silva et al., 2019). Debido a su baja digestibilidad, el almidón MC_{OSA} es adecuado para aplicaciones en sistemas alimentarios como alimentos horneados de digestión lenta y sistemas de liberación controlada de compuestos bioactivos.

Conclusiones

La modificación de almidón de maíz con octenilsuccinato (OSA) produce cambios significativos en la estructura y propiedades del almidón. Se observó una disminución en el contenido de amilosa y un aumento en el de amilopectina en MC_{OSA}, lo que afecta la morfología y las propiedades de viscosidad del almidón. El grado de sustitución y los análisis de tamaño de gránulo confirman que la esterificación ocurre principalmente en la superficie del almidón, lo que provoca cambios estructurales y funcionales. Estos resultados son consistentes con estudios previos y sugieren el potencial de MC_{OSA} en aplicaciones alimentarias y de liberación controlada.

Literatura citada

- Altuna, L., Herrera, M. L., & Foresti, M. L. (2018). Synthesis and characterization of octenyl succinic anhydride modified starches for food applications. A review of recent literature. *Food Hydrocolloids*, 80, 97-110. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.032>
- Bajaj, R., Singh, N., & Kaur, A. (2019). Properties of octenyl succinic anhydride (OSA) modified starches and their application in low fat mayonnaise. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131, 147-157. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.054>
- Basilio-Cortés, U. A., González-Cruz, L., Velázquez, G., Teniente-Martínez, G., Gómez-Aldapa, C. A., Castro-Rosas, J., & Bernardino-Nicanor, A. (2019). Effect of dual modification on the



spectroscopic, calorimetric, viscosimetric and morphological characteristics of corn starch. *Polymers*, 11(2), 333. <https://doi.org/10.3390/polym11020333>

Bello-Flores, C. A., Nuñez-Santiago, M. C., Martín-Gonzalez, M. F. S., BeMiller, J. N., & Bello-Pérez, L. A. (2014). Preparation and characterization of octenylsuccinylated plantain starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 70, 334-339.

Carrillo-Navas, H., Hernández-Jaimes, C., Utrilla-Coello, R. G., Meráz, M., Vernon-Carter, E., & Álvarez-Ramírez, J. (2014). Viscoelastic relaxation spectra of some native starch gels. *Food Hydrocolloids*, 37, 25-33. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.10.023>

Cortés-Viguri, V., Hernández-Rodríguez, L., Lobato-Calleros, C., Cuevas-Bernardino, J. C., Hernández-Rodríguez, B. E., Alvarez-Ramírez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2021). Annatto (Bixa orellana L.), a potential novel starch source: antioxidant, microstructural, functional, and digestibility properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(1), 637-651. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01228-7>

Guzzon, F., Rios, L. W. A., Cepeda, G. M. C., Polo, M. C., Cabrera, A. C., Figueroa, J. M., Hoyos, A. E. M., Calvo, T. W. J., Molnar, T. L., León, L. A. N., León, T. P. N., Kerguelén, S. L. M., Rojas, J. G. O., Vázquez, G., Preciado-Ortiz, R. E., Zambrano, J. L., Rojas, N. P., & Pixley, K. V. (2021). Conservation and Use of Latin American Maize Diversity: Pillar of Nutrition Security and Cultural Heritage of Humanity. *Agronomy*, 11(1), 172. <https://doi.org/10.3390/agronomy11010172>

Khurshida, S., Das, M., Deka, S. C., & Sit, N. (2021). Effect of dual modification sequence on physicochemical, pasting, rheological and digestibility properties of Cassava starch modified by acetic acid and ultrasound. *International Journal of Biological Macromolecules*, 188, 649-656. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.062>

Lee, Y. K., & Chang, Y. H. (2019). Structural and in vitro digestibility properties of esterified maca starch with citric acid and its application as an oil-in-water (O/W) pickering emulsion stabilizer. *International journal of biological macromolecules*, 134, 798-806. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.081>

López-Monterrubio, D., Lobato-Calleros, C., Vernon-Carter, E., & Alvarez-Ramírez, J. (2023). In vitro Digestibility and Physicochemical Properties of Huauzontle (*Chenopodium nuttalliae*) Starch. *Stärke/Starch*, 75(5-6). <https://doi.org/10.1002/star.202200206>

Lopez-Silva, M., Bello-Pérez, L. A., Agama-Acevedo, E., & Alvarez-Ramírez, J. (2019). Effect of amylose content in morphological, functional and emulsification properties of OSA modified corn starch. *Food Hydrocolloids*, 97, 105212. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105212>

Lopez-Silva, M., Bello-Pérez, L. A., Castillo-Rodriguez, V. M., Agama-Acevedo, E., & Alvarez-Ramírez, J. (2020). In vitro digestibility characteristics of octenyl succinic acid (OSA) modified starch with different amylose content. *Food Chemistry*, 304, 125434. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125434>

Lu, Z., Donner, E., & Liu, Q. (2019). The Effect of Various Extracting Agents on the Physicochemical and Nutritional Properties of Pea Starch. *Starch - Stärke*, 71(11-12). <https://doi.org/10.1002/star.201900123>

Marboh, V., & Mahanta, C.L. (2023). Rheological and textural properties of sohphlang (*Flemingia vestita*) starch gels as affected by heat moisture treatment and annealing. *Food Chemistry Advances*, 3 (2023) 100542. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100542>



Mendez-Montecalvo, G., Wang, Y. J., & Campbell, M. (2011). Thermal and rheological properties of granular waxy maize mutant starches after isoamylase modification. *Carbohydrate Polymers*, 83(4), 2011–2015. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.11.011>

Mir, S. A., Bosco, S. J. D., Bashir, M., Shah, M. A., & Mir, M. M. (2017). Physicochemical and structural properties of starches isolated from corn cultivars grown in Indian temperate climate. *International Journal of Food Properties*, 20(4), 821-832. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1184274>

Núñez-Bretón, L. C., Torres-González, C. E., Del Ángel-Zumaya, J. A., Peredo-Lovillo, A., Rivera-Villanueva, J. M., De Jesús Perea-Flores, M., Guzmán-Gerónimo, R. I., Manero, O., & González-Jiménez, F. E. (2024). Functionalization of starches from Mexican *Oxalis tuberosa* using dual chemical modification. *Food Hydrocolloids*, 149, 109500. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109500>

Obadi, M., Qi, Y., & Xu, B. (2023). High-amylose maize starch: Structure, properties, modifications and industrial applications. *Carbohydrate Polymers*, 299, 120185. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120185>

Romero-Hernandez, H. A., Sánchez-Rivera, M. M., Alvarez-Ramírez, J., Yee-Madeira, H., Yáñez-Fernández, J., & Bello-Pérez, L. A. (2021). Avocado oil encapsulation with OSA-esterified taro starch as wall material: Physicochemical and morphology characteristics. *LWT-Food Science & Technology*, 138, 110629. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110629>

Salazar-Irrazabal, M. D., Ramírez-Tixe, E. E., Velásquez-Barreto, F. F., & Bello-Pérez, L. A. (2023). Avocado seed starch: Effect of the variety on molecular, physicochemical, and digestibility characteristics. *International Journal of Biological Macromolecules*, 247, 125746. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125746>

Shi, C., Zhu, S., Du, C., Zhong, F., Huang, D., & Li, Y. (2022). Octenylsuccinic anhydride group distribution in esterified maize starches with different granular structure and its effect on starch digestibility. *Food Bioscience*, 50, 102056. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102056>

Simsek, S., Ovando-Martínez, M., Marefati, A., Sj, M., & Rayner, M. (2015). Chemical composition, digestibility and emulsification properties of octenyl succinic esters of various starches. *Food Research International*, 75, 41-49. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.034>

Téllez-Silva, J. M., Herrera-Tapia, F., Vizcarra-Bordi, I., & Ramírez-Hernández, J. J. (2016). El maíz cacahuacintle y su potencial para el desarrollo endógeno. *Especialidades*, 6(1), 167-191. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=419548242007>

Timm, N. da S., Ramos, A. H., Ferreira, C. D., Biduski, B., Eicholz, E. D., & Oliveira, M. (2020). Effects of drying temperature and genotype on morphology and technological, thermal, and pasting properties of corn starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 354–364. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.197>

Wei, H.-X., Liang, B.-D., Chai, Y.-R., Xue, L.-P., Wang, X.-Q., & Yin, X.-M. (2020). Effect of Different Heat Treatments on Physicochemical Properties and Structural and Digestibility of Water Caltrop Starch. *Starch - Stärke*, 72(9-10). <https://doi.org/10.1002/star.201900275>

Won, C., Jin, Y. I., Chang, D., Kim, M., Lee, Y., Ganesan, P., Lee, Y., & Chang, Y. H. (2017). Rheological, pasting, thermal and retrogradation properties of octenyl succinic anhydride modified potato starch. *Food Science and Technology*, 37(2), 321-327. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.23616>



Xu, L., Bai, Z., Feng, J., He, L., Ren, J., Chai, S., & Chen, X. (2023). Effects of the degree of substitution of octenyl succinic anhydride on the physicochemical characteristics of adlay starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 241, 124535. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124535>

Yang, Q., Lu, X., Chen, Y., Luo, Z., & Xiao, Z. (2019). Fine structure, crystalline and physicochemical properties of waxy corn starch treated by ultrasound irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 51, 350-358. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.09.001>

Yao, T., Xu, Z., Ma, M., Wen, Y., Liu, X., & Sui, Z. (2024). Impact of granule-associated lipid removal on the property changes of octenylsuccinylated small-granule starches. *Carbohydrate Polymers*, 323, 121448. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121448>

Zhang J., Ran, Ch., Jiang, X., Duo, J. (2021). Impact of octenyl succinic anhydride (OSA) esterification on microstructure and physicochemical properties of sorghum starch. *LWT-Food Science and Technology*, 152 112320. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112320>

Zhang, B., Mei, J., Chen, B., & Chen, H. (2017). Digestibility, physicochemical and structural properties of octenyl succinic anhydride-modified cassava starches with different degree of substitution. *Food Chemistry*, 229, 136-141. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.061>

Zhou, F., Dong, M., Huang, J., Lin, G., Liang, J., Deng, S., Gu, C., & Yang, Q. (2023). Preparation and Physico-Chemical Characterization of OSA-Modified Starches from Different Botanical Origins and Study on the Properties of Pickering Emulsions Stabilized by These Starches. *Polymers*, 15(3), 706. <https://doi.org/10.3390/polym15030706>

Zhu, T., Jackson, D. S., Wehling, R. L., & Geera, B. (2008). Comparison of amylose determination methods and the development of a dual wavelength iodine binding technique. *Cereal Chemistry*, 85(1), 51-5



Análisis de las propiedades repelentes del aceite esencial de la madera de *Cedrela odorata* proveniente del Chiapas

Mesa 4: Química.

Díaz Valdepeña Armando^{1*}, González Tepale Ma. Rosa^{1*}, Lopez Cerino Rafael², Guerra Ramírez Diana¹

Resume

La madera de cedro rojo (*Cedrela odorata*) es muy valorada en México debido a su facilidad de trabajo, alta resistencia y su característico y agradable aroma, el cual se debe a una combinación de compuestos orgánicos volátiles (COVs) que, en conjunto, forman un aceite esencial. Se realizó un análisis del aceite esencial de la madera de cedro recolectada en el estado de Chiapas con el objetivo de identificar los COVs presentes en el aceite esencial de la madera, el aceite esencial fue extraído mediante hidrodestilación y posteriormente analizado por cromatografía de gases acoplada a masas (CG-Masas). A partir de los resultados, se identificaron el τ -cadinol, el epizonareno y el cubenol como los componentes principales. Con el aceite obtenido se prepararon diluciones usando acetona como diluyente al 0.1%, 0.5%, 1% y 5%, usando 500 microlitros de acetona como control y 500 microlitros las disoluciones del aceite esencial, se evaluó el porcentaje de repelencia frente a una especie de isópteros conocida como "comején", determinando que la disolución de aceite esencial en acetona al 1% presentó el mejor porcentaje de repelencia, alcanzando un 92.5%, atribuyendo las propiedades repelentes del aceite a el alto porcentaje de cadinol que contiene el mismo.

Palabras clave: Aceite esencial, cedro rojo, cromatografía de gases, COVs, repelencia.

Abstract

Red cedar wood (*Cedrela odorata*) is highly valued in Mexico due to its ease of work, high resistance, and its characteristic pleasant aroma, which is attributed to a combination of volatile organic compounds (VOCs) that together form an essential oil. An analysis of the essential oil from red cedar wood collected in the state of Chiapas was conducted with the aim of identifying the VOCs present in the wood's essential oil. For this study, the essential oil was extracted by hydrodistillation and subsequently analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). From the results, τ -cadinol, epizonarene, and cubenol were identified as the main components. With the obtained oil, dilutions were prepared using acetone as a solvent at 0.1%, 0.5%, 1%, and 5%, using 500 microliters of acetone as the

¹ Laboratorio de Productos Naturales, Área de Química, Departamento de Preparatoria Agrícola. AP 74 Oficina de Correos Chapingo, Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Texcoco 56230, Estado de México, México adiaz005@hotmail.com, mgonzalzt@chapingo.mx, dguerrar@chapingo.mx

² Área de Comercio y Finanzas Internacionales, División de Ciencias Económico-Administrativas (DICEA), Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Texcoco 56230, Estado de México, México. rlopezc@chapingo.mx



control. With these essential oil dilutions, the repellency percentage against a species of termites known as "comején" was evaluated, determining that the 1% essential oil in acetone solution presented the best repellency percentage, reaching 92.5%, attributing the repellent properties of the oil to the high percentage of cadinol that it contains.

Keywords: Essential oil, red cedar, gas chromatography, VOCs, repellency.

Introducción

El aceite esencial es el responsable de darle un olor característico a la madera (Kaŷcániová, 2022), es una mezcla compleja de componentes químicos, los cuales se pueden clasificar como volátiles y residuos no volátiles. La fracción volátil representa entre el 90% y el 95% del peso total del aceite y se compone por monoterpenos, sesquiterpenos, alcoholes, ésteres y aldehídos (Malik, 2019, p.18)

La composición del aceite esencial puede variar por diferentes motivos, los COVs son metabolitos secundarios, estos son producidos por la planta para cubrir tareas no vitales para su propia supervivencia, como atraer polinizadores, repeler plagas, entre otros, de la misma forma que reducirá o suprimirá la producción de metabolitos secundarios que no le sean útiles en su entorno, de tal modo que la composición química de los aceites esenciales estará influenciada por los factores ambientales, como los ataques de patógenos y plagas a los que es susceptible la planta (Torres, 2022).

El aceite esencial se inyecta mediante inyección directa en un cromatógrafo de gases acoplado a un equipo de espectrometría de masas, para determinar la composición química del aceite esencial de la muestra de madera de cedro colectadas en el estado de Chiapas.

Los isópteros son un grupo de insectos que se alimentan de la celulosa contenida en la madera, son insectos sociales que pueden construir sus nidos en trozos de madera o en árboles que degradan gracias a la acción de los protozoos de su sistema digestivo con los que mantienen una relación simbiótica, su invasión ocasionan daños en muchos cultivos de interés económico (Hurtado, 2017), aunque su apariencia es semejante a la de las hormigas no guardan ninguna relación evolutiva.

Durante el desarrollo de este proyecto se investigó si el aceite esencial extraído de la madera de cedro rojo (*Cedrela odorata*) proveniente del estado de Chiapas posee propiedades repelentes contra los isópteros, comúnmente conocidos como "comején", obtenidos de un nido encontrado en el interior de un árbol localizado en el estado de Tabasco.



Materiales y métodos

Se hizo una hidrodestilación por arrastre de vapor con el aparato clewenger para obtener el aceite esencial de las muestras de madera. (50 gramos de muestra a reflujo por 1 hora). Una vez obtenido el aceite esencial se tomaron 20µl de aceite y se diluyeron en 980 µl de hexano grado HPLC, de esta disolución se inyectaron 5µl en el puerto de inyección de un cromatógrafo de gases (7890 A, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) acoplado a un espectrómetro de masas de trampa de iones (Agilent 240, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). La temperatura del inyector se mantuvo a 250°C, con un modo de inyección split/splitless (1:20), se utilizó una columna VF-5 MS (30 m x 250 µm x 0.25 µm) con gas acarreador de helio y flujo de 0.5 mL/min y una presión de 0.5 atm. El horno trabajó con una rampa de calentamiento de 140°C a 152 °C con velocidad de 2°C/ min, de 152 °C a 170 °C a una velocidad de 1°C/min de 0.5 mL/min y de 170°C a 190 °C con velocidad de 60°C/min.

Los espectros de masas se registraron en un rango de 41 - 500 m/z a velocidad de 1.0 scan/s, usando un voltaje de ionización a 70eV. El espectro de masas fue calibrado con una disolución FC-43. Los espectros experimentales de los componentes de los aceites esenciales fueron comparados con los patrones de fragmentación de los espectros de la librería del National Institute of Standard and Technology (NIST) del equipo versión 2.0. Se tomaron en cuenta sólo aquellos componentes cuya señal del pico presentara un R. Match mayor de 800 y una probabilidad mayor del 35 % en el cromatograma. También se utilizaron los índices de Kovats para la confirmación de los componentes; se compararon los índices de retención lineal para una columna VF-5 o similares reportados en la librería NISTwebook, relativos a los estándares de n-alcenos (C8-C20). Finalmente, el área bajo la curva del pico cromatográfico se usó para determinar el porcentaje relativo de los principales compuestos.

Con el aceite obtenido preparar diluciones usando acetona como diluyente al 0.1%, 0.5%, 1% y 5%, se recortan círculos de papel filtro de aproximadamente 9 centímetros de diámetro; procurando que estos se ajusten bien en el fondo de una caja Petri de vidrio, los círculos de papel filtro se dividen por la mitad y se insertan en el fondo de una caja Petri, con ayuda de una micropipeta se le colocan 500 microlitros de acetona pura que serviría como control en una mitad del papel filtro y a la otra mitad se le colocaron 500 microlitros una de las disoluciones del aceite esencial en acetona, posteriormente se traspasan 20 especímenes del “comején” a la caja y se realiza un conteo cada media hora durante 4 horas, registrando el número de especímenes que se encuentran en cada lado del papel filtro, este proceso se repetirá 4 veces por disolución para tener un total de 80 especímenes evaluados por disolución, se calcula el porcentaje de repelencia usando los datos de los 80 especímenes por disolución. (Jaramillo, 2015)



Formula 1. Cálculo del porcentaje de repelencia.

$$\begin{aligned}
 & \text{\%} = \frac{\text{Número de individuos repelidos} - \text{Número de individuos atraídos}}{\text{Número de individuos repelidos} + \text{Número de individuos atraídos}} \times 100 \\
 & = \frac{R - A}{R + A} \times 100
 \end{aligned}$$

Resultados y discusión

En el cuadro 1 se presentan del perfil cromatográfico del aceite esencial de madera de cedro del estado de Chiapas, se registraron un total de 27 compuestos diferentes, todos los compuestos son sesquiterpenos o sesquiterpenos en forma de alcohol, el componente que se encuentra en mayor proporción es el Cadinol, que ha reportado que tiene propiedades antifúngicas y actividad repelente contra algunos artrópodos (Chang, 2001), por lo que la alta prevalencia de este componente puede estar relacionado con los resultados obtenidos en las pruebas de repelencia, cuyos resultados se presentan en la gráfica 1, donde se muestra el comportamiento general de los 80 especímenes de “Comején” (ejemplificado en la figura 1) ante las diferentes disoluciones de aceite esencial, con las cuatro diluciones se observó una tendencia de los individuos a alejarse de la zona del papel filtro en la que se aplicó la dilución de aceite esencial y permanecer en la zona donde solo se aplicó acetona, siendo la dilución al 1% la que mayor repelencia presento, logrando que más del 90 % de los individuos evitaran la zona tratada con la dilución del aceite esencial, con las diluciones del 0.1% y 5 % el efecto repelente disminuye, siendo la disolución del 1 % la más adecuada si se busca seguir investigando las propiedades repelentes del aceite esencial de madera de Cedrela odorata.

Cuadro 1. Compuestos encontrados en el aceite esencial de madera de cedro colectada en el estado de Chiapas.

%AREA	Compuesto	Tipo de componente
23.168	τ -Cadinol	Alcohol/Sesquiterpeno
18.515	Epizonareno	Sesquiterpeno
6.849	Cubenol	Alcohol/Sesquiterpeno
6.780	δ -Cadinol	Alcohol/Sesquiterpeno
5.333	α -Curcumeno	Sesquiterpeno
4.415	α -Muroleno	Sesquiterpeno
4.119	Calameneno	Sesquiterpeno
3.970	Copaeno	Sesquiterpeno
3.178	Himachaleno	Sesquiterpeno
2.468	Viridiflorol	Alcohol/Sesquiterpeno
1.968	β -bisabolol	Alcohol/Sesquiterpeno
1.792	Cadinadieno-1,4	Sesquiterpeno
1.549	γ -Eudesmol	Alcohol/Sesquiterpeno
1.416	Aloaromadendreno	Sesquiterpeno
1.339	Humuleno	Sesquiterpeno
1.321	Espatuleno	Alcohol/Sesquiterpeno
1.273	α -Nerolidol	Alcohol/Sesquiterpeno
1.147	Gleenol	Alcohol/Sesquiterpeno
1.071	α -Bergamoteno	Sesquiterpeno
1.067	isoleveno	Sesquiterpeno

0.995	cis- β -Farneseno	Sesquiterpeno
0.617	α -Cubebeno	Sesquiterpeno
0.575	Globulol	Alcohol/Sesquiterpeno
0.514	Aromandendreno	Sesquiterpeno
0.486	Cedren-13-ol, 8-	Alcohol/Sesquiterpeno
0.475	α -Calacoreno	Sesquiterpeno
0.209	Germacreno D	Sesquiterpeno

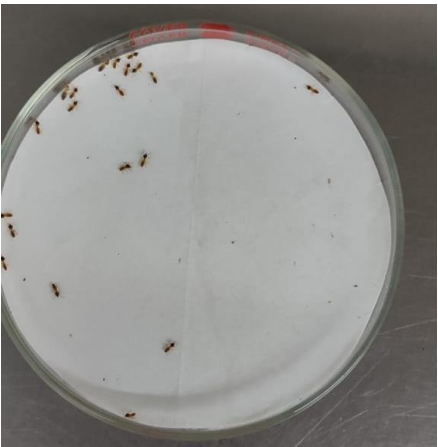
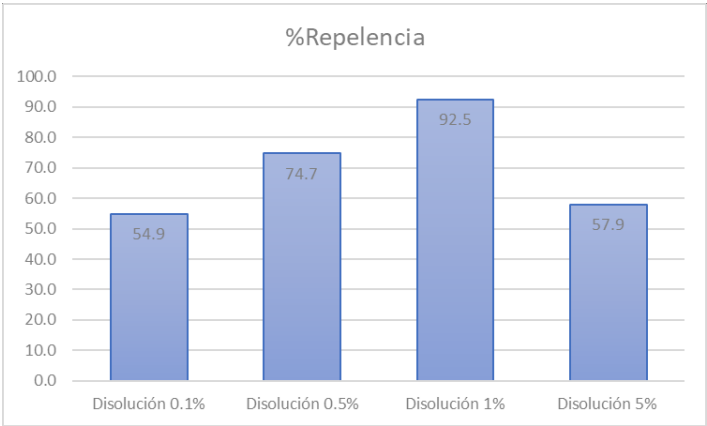


Figura 1. Prueba de repelencia con el aceite esencial al 1%.

Gráfico 1. Porcentaje de repelencia de las disoluciones de aceite esencial 0.1%, 0.5%, 1% y 5% contra el “comején”.





Conclusión

En el análisis por cromatografía de gases- espectrometría de masas de la muestra de madera de cedro provenientes de Chiapas se determinó que el componente de mayor prevalencia es el cadinol, el cual se ha reportado que posee propiedades repelentes contra ciertos artrópodos, por lo que podemos relacionar su presencia con la actividad repelente que posee el aceite esencial de madera de cedro contra el comején, la dilución al 1% es la que presenta mejor repelencia, por lo que se puede partir de esta concentración si se desea seguir investigando las propiedades repelentes del aceite esencial de la madera de cedro rojo.

Referencias

- Chang, S. T., Chen, P. F., Wang, S. Y., & Wu, H. H. (2001). Antimite activity of essential oils and their constituents from *Taiwania cryptomerioides*. *Journal of Medical Entomology*, 38(3), 455-457. Obtenido en PubMed el 16 de junio de 2024 en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11372974/>
- Iñíguez Guillén, R. M., Esqueda Reyes, H. C., Escoto García, T., Guillermo Ochoa, H., Rodríguez Rivas, A., & Contreras Quiñones, H. J. (2015). Caracterización química de aceites esenciales y extractos de madera de dos especies de pinos del bosque La Primavera. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 6(28), 42-57. Obtenido mediante BIDI UNAM el 18 de junio de 2024 <https://www.scielo.org.mx/pdf/remcf/v6n28/v6n28a4.pdf>
- Jaramillo-Colorado, B. E., Duarte-Restrepo, E., Pino-Benítez, N. (2015). Evaluación de la actividad repelente de aceites esenciales de plantas Piperáceas del departamento de Chocó, Colombia. *Revista de toxicología*, 32(2), 112-116. Obtenido el 16 de agosto del 2024 en: <https://www.redalyc.org/pdf/919/91942717007.pdf>
- Kačániová, M., Galovičová, L., Valková, V., Ďuranová, H., Štefániková, J., Čmíková, N. & Kowalczewski, P. Ł. (2022). Chemical Composition, Antioxidant, In Vitro and In Situ Antimicrobial, Antibiofilm, and Anti-Insect Activity of Cedar atlantica Essential Oil. *Plants*, 11(3), 358. Obtenido mediante BIDI UNAM el 18 de junio de 2024 <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/3/358/html>
- Malik S. (2019), *Essential Oil Research*, Obtenido mediante BIDI UNAM el 18 de junio de 2024 de 2022 <https://link-springer-com.pbidi.unam.mx:2443/content/pdf/10.1007/978-3-030-16546-8.pdf>
- Martins, A. P., Salgueiro, L. R., Da Cunha, A. P., Vila, R., Cañigüeral, S., Tomi, F., & Casanova, J. (2003). Chemical composition of the bark oil of *Cedrela odorata* from S. Tome and Principe. *Journal of Essential Oil Research*, 15(6), 422-424., Consultado el 18 de junio de 2024 en <https://eds-p-ebscohost-com.pbidi.unam.mx:2443/eds/pdfviewer/pdfviewer?vid=5&sid=27ef45ee-24a6-4e85-97b1-7c4a90c0a325%40redis>
- Torres-Salazar, F. J. & Sosenski, P. (2022). Comunicación a través del olor: las plantas y sus secretos. *Revista Digital Universitaria (rdu)*, 23(2). Consultada el 18 de junio de 2024 en https://www.revista.unam.mx/wp-content/uploads/v23_n2_a3.pdf



Zgheib, R., El Beyrouthy, M., El Rayess, Y., Dahi, M., Nehme, N., Azzi-Achkouty, S., & Iriti, M. (2020). Effect of geographical origin on yield and composition of cone essential oils of *Cedrus libani* A. Rich. growing in Lebanese protected areas and variability assessment in comparison with literature survey. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 75(7-8), 255-264. Obtenido mediante BIDI UNAM el 18 de junio de 2024 <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/znc-2019-0172/html>

Microemulsión de linalool (2,6-dimetil-2,7-octadien-6-ol) empleando proteínas de chapulín (*Sphenarium purpurascens*) como material de pared

María de Lourdes Mendoza Hernández¹; Diana Itzel López Monterrubio²²; Blanca Elizabeth Hernández Rodríguez²

Mesa:4 Química.

Resumen

El linalool (2,6-dimetil-2,7-octadien-6-ol) es un monoterpeno con propiedades antiinflamatorias, antisépticas y antioxidantes (Bueno-Duarte & Mendez-Sánchez, 2015). Su sensibilidad a factores como temperatura, oxígeno y humedad dificulta su aplicación industrial. Esta investigación buscó formar una microemulsión para microencapsular linalool y conservar sus propiedades antioxidantes, empleando proteína de chapulín (*Sphenarium purpurascens*) como material de pared. La fracción proteica se extrajo de una muestra de harina de chapulín previamente desgrasada mediante precipitación por salado, la cual se deshidrató y se utilizó para formar una dispersión en agua desionizada. La emulsificación se realizó en un equipo ULTRA-TURRAX a 8000 rpm durante 2 min. La microemulsión se mantuvo estable durante los primeros tres minutos a temperatura ambiente, posteriormente se formaron microgotas de aceite, conduciendo a la separación de fases y formación de crema. El análisis microscópico mostró variaciones significativas en el tamaño de las gotas de aceite, indicando un rápido proceso de coalescencia y tendencia a la inestabilidad. La actividad antioxidante, evaluada mediante el ensayo de DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil), mostró una inhibición del 62.96 %. En conclusión, aunque la microemulsión de linalool mostró estabilidad inicial, la rápida coalescencia y formación de crema subrayan la necesidad de optimizar las condiciones de microencapsulación para mejorar su estabilidad a largo plazo. La actividad antioxidante observada sugiere que el linalool microencapsulado tiene potencial como ingrediente funcional. Como perspectiva, se sugiere probar el efecto de agentes estabilizantes que permitan incorporar la emulsión en alimentos funcionales.

Palabras clave: Microemulsión, proteína de chapulín, linalool, antioxidante.

Abstract

Linalool (2,6-dimethyl-2,7-octadien-6-ol) is a monoterpene with anti-inflammatory, antiseptic, and antioxidant properties (Bueno-Duarte & Mendez-Sánchez, 2015). Its sensitivity to factors such as temperature, oxygen, and humidity complicates its industrial application. This research aimed to form a microemulsion to microencapsulate linalool and preserve its antioxidant properties using chapulin protein (*Sphenarium purpurascens*) as a wall material.

¹ Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C.P. 56230, México. Correo: lulu.mendoza1415@gmail.com

² Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Preparatoria Agrícola, Carretera México, Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C.P. 56230, México. Correo: bhernandezr@chapingo.mx, dilopezm@chapingo.mx



The protein fraction was extracted from a sample of chapulin flour previously defatted by salt precipitation, dehydrated and used to form a dispersion in deionized water. Emulsification was performed in ULTRA-TURRAX equipment at 8000 rpm for 2 minutes. The microemulsion remained stable for the first three minutes at room temperature, after which oil microdroplets formed, leading to phase separation and cream formation. Microscopic analysis showed significant variations in the size of the oil droplets, indicating a rapid coalescence process and a tendency to instability. Antioxidant activity, evaluated by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) assay, showed an inhibition of 62.96%. In conclusion, although the linalool microemulsion showed initial stability, the rapid coalescence and cream formation underline the need to optimize the microencapsulation conditions to improve its long-term stability. The observed antioxidant activity suggests that microencapsulated linalool has potential as a functional ingredient. As a perspective, it is suggested to test the effect of stabilizing agents that allow the incorporation of the emulsion in functional foods.

Keywords: Microemulsion, Chapulín protein, Linalool, Antioxidant

Introducción

Los aceites esenciales son mezclas complejas de metabolitos lipofílicos secundarios volátiles con diversas propiedades biológicas (Benchaar & Henry Greatehead, 2011). Se clasifican como fenilpropanoides y terpenos, siendo estos últimos los que constituyen la mayor parte de los compuestos conocidos, formados por unidades de isopreno. En este contexto, el linalool (2,6-dimetil-2,7-octadien-6-ol) es un monoterpeno destacado por ser un constituyente importante de varios aceites esenciales. Sus propiedades incluyen efectos antisépticos, ansiolíticos, antiinflamatorios, antifúngicos, antimicrobianos y antioxidantes (Bueno-Duarte & Mendez-Sánchez, 2015). Sin embargo, su sensibilidad a factores como temperatura, oxígeno y humedad presenta desafíos para su aplicación industrial.

Ante ello, la técnica de microencapsulación ofrece una solución para preservar los principios activos, actuando como mecanismo de protección ante factores ambientales. Entre los materiales de pared para la formación de los microencapsulados, se ha considerado aprovechar las propiedades biotecnológicas del chapulín de milpa (*Sphenarium purpurascens*), un insecto ampliamente consumido en el centro y sur de México, que ha demostrado tener un importante contenido proteico (Rodea Lucio, 2022).

Esta investigación tuvo como propósito, la formación de una microemulsión que permitiera conservar las propiedades antioxidantes del linalool (2,6-dimetil-2,7-octadien-6-ol), empleando como material de pared la fracción proteica de una muestra de harina de chapulín. Lo anterior, para desarrollar un sistema eficaz que preserve las propiedades biológicas del linalool, un ingrediente funcional con potencial aplicación en la industria alimentaria.

Materiales y métodos

Precipitación de la fracción proteica con sulfato de amonio

Para identificar las mejores condiciones de extracción de la fracción proteica de la harina de chapulín (*Sphenarium purpurascens*), se realizaron dos ensayos experimentales, en los que se modificó el medio de dispersión de la muestra.



En el primer ensayo, se mezclaron 5 g del extracto proteico de la harina desgrasada de chapulín con 95 mL de agua destilada en un vaso de precipitados de 150 mL. Posteriormente, la mezcla se mantuvo en agitación constante (Thermo Scientific®) y en baño de hielo a fin de mantener la temperatura de la mezcla ($0^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$). Cada 30 min se añadió sulfato de amonio a la mezcla, siguiendo las cantidades propuestas por (Krisna et al., 2014) que se muestran en el Cuadro 1. Después de cada adición de sulfato de amonio, se tomaron alícuotas de 500 μL de la mezcla, se guardaron en viales y almacenaron a -20°C hasta su análisis posterior.

En el segundo ensayo, se repitió el procedimiento descrito empleando amortiguador de fosfatos 0.1 M (pH 4) como medio de dispersión.

Cuadro 1. Porcentaje de saturación con sulfato de amonio a 0°C

Concentración final de sulfato de amonio: Porcentaje de saturación a 0°C							
Porcentaje de saturación (0°C)	20	30	40	50	60	70	80
Sulfato de amonio (g añadidos a 100 mL solución)	10.6	16.4	22.6	29.1	36.1	43.6	51.6

Fuente: (Gabelli & C. Duong-Ly, 2014)

Extracción de proteína de la muestra de harina

Se dispersaron 20 g de harina desgrasada de chapulín (*Sphenarium purpurascens*) en 380 mL de amortiguador de fosfatos 0.1 M (pH 4). La mezcla se colocó en un baño de hielo a 5°C y se agitó durante 30 minutos. Posteriormente, se ajustó el pH a 4.0 y se añadieron 22.6 g de sulfato de amonio (Merck®), manteniendo la agitación durante 1 h para favorecer la disolución del sulfato de amonio en el medio y la precipitación de la fracción proteica. Se desechó el sobrenadante y el sedimento se sometió a centrifugación a 8000 rpm durante 15 min a 4°C . El sedimento resultante se deshidrató en un horno a 60°C hasta alcanzar peso constante (48 h) y el polvo resultante se almacenó en condiciones de refrigeración.

Cuantificación de proteína

Para determinar la concentración de proteína en las muestras de extracción de la fracción proteica a partir de harina de chapulín, se empleó el método de Bradford descrito por (Fatemeh et al., 2022). Las muestras se descongelaron y centrifugaron (Microcentrífuga Science-Med®) por 15 min. Posteriormente, se tomó una alícuota de 50 μL del sobrenadante y se transfirió a tubos de ensayo, se adicionaron 2.5 mL de reactivo de Bradford y transcurridos 15 min se midió la Absorbancia a 595 nm. Los ensayos se realizaron por triplicado. Adicionalmente, se construyó una curva estándar de albúmina sérica bovina en un rango de concentración de 0 – 200 $\mu\text{g/mL}$ para el cálculo de concentración de proteína ($\mu\text{g/mL}$).

Formación de la microemulsión

Se siguió la formulación propuesta por (Xin et al., 2023) con ligeras modificaciones. Se prepararon 100 mL de una disolución de proteína al 0.5 % (p/v) en agua desionizada, se ajustó el pH a 7 con



NaOH y HCl (0.1 M) y se mantuvo en agitación por 24 h. Al final de este periodo, la disolución se homogeneizó (ULTRA-TURRAX T50 IKA®) en un baño de hielo a 8000 rpm, mientras se agregaba lentamente un volumen de 5 mL de linalool (Sigma-Aldrich®), y una vez concluida la adición de linalool la mezcla se homogeneizó por 2 min. La microemulsión formada se almacenó en tubos de ensayo en condiciones de refrigeración (4°C) y a temperatura ambiente (23°C) durante 48 h, posteriormente se cuantificó la actividad antioxidante.

Cuantificación de actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó mediante el método del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) descrito por (Brand-Williams et al., 1995). Para ello, se preparó una disolución de DPPH 0.08 mM (Sigma-Aldrich®) en metanol al 80 % (v/v) y se almacenó en frasco ámbar. Para la determinación se mezclaron 50 µL de la microemulsión con 450 µL de agua destilada. Posteriormente, se agregaron 1500 µL de la disolución de DPPH y se incubó por 5 min. Adicionalmente, se preparó un control con 500 µL de metanol al 80 % (v/v) y 1500 µL de DPPH. Finalmente, se midió la Absorbancia a 595 nm. El porcentaje de inhibición se calculó mediante la ecuación 1.

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \left(\frac{\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Absorbancia}_{\text{muestra}}}{\text{Absorbancia}_{\text{control}}} \right) * 100 \quad (\text{Ec.1})$$

En dónde, Abs_{control} es la absorbancia de la muestra control y Abs_{muestra} la absorbancia de la muestra.

Medición de índice de refracción

El índice de refracción se determinó con un refractómetro, el cual se calibró utilizando agua destilada como sustancia de referencia. La muestra, libre de burbujas y partículas, se colocó sobre el prisma y se observó a través del ocular, ajustando el enfoque hasta que la escala del índice de refracción fuera visible.

Medición del tamaño de partícula

Para medir el diámetro de gota de la microemulsión, se utilizó un Mastersizer 3000 (Malvern Instruments, Malvern, Worcestershire, UK). La muestra se diluyó en agua destilada en una proporción de 1 mL de muestra por 9 mL de agua. Se encendió y calibró el equipo, configurando los parámetros de medición en el software. La muestra diluida se colocó en la celda y se inició la medición mediante dispersión dinámica de luz (DLS). El software analizó la fluctuación de la intensidad de la luz dispersada para calcular el diámetro hidrodinámico de las gotas, presentando los resultados en un gráfico de distribución de tamaño de partículas.

Observación mediante microscopía

Se colocó una gota de la microemulsión sobre un portaobjetos limpio y se cubrió con un cubreobjetos para evitar la formación de burbujas y asegurar una distribución uniforme. El portaobjetos se colocó en la platina del microscopio (Olympus BX45, Olympus Optical Co., Tokio, Japón) y se enfocó utilizando los objetivos de menor aumento para localizar la muestra, y luego se cambió a objetivos de mayor aumento para observar los detalles de las gotas de la microemulsión. Finalmente, se capturaron las imágenes con una cámara digital (Olympus C3030, Olympus America Inc., Center Valley, PA, EE.UU.) para la visualización de la estructura y distribución de las gotas en la microemulsión.

Análisis estadístico

Para identificar las mejores condiciones de precipitación de la fracción proteica, los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) con ayuda del software estadístico MINITAB, así como una prueba de comparación múltiple de Tukey para identificar diferencias específicas entre tratamientos. En ambos casos se consideró un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

Resultados y discusión

Curva de extracción de proteína

En la **figura 1** se presentan los resultados de extracción de la fracción proteica a partir de harina desgrasada de chapulín (*Sphenarium purpurascens*), empleando dos medios de dispersión: agua destilada y amortiguador de fosfatos 0.1 M (pH 4). Se observó que el medio de dispersión influyó en la concentración de proteína que precipita. En este sentido, es evidente que el amortiguador de fosfatos 0.1 M (pH 4) favorece la precipitación de las proteínas en comparación con el agua desionizada. Esto puede explicarse por una combinación de factores presentes en el medio. Por un lado, el pH del amortiguador corresponde al punto isoeléctrico (pI = 4) de las proteínas de chapulín, como se reporta en estudios previos sobre la influencia del pH en la solubilidad y estabilidad de las proteínas en esta especie (Rodea Lucio, 2022). Por otro lado, el efecto de precipitación por salado, cuyo fenómeno ocurre cuando se añaden altas concentraciones de sales, como el sulfato de amonio, lo que aumenta las interacciones hidrofóbicas entre las moléculas de proteína, favoreciendo su agregación y desencadenando su precipitación (Gabelli & C. Duong-Ly, 2014).

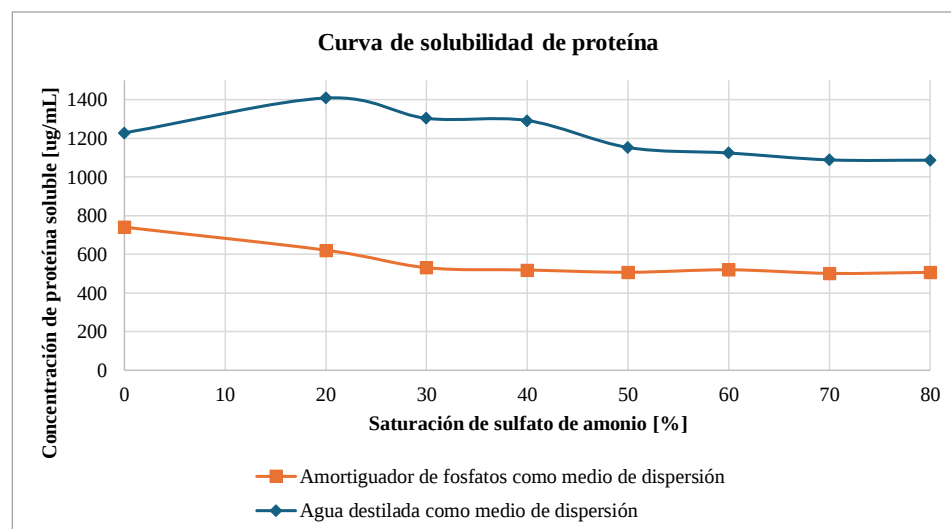


Figura 4. Curva de solubilidad de proteína con diferentes medios de dispersión.

La mayor precipitación de proteínas se obtuvo con una saturación de sulfato de amonio en el medio de dispersión del 40 % a pH 4. Por esta razón, fueron las condiciones seleccionadas para la extracción de la fracción proteica a partir de harina de chapulín.

Microencapsulación

Una vez formada la microemulsión, permaneció estable durante 3 min (**Figura 2**). Posteriormente, se observó la unión de microgotas de aceite debido al proceso de coalescencia, lo que resultó en la separación de fases. Al tiempo 18 min, la microemulsión presentó la formación de una capa oleosa con aproximadamente 1 mm de espesor (**Figura 3**). Estos resultados indican que las proteínas de chapulín pueden actuar como material de pared, sin embargo, no aportan estabilidad al sistema, dada la presencia de los fenómenos de coalescencia y cremado en corto tiempo. Lo anterior, sugiere la necesidad de incorporar un agente estabilizante a la microemulsión.

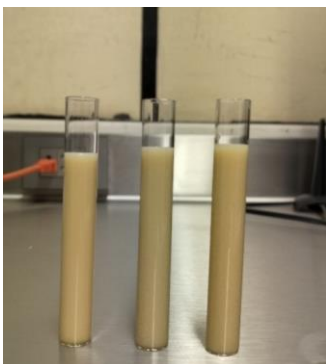


Figura 2. Emulsión aceite en agua para microencapsular aceite de linalool en proteína de chapulín.



Figura 3. Muestras con formación de "crema" donde se observa la separación de fases.

Se cuantificó el índice de refracción tanto de la fase acuosa como de la fase oleosa de la emulsión, obteniéndose valores de 1.337 nD y 1.460 nD, respectivamente. Estos valores reflejan las diferencias en la velocidad de propagación de la luz a través de cada fase. Un índice de refracción mayor indica que la luz se ralentiza más al pasar por ese material. Por lo tanto, la fase oleosa, con un índice de 1.460 nD, es ópticamente más densa que la fase acuosa, que tiene un índice de 1.337 nD (Gutiérrez, 2020).

La observación de la microemulsión mediante microscopía (**Figuras 4 y 5**) reveló una variación significativa en los tamaños de las gotas de aceite. Las imágenes obtenidas mostraron que algunas gotas ya presentaban un proceso de coalescencia, lo que sugiere una tendencia a la inestabilidad en la estructura de la emulsión. Este fenómeno de coalescencia es un indicativo de la necesidad de optimizar las condiciones de formulación para mejorar la estabilidad de la emulsión.

Adicionalmente, se midió el diámetro de las gotas y a través de cinco lecturas se registraron tamaños de 2810, 2841, 2820, 2877 y 2983 nm, los cuales reflejan una distribución relativamente

amplia, lo que podría influir en las propiedades reológicas y de estabilidad de la emulsión. La variabilidad en los tamaños de las gotas también puede afectar la eficiencia de encapsulación y la liberación controlada de los componentes activos.

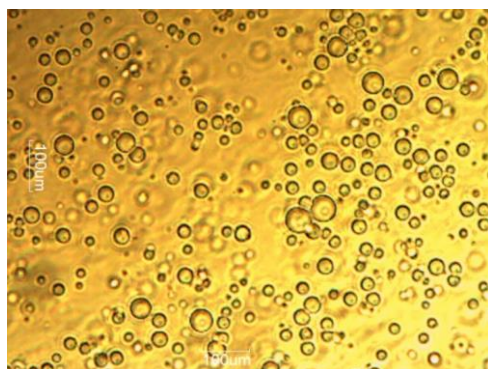


Figura 4. Estructura de la emulsión aceite en agua. Las gotas de aceite y el fluido circundante (dispersión de proteína). Observación 100 x. Se puede observar el proceso de coalescencia.



Figura 5. Estructura de la emulsión aceite en agua (100 x). Se aprecia diversidad en tamaño de gota, así como el proceso de coalescencia.

El análisis de los resultados anteriores revela que la coalescencia es un fenómeno común en emulsiones y microemulsiones, y su control es fundamental para mantener la estabilidad del sistema. Estudios recientes han sugerido que la adición de agentes estabilizantes y la optimización de las condiciones de procesamiento pueden reducir la coalescencia y mejorar la estabilidad de las emulsiones (Gallardo, 2012). Además, la diferencia en los índices de refracción de las fases acuosa y oleosa (1.337 nD y 1.460 nD, respectivamente) proporciona información valiosa sobre las propiedades ópticas de la emulsión, lo cual es relevante para aplicaciones en las que la transparencia y la apariencia visual son importantes (Monrroy & Pereira, 2020).



Actividad antioxidante

Como parte de los resultados obtenidos, se evaluó la actividad antioxidante de las emulsiones formadas mediante el ensayo de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). Los porcentajes de inhibición obtenidos en emulsiones almacenadas durante 48 h a temperaturas de 4 y 25 °C, fueron 68.45 y 62.96 %, respectivamente. Aunque la estabilidad de los compuestos activos puede verse afectada por la temperatura, el linalool mantuvo la capacidad para neutralizar radicales libres.

Conclusiones

Los resultados obtenidos demuestran que el uso de un amortiguador de fosfatos 0.1 M (pH 4.0) en el proceso de extracción proteica mejora la precipitación de proteínas, en comparación con el uso de agua desionizada a diferente porcentaje de saturación de sulfato de amonio.

Se preparó una microemulsión, empleando como material de pared proteínas extraídas de una muestra de harina de chapulín (*Sphenarium purpurascens*), para preservar las propiedades antioxidantes del linalool de factores ambientales adversos, como la temperatura y la humedad, que afectan su estabilidad y eficacia terapéutica. Sin embargo, la estabilidad de la microemulsión fue limitada, con una duración de aproximadamente 3 min antes de la separación de fases debido a la coalescencia y el subsecuente desarrollo de cremado, lo cual sugiere que la incorporación de un agente estabilizante. La variación en el tamaño de gota refleja una distribución amplia que puede ser la causa de la inestabilidad de la emulsión en el tiempo.

El uso de proteínas de chapulín como material de pared en la microencapsulación de linalool no solo preserva sus propiedades antioxidantes, sino que también añade valor a un recurso biotecnológico sostenible y de alto contenido proteico. Este enfoque innovador responde a la necesidad de desarrollar sistemas de protección que promueven el uso de recursos con menor demanda ambiental, alineándose con las tendencias actuales de producción responsable. Los resultados de esta investigación abren nuevas posibilidades para la aplicación del linalool microencapsulado en la industria alimentaria, ofreciendo un ingrediente funcional con propiedades antioxidantes.

Literatura citada

- Benchaar, C., & Henry Greathead. (2011). Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 166-167, 338-355. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.024>.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28, 25-30. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bueno-Duarte, Y., & Mendez-Sánchez, S. (2015). Efecto del linalool sobre la bioenergética de mitocondrias de hígado de rata . *Revista de la facultad de ciencias farmáceuticas y alimentarias*, 22(1), 33-41. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17533/udea.vitae.v22n1a04>
- Fatemeh , K., Hamidian, Y., Behrouzifar, F., Mostafazadeh, R., Ghorbani-HasanSaraei, A., Alizadeh, M., . . . Naderi Asrami, P. (2022). An applicable method for extraction of whole



seeds protein and its determination through Bradford's method. *Food and Chemical Toxicology*, 164. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113053>

Fatemeh , K., Yasamin , H., Fatemeh , B., Reza , M., Azade , G.-H., Marzieh , A., . . . Padideh Naderi . (2022). An applicable method for extraction of whole seeds protein and its determination through Bradford's method. *Food and Chemical Toxicology*, 164. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113053>

Gabelli, S., & C. Duong-Ly, K. (2014). Salting out of Proteins Using Ammonium Sulfate Precipitation. *Methods in Enzymology*, 541, 90-91. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-420119-4.00007-0>

Gallardo, J. R. (2012). *Reología de una emulsión de aceite en agua*. Universidad Nacional Autónoma de México. <http://www.ptolomeo.unam.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/132.248.52.100/1875/Tesis.pdf?sequence=1>

Gutiérrez, A. V. (2020). *Aplicaciones del índice de refracción complejo*. Tesis, Universidad de Valladolid. <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/50510/TFG-G5326.pdf?sequence=1>

Krisna, C., Doung-Ly, B. , S., & Gabelli. (2014). Chapter Seven - Salting out of Proteins Using Ammonium Sulfate Precipitation. (J. Lorsch, Ed.) *Methods in Enzymology*, 541(0076-6879), 85-94. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420119-4.00007-0>.

Monrroy , R., & Pereira , J. (2020). *Review. Recent advances in nanoemulsions design: concepts and trends across nanocosmetics*. Ingeniería UC. <https://doi.org/https://doi.org/10.54139/revinguc.v27i3.146>

Rodea Lucio, E. (2022). *Propiedades funcionales de proteínas de chapulín (Sphenarium purpurascens) y actividad antioxidante de sus hidrolizados enzimáticos*. Tesis de Maestría , Universidad Autónoma Chapingo . <https://repositorio.chapingo.edu.mx/handle/123456789/1719>

Xin , L., Shuai , H., Wenjun , R., Linghua , O., Shuilan , Z., Taotao , D., . . . Jinying , Z. (2023). Study on the interaction mechanism, physicochemical properties and application in oil-in-water emulsion of soy protein isolate and tannic acid. *Journal of Food Engineering*, 357. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111626>.

Comentado [B1]: