

TABLA DE CONTENIDO

Evaluación nutrimental y nutracéutica del <i>Ipomoea Batatas</i>	2
Determinación del contenido de ácido fítico y su relación con el perfil de elementos mayoritarios y traza en alimentos de consumo común en México.....	8
Evaluación de la interacción de α -zeína y calcio en el proceso de nixtamalización mediante pruebas experimentales y simulación de dinámica molecular	14
Efecto de un extracto rico en compuestos fenólicos de frijol negro (<i>Phaseolus Vulgaris L.</i>) como colorante natural en un aderezo tipo vinagreta.....	21
Thermally treated common bean (<i>Phaseolus Vulgaris L.</i>) protein extraction and concentration by ultrafiltration.	27
Caracterización de los residuos de galletería para consumo animal comercializados en el Valle Cuautitlán- Texcoco.....	34
Estudio comparativo entre fórmulas maternizadas de inicio y leche de madres con lactantes menores a 6 meses de edad	38

EVALUACIÓN NUTRIMENTAL Y NUTRACÉUTICA DEL *Ipomoea* *Batatas*

Cristian Eduardo Fierros Jiménez, Erika Judith Ávila Mendoza, Rosa María García Martínez.

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo¹ Facultad de Químico Farmacobiología¹
Tzintzuntzan 173, Matamoros, 58240 Morelia, Michoacán.

Contacto: cristian_edu.fiji@hotmail.es¹ erika_judi95@hotmail.com¹ rmgarcim@umich.mx¹

Resumen

Lo que nos proporciona la energía diaria son los alimentos es por ello que sirven para nutrir o formar tejidos, mantienen la vida y el crecimiento, por consiguiente, los componentes químicos de los alimentos que realizan dichas funciones se denominan nutrientes. El camote es un tubérculo consumido desde la antigüedad y es rico en macronutrientes y micronutrientes además de ser un antioxidante por naturaleza. En este proyecto se determinó el análisis proximal y capacidad antioxidante del camote *Ipomoea batatas* en sus tres variedades, usando la materia prima en base fresca mediante la tecnología propuesta por las Normas Técnicas de Referencia del AOAC. El estudio del tubérculo en cuanto a las determinaciones efectuadas demuestra correlación entre la actividad antioxidante y los compuestos fenólicos es decir tienen relación.

Introducción

La palabra camote es de origen nahuatl, dialecto de los antiguos habitantes de México y Centroamérica. La batata, también conocida como camote, boniato o moniato en los países de habla hispana, se designa en otros idiomas occidentales como: batata doce en portugués, Patate douce en francés, patata dolce en italiano, batate en alemán, sweet potato en inglés. El género *Ipomoea* de la familia Convolvulaceae tiene alrededor de 600 especies distribuidas en los trópicos y subtropicos de todo el mundo (Linares, E., *et al* 2008). El camote es una planta de 1 a 6 metros de altura, muy tolerante a condiciones edáficas y climáticas variables; es una enredadera perenne de hojas cordiformes, alternas, pecioladas y flores simpétalas, pentámeras de buen tamaño y muy atractivas. La raíz es larga y fusiforme con la piel parda rojiza a púrpura y pulpa similarmente variable (Benavides, 2011; Citado en Moyer, 1991).

Exposición

Proporcionar una visión panorámica a cerca del tubérculo, algunos de sus componentes químicos así mismo dar a conocer su capacidad antioxidante para proyectos de industrialización futuros en sus tres variedades: Amarillo, Morado y Blanco.

Discusión de Resultados

Vitamina C (Ácido ascórbico) mg/ml	Camote Morado	Camote Amarillo	Camote Blanco
	25.42	29.20	19.08

Tabla 1. Valores experimentales obtenidos en la determinación de ácido ascórbico en tres variedades de camote.

Almidón	Camote Morado	Camote Amarillo	Camote Blanco
%	23.39	12.09	13.77

Tabla 2. Valores experimentales obtenidos en la determinación de almidón en tres variedades de camote.

Polifenoles Totales	Camote Morado	Camote Amarillo	Camote Blanco
mg/ml	146.67± 0	227.59±16.56	68.00±2.36

Tabla 3. Valores experimentales obtenidos en la determinación de Polifenoles totales en tres variedades de camote.

Carotenoides Totales	Camote Morado	Camote Amarillo	Camote Blanco
mg/100 g	68.68	58.29	108.80

Tabla 4. Valores experimentales obtenidos en la determinación de Carotenoides totales en tres variedades de camote.

(%) Porcentaje de inhibición DPPH*			
Muestra	0 minutos	30 minutos	60 minutos
Camote Morado	46.72±0.89	50.26±1.78	50.26±1.78
Camote Amarillo	47.80±0.70	52.57±0.83	54.75±0.39
Camote blanco	46.52±2.06	50.31±0.15	53.18±1.05

Tabla 5. Valores experimentales obtenidos en la determinación de actividad antioxidante DPPH en tres variedades de camote.

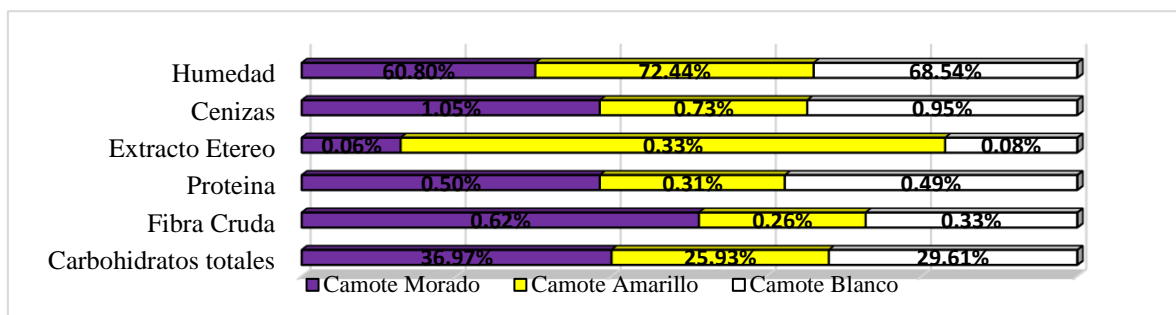
(%) Porcentaje de inhibición ABTS*							
MUESTRA	Min 1	Min 2	Min 3	Min 4	Min 5	Min 6	Min 7
Camote Morado	39.14±1.73	42.55±1.67	44.91±1.29	46.65±1.29	47.70±1.74	48.46±1.23	49.22±1.24
Camote Amarillo	29.86±3.92	33.05±4.48	35.26±5.02	37.29±5.18	38.65±5.67	39.89±6.40	40.76±6.75
Camote Blanco	9.80±2.11	10.94±2.28	11.85±2.43	12.48±2.28	12.42±2.30	12.81±2.31	12.66±2.10

Tabla 6. Valores experimentales obtenidos en la determinación de actividad antioxidante ABTS en tres variedades de camote.

Fibra Total Dietética			
	F.S.D	F.I.D	F.T.D
Camote Morado	1.20%	12.36%	13.56%
Camote Amarillo	1.18%	7.15%	8.33%
Camote Blanco	1.88%	7.77%	9.65%

Tabla 7. Determinación de Fibra Total Dietética en tres variedades de camote. Simbología: F.S.D¹ Fibra Soluble Dietética, F.I.D¹ Fibra Insoluble Dietética, F.T.D¹ Fibra Total Dietética.

Grafica 1. Determinación de un análisis bromatológico realizado a tres variedades de camote.



Dentro de los resultados obtenidos en el bromatológico se puede observar que las variedades de camote que se manejaron son distintas entre sí en cuanto al contenido de macronutrientes. Para el parámetro de humedad en la variedad amarilla se obtuvo un valor mayor respecto a la variedad morada y blanca con un 72.44%; Sobre contenido de materia inorgánica, la variedad morada presentó un 1.05% más que la amarilla y blanca; En el parámetro de fibra indigerible en el camote morado se obtuvo un 0.62% mayor a diferencia del blanco y amarillo; en la determinación lípidos es el camote amarillo con un 0.33% más que la variedad morada y blanca; para el contenido proteico la variedad morada presentó un valor de 0.50%. En lo que respecta a la cantidad de almidón y carbohidratos totales digeribles presentes, el de mayor contenido es el camote morado con un 23.39% y 36.97% respectivamente. Se realizó la determinación de fibra dietética total por el método enzimático de Prosky y cols., año 1992 obteniéndose un valor de 13.56% para el camote morado.

En cuanto al contenido de micronutrientes se destaca el camote amarillo en cuanto al mayor contenido de vitamina C con un valor de 29.20 mg/ml a diferencia del 25.42 mg/ml de la variedad morada y 19.08 mg/ml en la blanca. En la determinación de polifenoles totales el camote Amarillo presentó un 227.59 mg/ml más que la variedad morada y blanca con un 146.67 mg/ml y 68.00 mg/ml, respectivamente. Para el parámetro de carotenoides, en la variedad blanca se obtuvo un valor de 108.80 mg/100g a diferencia de 68.68 mg/100g en la variedad morada y 58.29 mg/100g en la blanca.

La capacidad antioxidante se obtuvo mediante los métodos de DPPH y ABTS, este parámetro está correlacionado con el contenido de compuestos fenólicos totales. Por medio del ABTS, se encontraron valores de % de inhibición de 49.22% en variedad morada, 40.76 % en amarilla y 12.66% en blanca. Aplicando la metodología DPPH se obtuvieron 50.26%, 54.75% y 53.18% en variedad morada, amarilla y blanca respectivamente, destacando la variedad amarilla. Los compuestos fenólicos son un gran grupo de antioxidantes naturales; donde el consumo de estas fuentes importantes es en general de frutas, vegetales y cereales. Su importancia radica que presentan efectos benéficos en la salud. La asociación entre una dieta rica en frutas y vegetales está relacionada a una disminución de riesgo de enfermedades cardiovasculares, y ciertas formas de cáncer. Diversos estudios han mostrado que los radicales libres presentes en el organismo humano causan daño oxidativo a diferentes moléculas, tales como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos y tiene que ver en la iniciación en algunas enfermedades degenerativas, por lo que estos componentes antioxidantes son capaces de neutralizar estos radicales propiciando una

modulación de detoxificación enzimática, estimulación del sistema inmune, disminución de la agregación plaquetaria y modulación del metabolismo hormonal.

Materiales y Método

Se trabajo con muestras provenientes de Charo municipio el cual está situado geográficamente al norte del Estado de Michoacán en las coordenadas 19°45' de latitud norte y 101°03' de longitud oeste, a una altura de 1,900 msnm. Limita al norte con el municipio de Tarímbaro y con el municipio de Álvaro Obregón, al este con Indaparapeo; al sur con Tzitzio y al oeste y suroeste con Morelia. Y las determinaciones se realizaron de acuerdo con la AOAC.

- **Humedad:** Basada en la pérdida de peso que sufre la muestra por calentamiento en estufa de secado hasta obtener peso constante. El porcentaje de humedad se calcula con la siguiente:
$$\% \text{ humedad} = (w1 + w2) - w3 * 100$$
 siendo w1 el peso constante del crisol y w3 peso constante de crisol y muestra después del secado, w2 el peso de la muestra utilizada.
- **Cenizas:** Se hace la carbonización de la muestra (ignición) posterior la incineración de la muestra a 600 °C en mufla para quemar todo el material orgánico, al material inorgánico no destruido se le llama ceniza. El porcentaje de materia inorgánica se calcula con la siguiente:
$$\% \text{ cenizas} = (w3 - w1)/w2 * 100$$
 siendo w3 el peso constante del crisol y muestra después de la incineración y w1 el peso contante del crisol, w2 el peso de la muestra utilizada.
- **Fibra Cruda:** Este método se basa en la digestión ácida y alcalina de la muestra obteniéndose un residuo de fibra cruda y sales que con calcinación posterior en mufla se determina la fibra cruda. El porcentaje de fibra indigerible se calcula con la siguiente: $[(w2 - w1) - (w3 - w1)]g * 100$ siendo w2 peso constante del crisol y muestra después del secado en estufa y w3 el peso constante del crisol y muestra después de mufla, w1 el peso constante del crisol, g se refiere a los gramos de muestra utilizados.
- **Extracto Etéreo:** Se realiza la extracción de grasa en la muestra mediante el uso de un solvente orgánico éter etílico en un equipo de soxhlet en donde se deja un reflujo de 3 horas aproximadamente dependiendo de la cantidad de grasa visible. El porcentaje de lípidos, se calcula con la siguiente: $\frac{w3-w1}{w2} * 100$ siendo w3 el peso constante del matraz balón con el extracto después del secado en estufa y w1 el peso constante del matraz balón, w2 la cantidad de muestra utilizada.
- **Proteína:** Se realiza con el método Kjeldahl el cual se basa en la reducción del nitrógeno orgánico de la muestra hasta amoniaco por la combustión con ácido sulfúrico y catalizadores metálicos resultando sal de amonio que posteriormente se destila desprendiéndose el nitrógeno el cual se fija con una solución acida. El porcentaje de contenido proteico, se calcula con la siguiente: $\frac{[VaNa - VbNb] - [VaNa - VbNb] * 0.014 * 6.25}{g} * 100$ donde Va es el volumen de ácido usado, Vb el volumen de base usado; Na normalidad del ácido y Nb normalidad de la base, g se refiere a los gramos de muestra utilizados, 0.014 es un factor utilizado para obtener el % de N₂ presente en la muestra por ultimo 6.25 es un factor de conversión de nitrógeno a proteína cruda.

- **Vitamina C:** Se realizó con el método del 2,6 dicloroindofenol el cual es un indicador redox que es incoloro en forma reducida y azul en su forma oxidada, por lo tanto, en presencia de vitamina C se reduce decolorándose. El contenido de ácido ascórbico, se calcula con la siguiente:

$$mg\ Vit\ C = (V - V1) * \frac{f}{M} * \frac{U}{Y}$$
 donde V y V1 son los mililitros gastados del indicador al titular la muestra y blanco respectivamente, f son los mg contenidos de ácido ascórbico contenidos en 1 ml de solución titulada del indicador, M peso de la muestra, U volumen inicial conocido, Y volumen de la alícuota tomada para la titulación.

- **Almidón:** se utilizó la prueba cuantitativa consiste en utilizar la solución de glucosa resultante de su hidrólisis ácida; para reducir el cobre del reactivo de Fehling. El contenido de almidón, se calcula con la siguiente: $\frac{A+B}{ml\ muestra\ gastados} * \frac{500}{ml\ muestra\ gastados} * \frac{100}{g} * 0.9$ donde A+B es el factor Fehling, g es la cantidad de muestra usada y 0.9 es el factor de conversión de glucosa a Almidón.

- **Carotenos Totales:** Se basa en la extracción y cuantificación de Xantofilas por espectrofotometría a una longitud de onda de 474 nm. El contenido de carotenoides, se calcula con la siguiente: $\frac{Abs * D * F}{gM} = \frac{g\ Xantofilas}{Kg\ muestra}$ donde Abs es la absorbancia al realizar la medición en espectro, D el factor de dilución, F el factor de extinción de la luteína, gM la cantidad de muestra utilizada.

- **Polifenoles Totales:** Se utilizó el ensayo Folin-Ciocalteu este se usa como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. El contenido de polifenoles, se calcula con la siguiente: $x = \frac{Y - 0.0024}{0.0012}$ en donde Y es la absorbancia de la muestra, para lo cual se realiza previamente una curva de calibración y se obtiene la ecuación de la recta y con ello se realiza un despeje para conocer la cantidad de polifenoles presente en cada variedad de camote.

- **Capacidad antioxidante DPPH Y ABTS:** Este estudio evalúa la actividad antioxidante usando el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y 2,2-azinobis-3-etil-benzotiazolin-6-acido sulfónico (ABTS). Este método se utiliza para determinar la capacidad antioxidante de alimentos y compuestos sintéticos. El porcentaje de inhibición se calcula con la siguiente: $\% I = \frac{A - A1}{A} * 100$ donde A y A1 son absorbancias del blanco y la muestra respectivamente.

- **Fibra Dietética Total:** Se llevó a cabo con un método enzimático de la marca Sigma la cual incluye la determinación de fibra insoluble y soluble respectivamente. El contenido de FTD, se calcula con la siguiente: $B = R\ blank - P\ blank - A\ blank$ $\%TDF = [R\ sample - P\ sample - A\ sample - B/sw] * 100$ donde: TDF significa Fibra dietética total, R peso promedio de residuos, P peso promedio proteína, A peso promedio de cenizas y sw peso promedio de muestras.



Ilustración 2. proteína:
Digestión ácida de la
muestra con H_2SO_4
0.1111 N



Ilustración 3. Lípidos:
Obtención de grasa de la
muestra mediante sistema
Soxhlet y éter etílico como
solvente.



Ilustración 1. Fibra
Cruda: Digestión ácida de
la muestra con H_2SO_4
1.25%.

Conclusiones

De acuerdo con los resultados del proyecto se concluye que pese a que todas las variedades son del mismo lugar son diferentes en su composición de macronutrientes y micronutrientes, contenido de polifenoles y carotenos por lo que influye el estado de maduración del camote, medios de conservación, almacenamiento, la temporada de cosecha, el tipo de suelo, el clima, el tipo de agua con los que son regados y/o pesticidas, abonos utilizados. El camote es una raíz tuberosa comestible compuesta químicamente por carbohidratos, proteínas, fibra, antioxidantes, vitaminas A, E, C, ácido fólico, β -caroteno, minerales como K y Ca. Michoacán es el líder productor a nivel nacional en sus variedades blanca, amarilla y morada. Sin embargo, no se le ha impulsado debidamente tanto para su consumo como industrialización. Es importante comentar que los resultados anteriores servirán de fundamentación para la elaboración de nuevos alimentos dirigidos a poblaciones de bajos recursos, vulnerables y sin oportunidad al acceso de productos básicos alimenticios.

Por último, las variedades de camote distintas entre sí presentan actividad antioxidante de acuerdo al método más selectivo del radical DPPH aproximadamente en IC50, y que existe también una correlación directa entre los valores de compuestos fenólicos totales, lo que explica que este fruto es altamente recomendable en una dieta saludable otorgando sanos beneficios, tal como la prevención de ciertos tipos de cáncer, infartos, mediante su uso al comerlo podemos prevenir daños por radicales libres y prevenir daños a grasas, proteínas y genes de nuestro organismo.

Bibliografía

- AOAC. Horwitz, W. (Ed). (2005). Official methods of Analysis of AOAC International, 18th edition, AOAC International, Maryland, USA.
- Linares, E., R. Bye, D. Rosa-Ramírez y R. Pereda- Miranda. 2008. El camote. CONABIO. Biodiversitas 81:11-15.
- UNAM. 2016-06-24. (en línea) consultado 2019-06-06, disponible: <http://www.fundacionunam.org.mx/unam-al-dia/la-unam-te-explica-los-beneficios-del-camote/>

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ÁCIDO FÍTICO Y SU RELACIÓN CON EL PERFIL DE ELEMENTOS MAYORITARIOS Y TRAZA EN ALIMENTOS DE CONSUMO COMÚN EN MÉXICO

Carolina León Callejas¹, César Omar Guevara Moreno¹, Alan Alexander González Ibarra¹, Eunice Yáñez Barrientos¹.

¹Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas,
Departamento de Química

Correo electrónico: k.rito@live.com; eybarrientos@ugto.mx

Resumen

Dada la importancia de la actividad biológica que tiene el ácido fítico y sus fosfatos de inositol derivados (fitatos) en la salud del ser humano y su amplio uso en la producción de alimentos; en este trabajo se realizó la determinación del contenido total de fitatos en diferentes alimentos (harinas, fórmulas lácteas, semillas y alimento para bebé) mediante la técnica espectrofotométrica de determinación indirecta; así mismo, se evaluó su relación con la biodisponibilidad de los elementos Zn, Ca, Fe, Mg, K y P. Los valores encontrados del contenido de fitatos en las muestras analizadas fueron de 23.2 a 47.0 mg g⁻¹, las relaciones molares calculadas para cada elemento determinado muestran que la biodisponibilidad del Zn, Fe y Ca puede afectarse por la presencia de fitatos ya que todas las muestras sobrepasan los límites superiores recomendados por la OMS.

Introducción

En los últimos años el consumo de alimentos manufacturados a partir de cereales, granos, semillas y/o derivados de plantas ha ido en aumento; así mismo, se ha hecho más frecuente en esquemas de producción alimenticia el uso de aditivos procedentes de fuentes naturales como las anteriormente mencionadas cuyo objetivo ha sido la mejora de la calidad nutricional mediante el aumento de la biodisponibilidad de proteínas, vitaminas y minerales; como también eliminar la asimilación de componentes no deseados en el tracto digestivo y la mejora o conservación de propiedades reológicas de los alimentos. Dentro de los componentes principales de este tipo de alimentos se encuentran el mio-inositol-1,2,3,4,5,6-hexakis fosfato (Ins6P), usualmente llamado ácido fítico (AF) y sus derivados como fosfatos de inositol (Ins5P y Ins4P), aunque estos presentes en menor abundancia. El AF constituye del 1-5% del peso de algunas plantas y típicamente representa el 70% del fósforo total en semillas [1, 2]. El fósforo presente en estas moléculas no es biodisponible para animales no rumiantes (monogástricos) incluido el ser humano debido a que carecen de la enzima fitasa, la cual se requiere para separar el fósforo de estos compuestos; sin embargo, dentro del tracto gastrointestinal el Ins6P forma complejos insolubles con algunos elementos nutricionalmente importantes como Fe, Zn, Ca y Mg, impidiendo su absorción, lo que provoca deficiencias minerales y por tanto un efecto en procesos fisiológicos vitales [3-6], siendo los lactantes y adultos mayores los más susceptibles debido a la alta ingesta requerida de estos elementos. Por otro lado, al AF también se le han atribuido efectos benéficos relacionados con la prevención de ciertos tipos de cáncer, daño al corazón y formación de cálculos renales [7-11]. Cabe mencionar que este

compuesto es comúnmente utilizado en la industria alimenticia como conservador de una amplia gama de productos como carnes, pastas, alimentos enlatados, productos lácteos, salsas, jugos, pan, bebidas alcohólicas. Sin embargo, no existe una regulación en su uso.

Exposición

Dada la importancia de la actividad biológica que tiene el ácido fítico en la salud del ser humano (tóxica o benéfica), su amplio uso en la producción de alimentos, así como a la falta de regulación estricta en la aplicación de este compuesto como conservante de comida, resulta necesario implementar en los esquemas de producción de alimentos la determinación del contenido de fitatos en relación con el contenido total de elementos esenciales. Actualmente en México no existen muchos estudios de evaluación de niveles de fitatos y contenido de elementos esenciales, razón por la que en este trabajo se propuso determinar los niveles de fitatos totales en alimentos de consumo común en México como harinas, semillas, fórmulas lácteas y alimentos para infantes, así como evaluar la biodisponibilidad de elementos esenciales como Fe, Zn y Ca principalmente.

Materiales y métodos

- Tratamiento de muestra

Los alimentos analizados fueron adquiridos en el mercado local de la ciudad de Guanajuato, siendo en total 20 muestras, las cuales se clasificaron en harinas (H), fórmulas lácteas (FL), alimentos para bebé (AB) y semillas (S). Las muestras fueron homogeneizadas con nitrógeno líquido y liofilizadas para su preservación y posterior análisis. Las condiciones de extracción fueron las siguientes: a 100 mg de la muestra liofilizada se le adicionó 3 ml de HCl 1.0M y se agitó por 3h a una temperatura de 60°C; posteriormente las muestras fueron centrifugadas a 5000 g durante 30 min, se recuperó el sobrenadante el cual se aforó con agua milli-Q a un volumen de 50 ml.

- Determinación del contenido de ácido fítico por espectrofotometría UV/Vis

Para llevar a cabo la determinación del contenido de ácido fítico en las muestras seleccionadas se utilizó la técnica de espectrofotometría UV/vis de determinación indirecta de ácido fítico; esta metodología se basa en la reacción de reemplazamiento del ligando de un complejo colorido de Fe (III) y la subsecuente formación del complejo incoloro de Fe (III)-fitato; se tomó 1 ml de muestra extraída y aforada o estándar y se adicionó 500 µl de salicilato de hierro (III) 16mM, la muestra se agitó por 3 minutos y posteriormente se llevó a un volumen final de 3ml con agua milli-Q; tanto para muestras como para estándares se monitoreó señal analítica a 525nm en la cual el salicilato de hierro presenta su máxima absorción, cada muestra se analizó por triplicado. La cuantificación se llevó a cabo mediante el método de calibración externa, el rango de calibración utilizado fue de 0 – 50 mg L⁻¹ de ácido fítico. El equipo utilizado para realizar el análisis fue el espectrofotómetro UV/Vis VARIAN 50 Cary Probe.

- Determinación del contenido total de elementos mayoritarios por espectrometría de emisión atómica con plasma sostenido por microondas (MP-AES).

La determinación del contenido total de elementos mayoritarios en los alimentos adquiridos se realizó a partir de biomasa hidrolizada (100 mg de muestra liofilizada, 1 mL de HNO₃ (69%), 70°C por 30 min,

125°C por 2 hr; 1.0 mL de H₂O₂, 125°C por 30 min). El análisis se realizó en el equipo MP-AES 4100 de Agilent Technologies. La selección de las longitudes de onda para cada elemento se realizó con base en la obtención de la mejor relación señal/ruido y la menor detección de interferentes, el proceso de selección de parámetros del equipo se realizó mediante la variación de la presión de nebulización y posición de lectura, para cada longitud de onda; las longitudes de onda de emisión monitoreadas fueron 445.478 nm, 279.553 nm, 259.940nm, 769.897nm y 213.618 nm para Ca, Mg, Fe, K y P respectivamente. La cuantificación se llevó a cabo mediante el método calibración externa, utilizando siete niveles de concentración para cada uno de los elementos (0, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10 mg L⁻¹); aunado al análisis de elementos mayoritarios por MP-AES, se realizó el análisis de contenido de Zn por espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) monitoreando Zn⁶⁶ y Zn⁶⁸. Tanto para el análisis realizado por MP-AES como por ICP-MS, se realizaron tres determinaciones para cada una de las muestras, reportándose los valores promedios con sus respectivos valores de desviación estándar, así mismo, para asegurar la exactitud de los resultados analíticos, con cada corrida de muestras se llevó a cabo el análisis del material de referencia NIST 1572 Citrus Leaves.

Discusión de resultados

En la Tabla 1 se presentan el promedio de los resultados obtenidos de las tres réplicas realizadas para cada muestra, así como sus respectivos valores de desviación estándar; los niveles de fitatos determinados en las muestras analizadas fueron de 23.2 a 47.0 mg g⁻¹; para el caso de alimentos para bebés, se ha reportado que los niveles de fitatos en este tipo de alimento se encuentran en el rango de 1.0 a 36.0 mg g⁻¹ [45], cabe mencionar que el contenido de fitatos en nuestro análisis para los alimentos de bebé (muestras 10 AB a 16 AB) van desde 23.2 a 31.2 mg g⁻¹ lo que concuerda con lo reportado en la bibliografía; por otro lado, las fórmulas lácteas analizadas en este trabajo (muestras de 6 FL a 9 FL) de acuerdo al fabricante no contienen ingredientes de origen vegetal que puedan aportar fitatos, sin embargo, los niveles encontrados en estas formulaciones son similares a los valores encontrados en las demás muestras analizadas (26.0 - 29.0 mg g⁻¹), lo que podría sugerir que, durante su fabricación los fitatos son adicionados como conservantes para este tipo de alimentos. Las desviaciones estándar relativas obtenidas para todas las muestras fueron menores al 6% lo que indica una buena repetibilidad del procedimiento analítico desde el tratamiento de muestra hasta el análisis.

Tabla 1.- Resultados obtenidos de la determinación de fitatos totales por UV-Vis, promedio ± DE, mg g⁻¹ (masa seca), n=3

Muestra	Valor obtenido	Muestra	Valor obtenido
1 H	27.1 ± 1.6	11 AB	27.2 ± 0.9
2 H	24.8 ± 0.5	12 AB	30.9 ± 1.6
3 H	27.3 ± 0.4	13 AB	25.5 ± 0.7
4 H	24.1 ± 1.3	14 AB	27.4 ± 1.4
5 H	29.2 ± 1.8	15 AB	23.2 ± 0.7
6 FL	29.0 ± 1.3	16 AB	31.2 ± 1.4
7 FL	26.0 ± 2.3	17 S	33.2 ± 1.6
8 FL	28.0 ± 0.8	18 S	29.7 ± 1.8
9 FL	28.8 ± 1.6	19 S	47.0 ± 1.6
10 AB	27.4 ± 6.9	20 S	27.5 ± 1.1

*H-harina, FL-fórmula láctea, AB-alimento para bebé, S-semilla

Con el fin de evaluar la calidad nutricional de los alimentos seleccionados en función del contenido y la biodisponibilidad de los elementos esenciales mayoritarios y traza como Ca, Fe, K, Mg, P y Zn, se llevó a cabo el análisis del perfil iónico de cada muestra mediante las técnicas de espectrometría atómica; a partir de los datos obtenidos por las dos técnicas utilizadas (MP-AES e ICP-MS) se realizó el cálculo para evaluar la relación entre el contenido de fitatos y la biodisponibilidad de los elementos anteriormente mencionados en los alimentos seleccionados, para ello y de acuerdo con la bibliografía se utilizó la fórmula de la Figura 1, donde 660 y Me corresponden a las masas molares del ácido fítico y del elemento determinado respectivamente, los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 2

$$\text{relación molar fitatos:} \frac{\text{fitatos} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) / 660}{\text{elemento} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) Me}$$

Figura 1.- Ecuación para el cálculo de la relación molar entre ácido fítico y los elementos determinados.

Con el fin de poder determinar la calidad nutricional de los alimentos en función de la biodisponibilidad de elementos como el Ca, Zn y Fe la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido valores máximos recomendables en los que estos elementos pueden ser captados y aprovechados por el organismo una vez que es ingerido el alimento; para el caso del Zn se recomienda ingerir alimentos con valores de relaciones molares menores de 15, para el caso de Fe la relación molar debe ser menor a 1, mientras que para el Ca la relación máxima es de 0.17; para otros elementos como el Mg y K no se han establecido valores recomendables. Con base en lo anterior los resultados obtenidos (Tabla 2) muestran que en las 20 muestras analizadas para Fe, Ca y Zn las relaciones molares sobrepasan los valores recomendados por la OMS, lo que sugiere que estos elementos no podrían ser biodisponibles afectando la calidad nutricional de estos alimentos. Se debe poner especial atención en aquellos alimentos que son consumidos por infantes como las fórmulas lácteas y el alimento para bebé ya que a pesar de que el fabricante menciona que son fortificados con minerales los resultados muestran alimentos con baja calidad nutricional por la posible baja biodisponibilidad de Fe, Ca y Zn los cuales son primordiales en las primeras etapas de crecimiento.

Tabla 2. Valores de las relaciones molares calculadas a partir del contenido de fitatos/elementos esenciales.

Muestra	AF:Ca	AF: K	AF:Mg	AF:Fe	AF:P	AF:Zn
1 H	0.85 ± 0.01	2.22 ± 0.03	3.11 ± 0.19	16.2 ± 0.2	1.11 ± 0.19	88.1 ± 7.0
2 H	6.30 ± .016	1.78 ± 0.03	2.88 ± 0.18	48.8 ± 3.50	1.03 ± 0.27	37.4 ± 1.5
3 H	1.60 ± 0.14	0.83 ± 0.00	1.48 ± 0.04	49.4 ± 2.61	0.65 ± 0.09	86.6 ± 8.1
4 H	4.62 ± 0.87	1.49 ± 0.01	1.27 ± 0.10	37.1 ± 3.07	0.47 ± 0.02	40.0 ± 7.0
5 H	3.20 ± 0.08	0.70 ± 0.00	1.38 ± 0.05	75.8 ± 5.12	0.59 ± 0.02	41.5 ± 5.1
6 FL	0.58 ± 0.02	0.30 ± 0.00	2.01 ± 0.07	81.0 ± 8.39	0.43 ± 0.03	47.3 ± 5.9
7 FL	0.30 ± 0.01	0.28 ± 0.00	1.41 ± 0.05	17.9 ± 0.61	0.38 ± 0.03	26.1 ± 1.2
8 FL	0.50 ± 0.00	0.33 ± 0.00	1.78 ± 0.09	31.9 ± 0.52	0.32 ± 0.01	32.5 ± 2.0
9 FL	0.30 ± 0.00	0.29 ± 0.00	1.62 ± 0.07	18.0 ± 0.63	0.34 ± 0.02	41.6 ± 4.6
10 AB	0.47 ± 0.02	4.61 ± 0.22	1.85 ± 0.11	19.3 ± 0.37	0.41 ± 0.01	42.8 ± 4.3
11 AB	0.28 ± 0.01	4.39 ± 0.10	1.44 ± 0.06	10.3 ± 0.10	0.33 ± 0.03	32.8 ± 2.8
12 AB	0.43 ± 0.03	0.41 ± 0.01	1.75 ± 0.07	11.87 ± 0.30	0.41 ± 0.01	28.3 ± 1.4
13 AB	0.70 ± 0.02	0.55 ± 0.11	1.73 ± 0.07	11.4 ± 0.23	0.35 ± 0.02	36.9 ± 1.2
14 AB	0.29 ± 0.00	2.08 ± 0.13	1.78 ± 0.07	9.3 ± 0.23	0.29 ± 0.02	38.1 ± 0.8
15 AB	0.40 ± 0.01	0.28 ± 0.09	1.52 ± 0.06	13.6 ± 0.35	0.29 ± 0.01	51.5 ± 3.5
16 AB	0.33 ± 0.00	0.22 ± 0.00	1.58 ± 0.05	24.3 ± 1.24	0.35 ± 0.01	42.8 ± 3.7
17 S	1.74 ± 0.10	0.65 ± 0.01	0.75 ± 0.01	45.8 ± 2.2	0.96 ± 0.37	69.0 ± 2.6
18 S	2.80 ± 0.16	0.33 ± 0.00	1.04 ± 0.03	66.9 ± 5.82	0.44 ± 0.02	65.1 ± 5.4
19 S	0.75 ± 0.02	0.45 ± 0.00	0.74 ± 0.01	65.4 ± 1.04	0.55 ± 0.01	87.7 ± 6.7
20 S	4.72 ± 0.60	0.84 ± 0.01	1.23 ± 0.04	32.7 ± 1.60	1.00 ± 0.02	63.2 ± 3.9

*H-harina, FL-fórmula láctea, AB-alimento para bebé, S-semilla

Aunque no se han establecido los valores de las relaciones molares entre el contenido de fitatos y de los demás elementos determinados como Mg, K y P que para el caso de estos elementos los valores van de 0.28 a 4.61 para el K, siendo las muestras de alimento para infante 12, 13 y 18 las que mayores relaciones molares presentan; para el caso del Mg las relaciones van de 0.74 a 3.11,

Conclusiones

En este trabajo se realizó la determinación del contenido de ácido fítico en diferentes productos alimenticios de consumo común y su relación con la biodisponibilidad de elementos esenciales, para lo cual se llevó a cabo:

1. La selección de 20 muestras en el mercado local de Guanajuato, las cuales se dividieron en muestras con ingredientes de origen vegetal (harinas de trigo, semillas y suplementos alimenticios para bebé hechos a base de cereales) y alimentos que no contenían ningún ingrediente de origen vegetal (leches en polvo).
2. La determinación del contenido de fitatos mediante la técnica espectrofotométrica de determinación indirecta, en donde los valores encontrados para las muestras analizadas fueron de 23.2 a 47.0 mg g⁻¹. Los niveles de fitatos encontrados en alimentos para bebé fueron de 27.4 a 31.2 mg g⁻¹ lo que coincide con valores determinados en otros estudios (1.0 a 36 mg g⁻¹). Así mismo se determinó la posible presencia de fitatos en muestras en las que según el fabricante no contienen ingredientes vegetales (leches en polvo).
3. A partir de los resultados obtenidos de la determinación del contenido total de Zn por ICP-MS y elementos mayoritarios como Ca, Fe, Mg, K y P por MP-AES se realizó el cálculo de las

relaciones molares entre fitatos y los elementos determinados en donde se pudo observar que los alimentos fortificados con minerales (leches en polvo y alimentos para bebé principalmente) presentan valores de relaciones molares superiores a las recomendadas por la organización mundial de la salud, lo que sugiere que la cantidad de fitatos presente en este tipo de alimento podría disminuir la biodisponibilidad de estos elementos, por lo cual se debe poner especial interés en los esquemas de control de calidad en la producción de este tipo de alimentos.

Bibliografía

1. Febles, C.I., et al., Phytic Acid Level in Wheat Flours. *Journal of Cereal Science*, 2002. 36(1): p. 19-23.
2. Reddy, N.R., S.K. Sathe, and D.K. Salunkhe, Phytates in Legumes and Cereals, in *Advances in Food Research*, C.O. Chichester, E.M. Mrak, and G.F. Stewart, Editors. 1982, Academic Press. p. 1-92.
3. Hallberg, L., M. Brune, and L. Rossander, Iron absorption in man: ascorbic acid and dose-dependent inhibition by phytate. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1989. 49(1): p. 140-4.
4. Barbro, N., S. Brittmarie, and C. ÅKe, Reduction of the phytate content of bran by leavening in bread and its effect on zinc absorption in man. *British Journal of Nutrition*, 2008. 53(1): p. 47-53.
5. Weaver, C.M., et al., Human Calcium Absorption from Whole-Wheat Products. *The Journal of Nutrition*, 1991. 121(11): p. 1769-1775.
6. Davidsson, L., et al., Manganese absorption in humans: the effect of phytic acid and ascorbic acid in soy formula. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1995. 62(5): p. 984-7.
7. Shamsuddin, A.M., Anti-cancer function of phytic acid. *International Journal of Food Science & Technology*, 2002. 37(7): p. 769-782.
8. Lv, Y., et al., Phytic acid attenuates inflammatory responses and the levels of NF- κ B and p-ERK in MPTP-induced Parkinson's disease model of mice. *Neuroscience Letters*, 2015. 597: p. 132-136.
9. Liu, G., et al., Inositol hexaphosphate suppresses growth and induces apoptosis in HT-29 colorectal cancer cells in culture: PI3K/Akt pathway as a potential target. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2015. 8(2): p. 1402-1410.
10. Raina, K., et al., Inositol Hexaphosphate Inhibits Tumor Growth, Vascularity, and Metabolism in TRAMP Mice: A Multiparametric Magnetic Resonance Study. *Cancer Prevention Research*, 2013. 6(1): p. 40-50.
11. Fox, C.H. and M. Eberl, Phytic acid (IP6), novel broad spectrum anti-neoplastic agent: a systematic review. *Complementary Therapies in Medicine*, 2002. 10(4): p. 229-234.

EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE α -ZEÍNA Y CALCIO EN EL PROCESO DE NIXTAMALIZACIÓN MEDIANTE PRUEBAS EXPERIMENTALES Y SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR

Carlos Z. Gómez-Castro¹, José A. Rodríguez², Julián Cruz-Borbolla², Adriana Quintanar-Guzman³, Irais Sanchez-Ortega², Esmeralda Rangel-Vargas², Eva M. Santos²

¹CONACYT Research Fellow, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Ciudad del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo, Km 4.5, CP. 42184 Mineral de la Reforma, Hidalgo, Mexico

²Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Química, Ciudad del Conocimiento, Crta Pachuca-Tulancingo, Km 4.5 s/n, CP. 42184 Mineral de la Reforma, Hidalgo, Mexico

³Adriana Consulting Services Incorporated, 2626 Topflite Dr. Akron, OH 44312, USA

e-mail: josear@uaeh.edu.mx

Resumen

Se evaluaron las posibles interacciones entre α -zeína y calcio en el proceso de nixtamalización desde un punto de vista multidisciplinar, considerando el efecto que tienen las interacciones en las propiedades térmicas de la harina nixtamalizada. El análisis mediante SDS-PAGE de las prolaminas de maíz nixtamalizado no reveló diferencias entre las zeínas de maíz nixtamalizado y el control. Sin embargo, la electroforesis capilar de afinidad indicó una mayor afinidad de la α -zeína por el calcio en maíz nixtamalizado y se calculó la constante. La aplicación de simulaciones de dinámica molecular mostró que la interacción entre α -zeína y Ca^{2+} es más favorable a través del grupo C-ter que a través de Glu48. Sin embargo, en exceso de iones Ca^{2+} son posibles ambas uniones, confirmando la agregación de α -zeína mediante puentes de calcio.

Introducción

El proceso de nixtamalización de maíz es ampliamente conocido en México con una gran diversidad de preparaciones. Si bien, la gelatinización de almidón del maíz durante la nixtamalización ha sido ampliamente estudiada, las proteínas presentes en menor concentración interaccionan también con los gránulos de almidón dando estructura a la masa (Quintanar-Guzmán et al., 2010). Las proteínas presentes en el maíz se clasifican en cuatro categorías según su solubilidad: albúminas (solubles en agua), globulinas (solubles en soluciones salinas), prolaminas o zeínas (solubles en alcohol) y glutelinas (solubles en ácido diluido o alcalino).

En un trabajo previo (Santos et al., 2014) se evaluó el efecto de la extracción secuencial de proteínas sobre las propiedades térmicas y reológicas de la masa del maíz nixtamalizado y se observaron diferencias significativas en la entalpía de la masa cuando se extrajeron las zeínas de la masa cocida con cal. Sin embargo, esta tendencia no se observó en muestras cocidas sin cal, lo que sugería que el calcio podría interactuar con las zeínas y las proteínas similares a la zeína debilitando la integridad del almidón. Estas interacciones y la formación de enlaces cruzados entre la cal agregada durante la cocción y el almidón, dan como resultado una estructura de gel más fuerte y más flexible (Quintanar-Guzmán et al.,

2010). Teniendo en cuenta que α -zeína es la proteína más abundante en el maíz nixtamalizado, el objetivo de este trabajo fue explorar las posibles interacciones entre el ión calcio y la α -zeína mediante diferentes técnicas electroforéticas y métodos computacionales.

Material y Métodos

Se utilizó la variedad de maíz comercial llamada maíz blanco dentado. Se realizó un tratamiento alcalino con cal comercial comúnmente utilizado en la industria. Para ello, lotes de 200 g de maíz se cocieron a 90 °C durante 20 min en 600 ml de agua desionizada utilizando 1% (p / p) de hidróxido de calcio (muestras Ca). También tres lotes se cocieron en las mismas condiciones pero sin hidróxido de calcio (muestras NCa)

Las muestras de Ca y NCa se dejaron reposar luego a temperatura ambiente durante 14 h, según el procedimiento tradicional. Después de remojar, las muestras se lavaron a fondo con agua desionizada y todas las muestras de maíz lavadas se molieron, se secaron a 40 °C y finalmente se tamizaron a través de una malla de 150 μ m. Las muestras de Ca y NCa secas y tamizadas se desgrasaron y se almacenaron a temperatura ambiente (Santos et al., 2014).

La extracción de zeínas de maíz nixtamalizado (Ca) y muestras de maíz de control (NCa) se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Rojas-Molina et al. (2008). En primer lugar, se extrajeron las albúminas y globulinas y posteriormente se realizaron tres extracciones (3X; 30, 30, 15 min; 10: 1, 5: 1 y 5: 1 v / w) con 55% de 2-propanol (a temperatura ambiente) para obtener principalmente de α -zeína (Z1). Luego se aplicaron tres extracciones al residuo (3X; 30, 30, 15 min; 10: 1, 5: 1 y 5: 1 v / w) con 55% (w / w) 2-propanol + 0.6% (v / v) 2-mercaptoetanol (2ME) a temperatura ambiente para obtener otras zeínas (Z2). Las fracciones proteicas extraídas se liofilizaron y la proteína se cuantificó mediante el método de Dumas utilizando el autoanalizador LECO FP-528.

La composición proteica de las fracciones de las muestras de Ca y NCa se analizó mediante SDS-PAGE en condiciones reductoras (calor y 4% 2-ME) y no reductoras (ni calor ni 2-ME) según el método descrito por Quintanar-Guzmán et al. (2010).

La interacción entre la α -zeína y los iones de calcio se evaluó mediante electroforesis capilar de afinidad. En este caso, se utilizaron extractos comerciales de zeína (Sigma Aldrich) y Ca-Z1 y NCa-Z1 (que eran principalmente α -zeína). La electroforesis capilar de afinidad se realizó en un Beckman Coulter PA800 plus (Fullerton, CA, EE. UU.) con un detector de matriz de diodos. Los procedimientos se realizaron a una presión de 20 psi. La longitud de onda se ajustó a 214 nm, las muestras se inyectaron en modo hidrodinámico (0.5 psi, 5 s). El capilar se mantuvo a 25 °C, y se aplicó un voltaje de 10 kV. Todos los experimentos se llevaron a cabo empleando una solución tampón de tetraborato de sodio (30 mM, pH 9.3) como solución electrolítica.

Modelado por homología y solvatación

En primer lugar se consideraron 4 diferentes servidores [CPHmodels-3.2, I-Tasser, Phyre2 y RaptorX] para generar modelos estructurales de la proteína α -zeína, considerando la secuencia de aminoácidos de la

proteína (22–265) obtenida de la base de datos UniProt (ID: Q41844). De los 9 modelos generados se seleccionaron 3 modelos que presentaron estructura globular (A1, B2 y C1) como estructuras iniciales para realizar simulaciones de dinámica molecular (DM). Las estructuras seleccionadas fueron minimizadas en energía para 10,000 pasos utilizando el programa NAMD 2.8 y el campo de fuerza CHARMM2. Los modelos minimizados fueron solvatados (rodeados por 30,000 a 70,000 moléculas de agua), algunas de las cuales incluyen iones de calcio y cloruro. El modelo A1 se probó en ausencia de calcio (A1⁻) y con un exceso (A1⁺⁺) de iones Ca²⁺ (4 eq); el modelo (B2⁺) consideró 1 eq de Ca²⁺, mientras que (C1⁺⁺) 4 eq. Estos modelos se sometieron al mismo protocolo de equilibración y condiciones de simulación de producción.

Simulación dinámica molecular

El protocolo de equilibración consistió en cinco corridas cortas: 1) 5000 pasos de minimización de energía (min) para las moléculas de disolvente (proteína fijada), 2) 100 ps de simulación de dinámica molecular (MD) de 0 a 298 K a 1 K / 200 fs (proteína fijada), 3) 5000 pasos de min., 4) 100 ps de DM de 0 a 368 K (1 K / 200 fs), 5) 100 ps de DM a 368 K y 1 atm. La simulación de producción se corrió durante 100 ns a 368 K y 1 atm. Los parámetros de simulación fueron: 2 fs de paso de tiempo usando SHAKE algoritmo para integrar las ecuaciones de movimiento. Un corte de 10 Å para interacciones no covalentes con una función de atenuación aplicada a 8 Å. Las interacciones electrostáticas se calcularon considerando el método Particle Mesh Ewald en condiciones a la frontera periódicas. La dinámica de Langevin y el pistón de Langevin Nosé-Hoover se utilizaron para controlar la temperatura y la presión, respectivamente. Para análisis estructurales, se utilizó el programa VMD. Los motivos de la estructura secundaria se asignaron considerando el algoritmo STRIDE. Los detalles experimentales se encuentran recogidos en Gomez-Castro et al. (2019).

Resultados y discusión

El contenido de proteína encontrado en la harina nixtamalizada fue de $10.93 \pm 0.06\%$ y no fue significativamente diferente ($P > 0.05$) de los 10.60 ± 0.16 de la harina no nixtamalizada. Las fracciones Z1 y Z2 correspondieron a las proteínas zeínas, que son las más abundantes. Las concentraciones de Ca-Z1 y Ca-Z2 fueron $19.01 \pm 1.55\%$ y $18.23 \pm 1.49\%$, respectivamente, mientras que en NCa Z1 y NCa Z2 las concentraciones fueron $16.18 \pm 2.28\%$ y $15.77 \pm 2.66\%$. El análisis de SDS-PAGE no reveló grandes diferencias entre las muestras nixtamalizadas y no nixtamalizadas tal y como se aprecia en la figura 1. Los patrones de electroforesis de las fracciones Z1 y Z2 fueron similares para las muestras de Ca y NCa en condiciones reductoras y no reductoras, ya que los monómeros de α -zeína (19 y 22 KDa) son los más abundantes en los extractos Z1 y Z2. En el caso de fracciones Z2, también se observaron bandas correspondientes a β -zeína (14 KDa), δ -zeína (10 KDa) y γ -zeína (16 y 27 KDa).

Respecto a la electroforesis capilar de afinidad la figura 2 muestra el electroferograma obtenido para: (a) zeína, (b) extracto de NCa-Z1 (no nixtamalizado) y (c) extracto de Ca-Z1 (nixtamalizado). La proteína se cargó negativamente a un pH de 9.3 considerando el punto isoeléctrico de 6.2 para zeína. El tiempo de

migración de los extractos de proteína (sin adición de Ca^{2+}) fue más alto para las muestras comerciales de zeína (3.06 min) que NCa-Z1 (2.99 min) y Ca-Z1 (2.86 min), lo que indica que hay un incremento en el volumen de proteína cuando la masa se prepara con calcio. Por lo tanto, existe un claro efecto de la nixtamalización sobre la movilidad electroforética de las proteínas, que podría estar asociada a la interacción del calcio con la zeína. Al considerar concentraciones crecientes de Ca^{2+} la movilidad electroforética disminuyó en todos los casos y podría estar asociado a un cambio de conformación de zeína cuando el calcio está presente. Suponiendo el siguiente equilibrio $\text{Ca}^{2+} + \text{Zein} \rightarrow \text{Ca}^{2+} - \text{Zein}$ se calcularon las constantes de unión: $0.59 (\pm 0.03)$, $0.31 (\pm 0.02)$ y $1.45 (\pm 0.04) \text{ mM}^{-1}$, para zeína comercial, zeína no nixtamalizada y nixtamalizada, confirmando que hubo una mayor afinidad por el ion calcio en los extractos obtenidos después de la nixtamalización. Esta mayor afinidad por los iones de calcio provoca un cambio en la estructura química, que afecta el volumen y la disposición de los grupos principalmente carboxilato (Rasmussen y Bjerrum, 2003) contenidos en la zeína. Para corroborar esta postulación, se realizaron simulaciones de dinámica molecular.

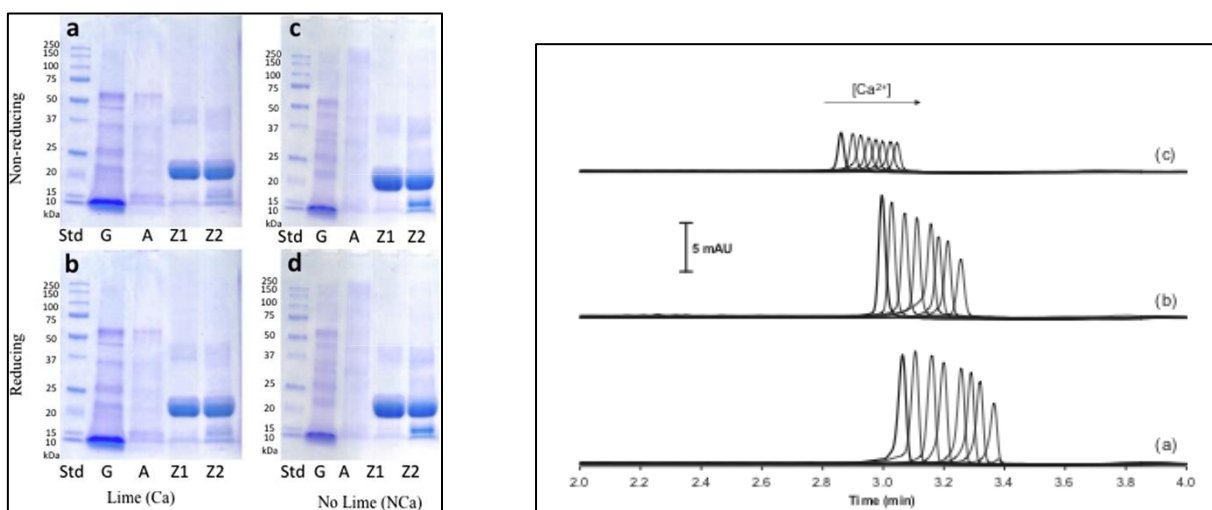


Figura 1. SDS page de fracciones proteicas; zeína (10 mg/L) en a, b, muestras cocidas con cal, b,d sin cal; a, c cond. reductoras, b, d cond. no reductoras G: globulinas, A: albúminas, Z1: α -zeína

Figura 2. Electroferograma de extractos de tampón Tetraborato (30 mM, pH 9.3) con 0, 0.12, 0.24, 0.36, 0.48, 0.60, 0.72 y 1.00 mM de Ca^{2+} en zeína (a), NCa-Z1 (b) y Ca-Z1(c) (Gómez-Castro et al., 2019)

Z2: α -, β - y δ -zeína (Gómez-Castro et al., 2019)

Modelado por homología

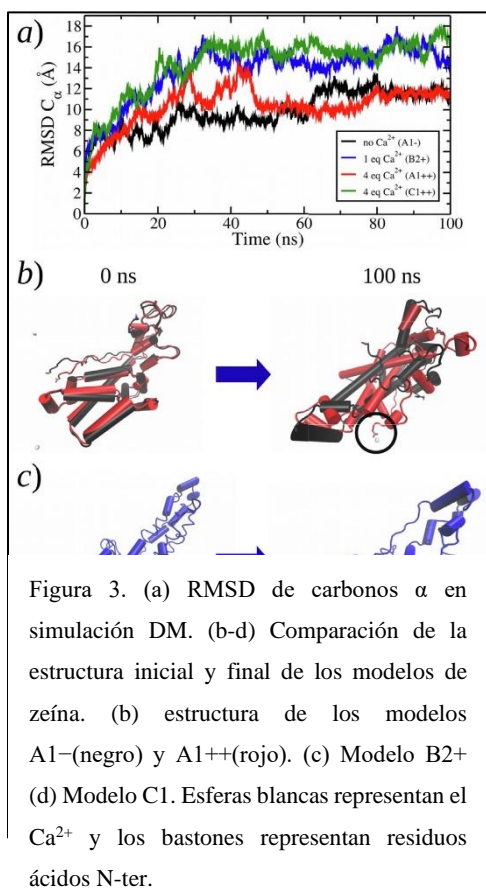
De acuerdo a la figura 3, la equilibración estructural durante las simulaciones de producción mostraron importantes transiciones conformacionales en relación a las estructuras obtenidas mediante el modelado por homología. De acuerdo a la Fig. 3a) todas las simulaciones alcanzaron valores de RMSD por encima de 10 \AA , lo que sugiere una estructura de inicio inestable. Sin embargo, se supone que los cambios conformacionales observados aumentan la estabilidad y confiabilidad de los modelos. En general, se observó que las transiciones estructurales, fueron independientes de la presencia de cationes de calcio, lo que sugiere que tales interacciones pueden no desempeñar un papel estructural intramolecular. Por ejemplo, aunque los modelos A1⁻ y A1⁺⁺ parecen seguir rutas dinámicas diferentes, ambas estructuras

convergen a un valor de RMSD similar, lo que indica transiciones conformacionales similares independientemente de la presencia o ausencia de Ca^{2+} . Por lo tanto, la estructura de inicio (en lugar de la presencia de calcio) sería el factor más importante que determina la dinámica y la estructura final equilibrada de la zeína.

Al analizar la estructura secundaria de los modelos (tabla 1) la estructura hélice α fue la más abundante, con valores de incidencia que van de 39 % (modelo B2+) a 70 % (C1++). Los modelos A1 mostraron el valor más cercano para los contenidos de hélice α ($\approx 60\%$) comparado con estimaciones experimentales en 95°C en solución de etanol-agua ($\approx 56\%$). De acuerdo a los resultados ambos modelos A1 y C1 serían igualmente confiables. Mientras los modelos A1 son más compactas y globulares, C1 maximizó la cantidad de hélice α . Cuando se compararon las simulaciones del modelo A1 en ausencia (A1-) o en exceso (A1++) de Ca^{2+} , se observaron pocas diferencias en la evolución de la estructura secundaria, es decir, la consolidación de unas pocas hélices α y la división de otras, lo que resultó en diferencias importantes en las estructuras finales (Fig. 3b). Algunas de estas diferencias pueden atribuirse a la interacción de los iones de calcio con el único residuo ácido en la proteína (Glu48) así como al carboxilato peptídico terminal (C-ter), ya que, en simulaciones con un exceso de cationes, se observó una consolidación de hélices α cortas cerca de estos grupos carboxilato. Por lo tanto, se encontró que la unión al calcio afectó las transiciones conformacionales observadas a nivel local, en la proximidad de los sitios de unión.

De las simulaciones de dinámica molecular, 1) Se encontró que todos los modelos probados, que incluyen Ca^{2+} , interactúan directamente con los iones a través del grupo carboxilo terminal (C-ter), 2). Una vez que se unió un ion al C-ter, no se observó disociación durante el resto de la simulación, 3) El único residuo ácido en la secuencia de la proteína (Glu48) interactuó con un Ca^{2+} solo en el modelo C1++, donde se consideró un exceso de calcio (4 eq). 4) En relación con los modelos sin calcio o a bajas concentraciones (A1- y B2+), las simulaciones con exceso de Ca^{2+} (A1++ y C1++) mostraron la formación de hélices α en el extremo C-terminal y en la región cercana a residuo Glu48. Por lo tanto, la unión de Ca^{2+} parece promover la estabilización de la proteína a través de la consolidación de motivos de estructura secundaria, que además, se observó que modifican la dinámica de la proteína a pesar de que las propiedades estructurales globales no se ven afectadas.

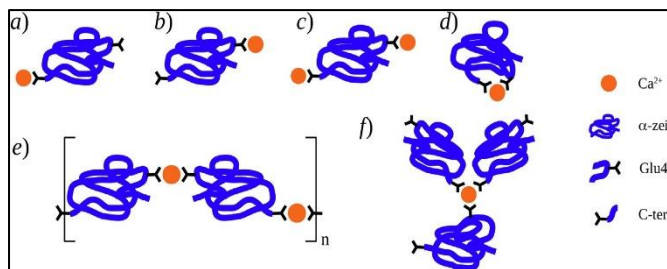
Modelo	α -hélice	Giro	Aleatorio	Otros
A1-	60.4	21.5	15.0	3.1
B2+	39.2	34.8	20.8	5.2



A1++ 61.4 20.7 15.5 2.4

Tabla 1. Porcentaje de motivos de estructura secundaria durante la producción de simulaciones (100 ns)

(Gómez-Castro et al., 2019)



Para el caso del modelo C1++ se observó la formación de una hélice α corta en la región 40–50 que fue estable solo para esa simulación. Es probable que la interacción con el calcio ayudó a estabilizar la estructura secundaria o que la presencia de la hélice α favoreció la unión a través de la formación de un motivo de unión transitorio. El último escenario es común en las proteínas que se unen al calcio. Sin embargo, durante el modelado realizado, no se observó homología con otras proteínas conocidas con afinidad por calcio, por lo que la interacción calcio-zeína puede no haberse caracterizado aún. En este sentido, vale la pena resaltar algunas observaciones derivadas del presente estudio. Por ejemplo, debido a que solo hay dos grupos carboxilato en la secuencia madura de la proteína zeína considerada, estos dos grupos representan los sitios primarios de anclaje para el ión, ya que serían los grupos más favorables para unirse al calcio, seguidos de otros grupos carbonilo o hidroxilo con menos afinidad (Kirberger et al., 2008). En la fig.4 se hace un bosquejo de algunos de los modos de interacción calcio-zeína observados durante las simulaciones junto con otros modos consecuentes. Como sitios de unión al calcio, se observó que C-ter era más favorable que Glu48, sin embargo, en exceso de Ca^{2+} , cada sitio podría unirse a un átomo de calcio al mismo tiempo (como en la Fig. 4c).

La participación simultánea de los dos sitios de unión en la coordinación de un átomo de calcio también es una posibilidad (Fig. 4d), aunque la simulación del modelo C1++ mostró que ambos sitios de unión se encuentran separados entre sí (ver también Fig. 3d). Debido a que el número de coordinación de $\text{Ca}(\text{II})$

tiende a ser de 6 a 7 en proteínas (Kirberger et al., 2008), hay muchos modos de coordinación posibles centrados en estos dos sitios de unión. Además de los ligandos de carbonilo peptídicos y agua, la α -zeína también tiene una notable alta incidencia de residuos de glutamina (aproximadamente un 20%) que representan ligandos potenciales capaces de completar la esfera de coordinación del calcio, así como también de formar motivos de unión al calcio, lo que puede explicar las propiedades de unión al calcio de la zeína. Otro plausible modelo de coordinación sería la participación intermolecular de grupos carboxilato de dos o más moléculas de zeína como sitios de unión principales (Fig. 4e y f) con iones de calcio que entrecruzan o que enlazan las moléculas de zeína. Esta posibilidad puede estar conectada a las capacidades de agregación de la zeína que cambiarían las propiedades macroscópicas de los materiales o alimentos a base de zeína tratados con calcio.

Conclusiones

Se evidencia que el calcio no solo interactúa con el almidón durante el proceso de nixtamalización, si no también con las moléculas de zeína, facilitando la polimerización de la molécula mediante puentes de calcio y ampliando el potencial uso de α -zeína.

Referencias

- Gómez-Castro, C. Z., Rodríguez, J. A., Cruz-Borbolla, J., Quintanar-Guzman, A., Sanchez-Ortega, I., y Santos, E. M. (2019). A theoretical and experimental approach to evaluate zein-calcium interaction in nixtamalization process. *Food Chemistry*, 124995.
- Kirberger, M., Wang, X., Deng, H., Yang, W., Chen, G., y Yang, J. J. (2008). Statistical analysis of structural characteristics of protein Ca²⁺-binding sites. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 13(7), 1169–1181.
- Quintanar-Guzmán A., Jaramillo Flores M.E., Ferial J.S., Méndez Montealvo M.G. y Wang Y.J., Effects of polymerization changes in maize proteins during nixtamalization on the thermal and viscoelastic properties of masa in model systems, *Journal of Cereal Science* 52 (2), 2010, 152–160.
- Rasmussen, B. W., y Bjerrum, M. J. (2003). Ca²⁺ and Na⁺ binding to high affinity sites of calcium-containing proteins measured by capillary electrophoresis. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 95(2-3), 113-123.
- Rojas-Molina I., Gutiérrez E., Cortés-Acevedo M.E., Falcón A., Bressani R., Rojas A., y Rodríguez M.E., Analysis of quality protein changes in nixtamalized QPM flours as a function of the steeping time, *Cereal Chemistry* 85 (3), 2008, 409–416.
- Santos E.M., Quintanar-Guzman A., Solorza-Feria J., Sanchez-Ortega I., Rodríguez J.A. y Wang Y.J., Thermal and rheological properties of masa from nixtamalized corn subjected to a sequential protein extraction, *Journal of Cereal Science* 60 (3), 2014, 490–496.

EFFECTO DE UN EXTRACTO RICO EN COMPUESTOS FENÓLICOS DE FRIJOL NEGRO (*Phaseolus Vulgaris L.*) COMO COLORANTE NATURAL EN UN ADEREZO TIPO VINAGRETA.

León Ortiz Rafael¹, Prado-Ramírez Rogelio¹, Mojica Luis¹, García Parra María Dolores¹.

¹Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ A.C.),
Camino Arenero #1227 Col. El Bajío, Zapopán, Jalisco, C.P. 45019

¹Unidad De Tecnología Alimentaria

Contacto: raleon_al@ciatej.edu.mx

Resumen

El frijol negro (*Phaseolus vulgaris L.*) es fuente de compuestos fenólicos como las antocianinas; las cuales son responsables del color en algunos frutos como: zarzamora, pitahaya, etc. Además, esta reportado que las antocianinas poseen capacidad antioxidante. En este trabajo se formuló un aderezo tipo vinagreta el cual se pigmentó con un extracto rico en compuestos fenólicos de frijol negro Grijalva del Estado de Chiapas. Con el fin de evaluar el efecto de dicho extracto se elaboró un seguimiento de estabilidad de dicha vinagreta usando como control la vinagreta sin extracto. Los parámetros medidos fueron la cuantificación de antocianinas, capacidad antioxidante, color e índice de peróxidos. Presentó 46-54 equivalentes de peróxido, una menor cantidad de peróxidos respecto del control 100-104 equivalentes de peróxidos. Se cuantificaron antocianinas de 4 mg eq. C3G/L vinagreta, siendo la vinagreta a 4°C la mejor condición de almacenamiento; mientras que la vinagreta a 20°C sólo se cuantificaron antocianinas hasta el día 56. Las vinagretas presentaron una actividad antioxidante al tiempo cero de 38 mg eq. trolox/L vinagreta, al día setenta presentaron una actividad antioxidante de 7 mg eq. trolox/L vinagreta. El control presentó actividad antioxidante inferior a 1 mg eq. trolox/L vinagreta durante los setenta días de estudio.

Introducción

El frijol es una leguminosa del género *Phaseolus*, su nombre científico es *Phaseolus vulgaris L.*; su estructura consiste en cotiledón donde se encuentran presentes proteínas, carbohidratos, etc.; y la testa donde se encuentran presentes compuestos fenólicos y fibra (FAO, 2007. FIRA, 2016. Atlas agroalimentario, 2012-2018).

Es la leguminosa de mayor consumo directo en el mundo. Datos de la FIRA colocaban a México en 2016 como el quinto mayor productor de frijol a nivel mundial, siendo Zacatecas el principal productor a nivel nacional seguido de Sinaloa, Durango, Chihuahua y Chiapas; las principales variedades de frijol cultivadas en el país son el frijol negro, pinto y flor de mayo. En 2017 la producción nacional de frijol fue de 1,183,868 toneladas con un consumo per cápita de 10.2 kg; esto muestra una disminución en el consumo de frijol pues hace cincuenta años era de 18 kg per cápita (FIRA, 2016. Atlas Agroalimentaria 2012-2018).

En el frijol negro existen compuestos de interés como los compuestos fenólicos, dentro de estos los ácidos fenólicos (gálico, ferúlico, p-cumárico, etc.), flavonoides (antocianinas). Las antocianinas están presentes en plantas y frutas confiriéndoles tonalidades que van del rosa al morado. Una antocianina está formada por una aglicona (antocianidina) unida a uno o más azúcares; las antocianinas presentes en frijol negro son las delphinidina, petunidina y malvidina, Diversos autores han identificado algunos efectos de las antocianinas como lo son reducir el estrés oxidativo, efectos antiinflamatorios, antidiabetes, antioxidante, así como coadyuvantes en tratamientos contra el cáncer. (He J., Giusti M. 2009. Castañeda-Ovando A, *et al.*, 2009. Pojer A. *et al.*, 2013. Mojica *et. al.*, 2015). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de un extracto rico en compuestos fenólicos como colorante y antioxidante natural, sobre la estabilidad en un aderezo tipo vinagreta.

Exposición

La industria de los alimentos es dependiente de los colorantes artificiales, por su toxicidad dan pauta a buscar opciones naturales. Un colorante rico en compuestos fenólicos (antocianinas) de frijol negro es una alternativa interesante y puede aplicarse en productos alimenticios con ingredientes naturales.

Actualmente las antocianinas de fuentes como maíz, uva, cereza, arándanos, etc.; son usadas como colorantes alimentarios en gelatinas, mermeladas, panadería y confitería (FAO, 2007. Mojica L, *et. al.*, 2017. Roman S. Sánchez-Siles L, Siegrist M., 2017. Cömert E., Gökmen V., 2018.).

Metodología

Se trabajó con un extracto rico en compuestos fenólicos conforme a lo reportado por Mojica *et. al.* 2017. En un área limpia y seca se elaboró un aderezo tipo vinagreta, la mitad se utilizó como vinagreta control y fue almacenada a 4°C y 20°C, la otra mitad como vinagreta pigmentada con el extracto de frijol negro con una relación 10 mg de extracto:1 mL de vinagreta, fueron almacenadas a 4°C y 20°C. Analizando el color, índice de peróxidos, cuantificación de antocianinas y actividad antioxidante durante 70 días a las vinagretas con extracto y las vinagretas control.

Para la cuantificación de antocianinas se siguió el método de pH diferencial. La capacidad antioxidante fue cuantificada por el método de ABTS. El índice de peróxidos se evaluó conforme a la NMX-F-154-1987. El color se midió en un espectrofotómetro/colorímetro CM-5 marca Konika minolta en la vinagreta y sus controles, para obtener los parámetros de L* (luminosidad), a*(- indica verde, + indica rojo), b* (- indica azul, + indica amarillo) y ΔE (diferencia de color). El análisis de datos se realizó con el software Statgraphics centurión XVII, se realizaron análisis de varianza Tukey con un 95% de confianza para verificar si existió un cambio de color.

Resultados

En la Figura 1 se muestra la cuantificación de antocianinas, la vinagreta a 4°C tuvo valores de 4 mg eq. C3G/L vinagreta, al día 70 fue de 3.52 mg eq. C3G/L vinagreta. Las antocianinas de la vinagreta a 20°C mostraron un valor inicial de 4 mg eq. C3G/L vinagreta, sin embargo, sólo fueron cuantificables hasta el

día 56 con 1.77 mg eq. C3G/L vinagreta. La mejor condición de almacenamiento fue 4°C pues la vinagreta almacenada a esa temperatura presentó antocianinas durante los setenta días de estudio, la acidez de la vinagreta es benéfico ya que las antocianinas son más estables en pH ácido. En ambos controles se cuantificó valores menores de 0.5 mg eq. C3G/L vinagreta durante el tiempo de estudio.

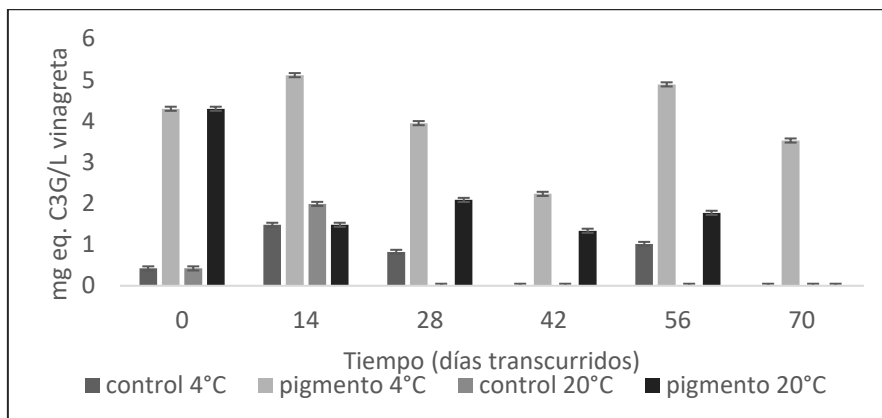


Figura 1. Cuantificación de antocianinas en vinagretas a 4°C y 20°C, y sus controles durante los 70 días de estudio.

Está reportado que las antocianinas poseen capacidad antioxidante, como se observa en la Figura 2, las vinagretas a 4°C y 20°C mostraron una actividad antioxidante al tiempo cero de 38 mg eq. trolox/L vinagreta, a los setenta días de estudio fue de 7 mg eq. de trolox/L vinagreta. La disminución de la actividad antioxidante en ambas vinagretas puede atribuirse a la presencia de aceite en las vinagretas, el extracto de frijol negro actúa como un antioxidante natural al reducir la formación de peróxidos. Por su parte ambos controles mostraron actividad antioxidante inferior a 1 eq. de trolox/L vinagreta durante el tiempo de estudio.

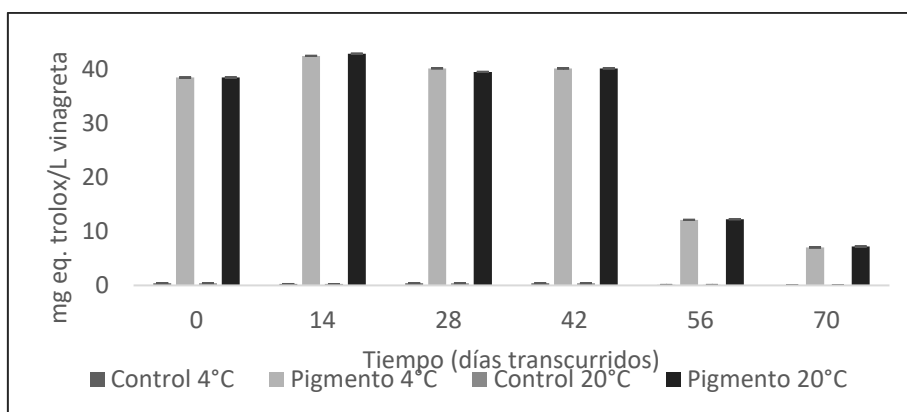


Figura 2. Capacidad antioxidante de las vinagretas a 4°C y 20°C, y sus respectivos controles durante los 70 días de estudio.

En la Figura 3 se muestra como las vinagretas a 4°C y 20°C presentaron una formación de peróxidos con valores entre los 50 equivalentes de peróxidos a los 70 días de estudio. Las antocianinas tienen poder antioxidante, esto reduce la formación de peróxidos en la vinagreta que se agregó el extracto rico en compuestos fenólicos de frijol negro. Mientras que los controles mostraron valores superiores a los 100 equivalentes de peróxidos durante los 70 días de estudio.

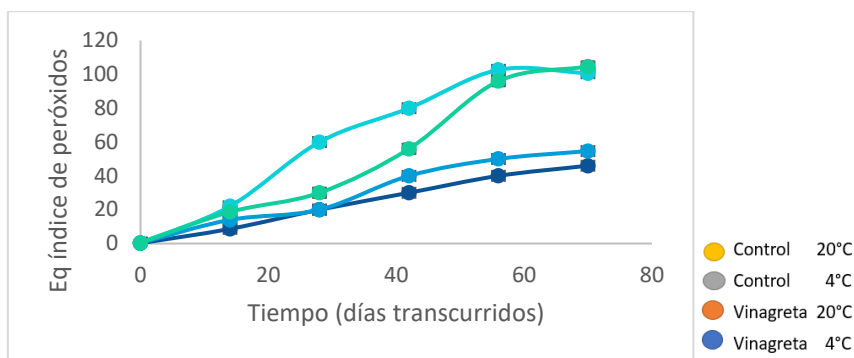


Figura 3. Índice de peróxidos en vinagretas a 4°C y 20°C, y sus controles .

En la Tabla 1 se muestran los valores del parámetro L*, las vinagretas a 4°C y 20°C no presentaron diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p > 0.05$ en el valor de L*; en base a los datos de la Tabla 1 se puede decir que el pigmento fue estable a 4°C y 20°C. Ambos controles no presentaron diferencias estadísticamente significativas con un valor de $p > 0.05$ durante el tiempo de estudio en el valor de L*; el color de los controles también presenta estabilidad a 4°C y 20°C.

Tabla 1. Valores del parámetro L* de vinagretas a 4°C y 20°C, y sus controles en los seis tiempos de muestreo.

L*	0	14	28	42	56	70
Pigmento 4°C	20.1±0.3	23.4±0.2	21.8±0.8	23.02±0.6	23.5±0.3	23.02±0.5
Control 4°C	45.2±0.9	45.1±0.3	41±0.2	39.9±0.3	40.3±1	39±0.5
Pigmento 20°C	20.1±0.3	25.6±0.4	25.7±0.6	28.1±0.4	27.3±0.7	28.1±0.4
Control 20°C	45.2±0.9	45.1±0.1	44.2±0.1	45.02±0.4	44.5±0.6	45.02±0.5

Valor de L* ± desviación estándar

En la Tabla 2 se muestran los valores del parámetro a*, las vinagretas a 4°C y 20°C no presentaron diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p > 0.05$ en el valor de a*; el pigmento de la vinagreta es estable ya que no presentó cambios significativos durante su tiempo de estudio. Ambos controles no presentaron diferencias estadísticamente significativas con un valor de $p > 0.05$; durante los setenta días, el parámetro a* no sufrió cambios significativos a 4°C Y 20°C.

Tabla 2. Valores del parámetro a* de vinagretas a 4°C y 20°C, y sus controles en los seis tiempos de muestreo.

a*	0	14	28	42	56	70
Pigmento 4°C	18.3±0.1	15.2±0.3	14.2±0.8	12.7±0.3	11.1±0.5	11.8±0.3
Control 4°C	1.5±0.1	1.5±0.1	1.5±0.1	1.5±0.05	1.4±0.3	1.6±0.3
Pigmento 20°C	18.3±0.1	12.5±0.4	10.6±1	8.8±0.1	8.3±0.3	7.9±0.3
Control 20°C	1.5±0.1	1.7±0.07	2.01±0.03	1.7±0.06	2.1±0.1	2.1±0.08

Valor de a* ± desviación estándar.

En la tabla 3 se muestran los valores del parámetro b^* , las vinagretas a 4°C y 20°C no presentaron diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p > 0.05$ en el valor de b^* ; el pigmento presentó un color estable a 4°C y 20°C durante el estudio. Ambos controles no presentaron diferencias estadísticamente significativas con un valor de $p > 0.05$ durante los setenta días de estudio; los controles a 4°C y 20°C mostraron una estabilidad de color durante el tiempo de estudio.

Tabla 3. Valores del parámetro b^* de vinagretas a 4°C y 20°C, y sus controles en los seis tiempos de muestreo.

b^*	0	14	28	42	56	70
Pigmento 4°C	15.6±0.7	12.4±0.2	10.6±1	7.9±0.2	7.4±0.4	8.2±0.3
Control 4°C	38.3±0.6	35.1±0.7	35.5±1.4	31.05±0.7	31.8±0.8	31.2±0.9
Pigmento 20°C	15.6±0.7	12.3±0.6	12.7±0.9	11±0.4	11.5±0.4	12.2±0.07
Control 20°C	38.3±0.6	35.2±0.1	34.7±0.6	31.04±0.2	31.7±0.6	30.7±1

Valor de $b^* \pm$ desviación estándar.

En la tabla 4 se muestran las diferenciales de color de las vinagretas y sus controles. Puede observarse el valor más alto se presentó en la vinagreta a 4°C del día 56 al 70, como se mencionó la mejor condición para la vinagreta es a 4°C, en base a esto puede recomendarse como tiempo apropiado hasta el día 56 para obtener un beneficio de la vinagreta.

Tabla 4. Valores de ΔE de vinagretas a 4°C y 20°C, y sus controles en los días transcurridos.

ΔE	0	14	28	42	56	70
Pigmento 4°C	-	2.9	4.4	2.9	0.7	17.02
Control 4°C	-	3.2	5.7	3.5	1.1	1.8
Pigmento 20°C	-	3.5	1.1	0.7	0.4	0.06
Control 20°C	-	3.02	1.5	3.2	0.3	0.3

Conclusiones

La mejor condición para la vinagreta es a 4°C hasta el día 56, esto se concluye ya que a estas condiciones se cuantificaron antocianinas, y, por lo tanto, se puede obtener un beneficio con su consumo. Las vinagretas presentaron actividad antioxidante durante los setenta días de estudio, esto puede ser relacionado con una menor formación de peróxidos de las vinagretas a las que se agregó el extracto de frijol negro con respecto de sus controles. Se puede concluir en base a los resultados presentados que la vinagreta es un alimento funcional y que el extracto de frijol negro Grijalva tiene potencial de ser usado como antioxidante natural en diversos alimentos.

Bibliografía

- Atlas agroalimentario, el mundo es cada vez más mexicano 2012-2018. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), Servicio de Información Agroalimentaria y pesquera (SIAP), 2012-2018.
- Castañeda-Ovando A, et al. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. Food Chemistry.
- Cömert E., Gökmen V., 2018. Review: Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. Food Research International.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Codex alimentarius. Cereales, legumbres, leguminosas y productos proteínicos vegetales, 2007.
- He J., Giusti M. 2009. Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. Annual Reviews.
- Mojica L, et. al., 2015. Bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) have similar high antioxidant capacity, in vitro inhibition of α -amylase and α -glucosidase while diverse phenolic composition and concentration. Food Research International.

7. Mojica L, et. al., 2017. Black bean anthocyanin-rich extracts as food colorants: Physicochemical stability and antidiabetes potential. Food Chemistry.
8. NMX-F-154-1987. ALIMENTOS. Aceites y grasas vegetales o animales. Determinación del índice de peróxido. Foods. Vegetables or animals oils and fats. Peroxide index determination. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
9. Panorama agroalimentario, frijol 2016. Fideicomisos Instituidos en relación con la agricultura (FIRA), 2016.
10. Pojer A. et al. 2013. The Case for Anthocyanin Consumption to Promote Human Health: A Review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.
11. Roman S. Sánchez-Siles L, Siegrist M., 2017. The importance of food naturalness for consumers: Results of a systematic review. Trends in Food Science & Technology.

THERMALLY TREATED COMMON BEAN (*Phaseolus Vulgaris* L.) PROTEIN EXTRACTION AND CONCENTRATION BY ULTRAFILTRATION.

Alfaro-Díaz A.,¹ Prado-Ramírez R.,¹ Orozco-Ávila I.,¹ Mojica, L.^{1*}

¹Tecnología Alimentaria, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ) A. C., C.P. 44270 Guadalajara, Jalisco, México.

Contacto: Joalfaro_al@ciatej.edu.mx

Abstract

Legume protein ingredients are growing in the food industry market due to consumers preferences. Common bean is an inexpensive source of protein. However, contains antinutritional factors such as lectins that must be inactivated. Thermal treatment increases digestibility, safety, and techno-functional properties of common bean. After thermal treatment, protein hydrolysis and a reduction in water solubility is observed. Nevertheless, high yields >78 % were obtained from moderate thermal treatments (100°C 15 and 30 minutes). Protein supernatant of common bean was concentrated by ultrafiltration an average of 3 times. Protein losses in permeate (5 kDa polysulfone membranes) were lower than 4.5%. Moderate thermal process ($\leq 100^\circ\text{C}$) of common beans allows high yield extraction and concentration of protein by ultrafiltration with minimum losses in the permeate.

Introduction

Protein ingredients from vegetable sources such as common beans (CB) and other legumes (e.g. peas, chickpeas and lentils) are growing in the market². Development of functional ingredients from these crops to replace soy, wheat and animal source proteins are a trend due to consumers preferences and their relatively lower cost. The CB protein ingredients such as flours (< 60% protein concentration (PC)), protein concentrates (>60%<90% PC) and protein isolates (>90% PC) are interesting prime matters in the food industry owing to are not considered major allergen and a genetically modified organism^{1,3}.

Proteins are important ingredients in food processing and development. Mixed in food matrices provides essential amino acids and total nitrogen to improve nutritional quality⁴. Also, provides techno-functional properties including water and oil holding capacity, emulsion and foaming. These properties influence sensorial quality (texture, structure, flavor), stability and product consumer acceptance^{7,11}.

CB contains 20-30% of protein on a dry base. Storage proteins obtained from cotyledons are primarily albumins and globulins with molecular weights in the range from 5,000 Da to 80,000 Da. Phaseoline monomers (43 kDa) are its main protein³. Legumin (> 80 kDa) and antinutritional factors as lectins (29 kDa), protease inhibitors, and other proteins⁵. Antinutritional factors in CB are inactivated by thermal treatments (TT) that denaturalize them to make it safe for human and animal consumption. In addition, TT increases digestibility and techno-functional properties by exposing protein buried amino acids^{6,7}.

Processes such as extraction and isolation may influence protein yields and functionality. Membrane technology filtration is reported to be successful in the concentration and purification of proteins without affecting the molecule structure^{1,2}. However, ultrafiltration (UF) in CB proteins has not been reported. membrane MWCO (molecular weight cut off), flux, concentration and permeate behavior should be studied in order to establish optimal conditions of processing. The aim of this study was to evaluate yields, purity and losses from a process of alkaline extraction and membrane concentration from raw and thermally treated CB San Luis (México) cultivar proteins, to the development of a high protein ingredient.

Materials and Methods

Reactants and materials

Sodium chloride and bovine serum albumin Standard were purchased from (Sigma-Aldrich, US). The Quick Start™ DC- Protein Assay kit, sodium dodecyl sulfate (SDS), tris-tricine 4–12% SDS gels, Coomassie blue G-250, Coomassie brilliant blue R-250 destaining solution, and the Bio-Safe™ Coomassie Blue G-250 stain and 10-250 kDa standard were purchased Bio-Rad Laboratories (Barcelona, Spain). Polymeric polysulfone membrane 5 kDa MWCO 0.1m² was acquired from Millipore (US). Black beans (San Luis cultivar) harvested in Zacatecas (November 2017), were purchased to local farmers.

Protein Extraction

CB was cleaned and dehulled. The raw sample was then milled. CB cotyledons stay in halves for thermal treatments (TT) and water was added in to a 1:1 (w/w) relationship. TT's were performed in an autoclave (Model 2000, Lagarde, France). Set temperatures for TT were 121°C in the chamber (15, 30 and 45 min) and 100°C measured inside of the bag with a thermocouple sensor (15 and 30 min). After TT, samples were oven-dried at 60° C for 5 hours, to get a homogenous humidity (5-7%), milled and stored in plastic bags placed in a freezer at -10°C until protein extraction. For protein extraction of Raw and TT bean, samples were mixed in 0.05M NaOH 1:20 (w/v). Solutions were stirred for a time of 1 hour at 25° and 60°C, respectively. The mixture was centrifugated for 25 min at 25°C at 4000x g (Thermoscientific, Massachuset, US). The supernatant was filtered using a 3µm porosity cellulose paper (Millipore, Massachusetts, US). The liquid obtained was subsequently filtered in lab-scale tangential ultrafiltration (UF) system Cogent M1 TFF (Millipore, Massachusetts, US). The UF set conditions were: 5 kDa MWCO, an average transmembrane pressure of 25 psig; the flux of 18 liters per square meter per hour, pH 11 for the aqueous extract, to get a volumetric concentration ratio (VCR) of 4. VCR = Volume of the fed (Supernatant) / Volume of the retentate and an average temperature of 30°C.

Raw and TT flours were analyzed by SDS–PAGE, which was carried out under reducing conditions (1:20 β-mercaptoethanol, β-ME) as reported for Mojica *et al.* (2016). Humidity was assessed as indicated in the NMX-F-083-1986. Soluble protein was measured by the Lowry method (1951) following the instructions of the Biorad DC-Protein Assay Kit and bovine serum albumin was used as standard.

Statistical analysis

Thermal treatments and protein extractions were executed in duplicate; Lab analysis were done by triplicate. Results are expressed as mean \pm standard deviation (SD). Differences between treatments were analyzed using analysis of variance (ANOVA) with MINITAB 18 (Minitab, LLC, USA). Tukey pairwise comparison test of the means was used to identify the differences in all sample treatments, with significance $p < 0.05$.

Results and Discussion

Table 1. Conditions of time and average temperature for autoclave heat treatments

ID	Treatment	Time (min)	Average Temperature (°C)	Mean (°C)
TT1	TT1 / 121 °C	15	113.6 113.2	113.4 \pm 0.3 ^a
TT2	TT2 / 121 °C	30	113.2 112.4	112.8 \pm 0.6 ^a
TT3	TT3 / 121 °C	45	112.8 110.8	111.8 \pm 1.4 ^a
TT4	TT4 / 100 °C	15	100.6 100.1	100.4 \pm 0.4 ^b
TT5	TT5 / 100 °C	30	100.4 100.4	100.4 \pm 0.0 ^b

^a n = 2; Values expressed are mean \pm standard deviation, values followed by the same letter are not significantly different by Tukey's HSD test ($p = 0.05$).

CB Thermal treatments.

Temperature of thermal treatments (Table 1) was measured by a thermocouple inside the sample. For TT 1-3 the inside temperature of the sample reached was in a range from 111.8 to 113.4 °C and was statistically comparable. Same case for TT 4 and 5 with a media temperature of 100.4 °C ($p < 0.05$).

Molecular mass protein profile of CB flours

Protein mass profile of raw (TT0) and thermally treated (TT) flours (TT1-TT5) was characterized by SDS-PAGE (figure

1). The protein bands above 75 kDa (corresponding to albumin) are clear and defined on the raw sample, but disappears on TT2-TT3, indicating that high exposition time (≥ 30 minutes) to temperatures above 110°C breaks up the water bound and destabilizes hydrophobic interactions inside the molecule inducing denaturation and hydrolysis of peptide bounds. Undefined bands above 75 kDa appear in all thermal treatments. 15 minutes at a 100 °C is energy enough to start denaturation and hydrolysis of albumin and legumin proteins. Phaseoline is a highly packaged globulin protein that is resistant to denaturation and subsequently to protein hydrolysis^{5,10}.

The 40-43 kDa band remains clear and thick in treatments TT1, TT4, and TT5 but loses intensity in TT2 and TT3 indicating that hydrolysis of Phaseoline begins at 30 minutes with temperatures above 110 °C but is resistant to moderate heat treatments even at 30 minutes of exposition. In the raw sample, TT1, TT4 and TT5 lower molecular mass bands 29 kDa corresponding to lectins, 25 kDa that matches to α -amylase inhibitor and 17 kDa that corresponds to Bowman-Birk protease inhibitor in legumes, still clear and defined probably because they aggregate after denaturation⁵. Sidiqq et al. (2013) reported that this protein considered as antinutritional factors are denaturated above 85°C treatments.

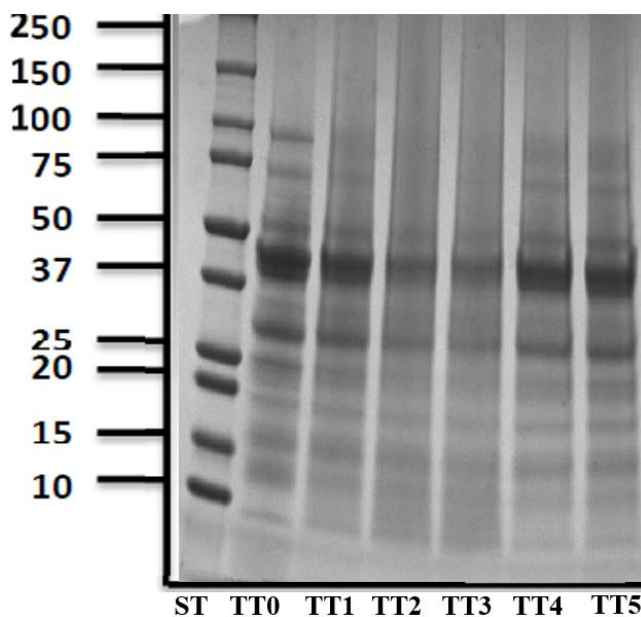


Figure 1. SDS-PAGE of protein profile from raw and thermally treated common beans San Luis cultivars flours. 20 μ g of soluble protein for each sample.

***TT0)Raw bean, TT1) 121°C 15 min, TT2)121°C 30 min, TT3) 121°C 45 min, TT4) 100°C 15 min, TT5 100°C 30 min, ST) Bio-Rad molecular mas standard and molecular mass from literature: Mojica et al. 2016.**

Table 2. Concentration and soluble protein yield from alkaline extraction process of raw and thermally treated CB San Luis cultivar flours

Sample	Concentration of SP in supernatant (mg/ml)	SP Yield (%) based on total protein
TT0	10.53±0.83 ^a	83.18±5.18 ^a
TT1	7.86±0.28 ^c	61.21±3.59 ^{bc}
TT2	7.09±0.88 ^{bc}	55.15±8.28 ^c
TT3	9.23±0.65 ^{abc}	69.93±4.29 ^{abc}
TT4	10.12±0.22 ^{ab}	82.81±4.19 ^a
TT5	10.24±0.00 ^a	78.41±0.43 ^{ab}

^a n = 2; Values expressed are mean±standard deviation, values followed by the same letter in each column are not significantly different by Tukey's HSD test (p = 0.05).

^bTT0) Raw bean, TT1) 121°C 15 min, TT2)121°C 30 min, TT3) 121°C 45 min, TT4) 100°C 15 min, TT5 100°C 30 min

^c SP = Soluble protein, CB = Common bean

CB Protein Extraction

The efficiency of the extraction process was determined by measuring soluble protein to determine if the selected parameters were able to obtain high protein yields from both, raw and thermally treated samples (Table 2). The concentration rate of soluble protein in the supernatant obtained from Alkaline extraction was from 7.23 mg/ ml to 10.53 mg/ ml. TT1-TT3 thermally treated samples reduce their concentration and yield efficiency when compared to Raw, TT4 and TT5 thermally treated samples. Extreme temperature for long exposition time, lead to protein denaturation.

Denaturated proteins decreases in water solubility property due to the exposition of their hydrophobic regions to water. Also, insoluble protein-protein hydrophobic aggregates are formed after a non-moderate thermal treatment¹⁰. Moderate heat treatments \leq of 100 °C yields SP equally (p < 0.05) to raw treatment.

However future analysis such as DSC is necessary to prove denaturation of antinutritional factors. Satterlee et al. (1975) reported that autoclaving treatments reduces protein extraction efficiency in 30-40%. This agrees with our findings where we reported a diminution of 34% in the TT2 when compared to raw material

CB Protein concentration by ultrafiltration

UF membrane process is effective to remove the solvent from a solution to concentrate solutes in the retentate before a drying step. However, its permeability will depend on the selected MWCO of membrane and of the filtration conditions. Molecules with higher molecular mass above the pore size cut will be rejected and concentrate. Molecules with molecular mass under the pore size cut will permeate. The 5 kDa MWCO membrane selected for this study has demonstrated conditions to concentrate proteins from CB San Luis cultivar from raw and thermally treated samples (Table 3). Concentration of SP in retentate is in the range of 22.1 to 32.4. The raw material and the treatments TT3, TT4, and TT5 showed a higher concentration of SP without differences ($p < 0.05$). The concentration ratio of the feed supernatant in the retentate after a VCR of 4, was at an average of 3-fold times of the solute concentrated before membrane failure stops the process.

Table 3. Concentration in the retentate and permeate and loses of SP in the UF process of alkaline extracted protein supernatant from raw and thermally treated CB San Luis cultivar

Treatment	Retentate SP concentration (mg/ ml)	Concentration factor	Permeate SP concentration (mg/ ml)	SP loses (%) Based on total protein
T0	32.4±3.12 ^a	3.07± 0.05	0.43 ± 0.01 ^a	2.54±0.05 ^a
T1	22.1±2.8 ^b	3.7± 0.33	0.76± 0.08 ^b	4.17±0.16 ^b
T2	23.34±0.79 ^b	3.11± 00	0.73± 0.0 ^b	3.53±0.52 ^b
T3	28.78±1.51 ^a	2.53± 0.26	0.63± 0.07 ^b	4.02±0.09 ^b
T4	29.25±3.91 ^a	2.84± 0.08	72± 0.02 ^b	4.13±0.17 ^b
T5	29.16±3.64 ^a	2.85± 0.38	0.63± 0.11 ^b	3.42±0.40 ^b

^a n = 2; Values expressed are mean±standard deviation, values followed by the same letter in each column are not significantly different by Tukey's HSD test ($p = 0.05$).^bTT0)Raw bean, TT1) 121°C 15 min, TT2)121°C 30 min, TT3) 121°C 45 min, TT4) 100°C 15 min, TT5 100°C 30 min. ^c SP = Soluble protein, UF = Ultrafiltration process, CB = Common bean.

Polysulfone membrane 5 kDa MWCT, rejects and concentrate most of the protein from CB. On the other hand, SP loses in the permeate is in a range of 2.54 to 4.17 % of total protein. TT samples lost higher SP in the process when compare to raw, due to the heat hydrolysis of its proteins that produces lower molecular weight proteins residues. However, there are no differences ($p < 0.05$) in SP loses among all treatments and raw. VCR seems to be a factor affecting protein loses in the UF process. Figure 2.

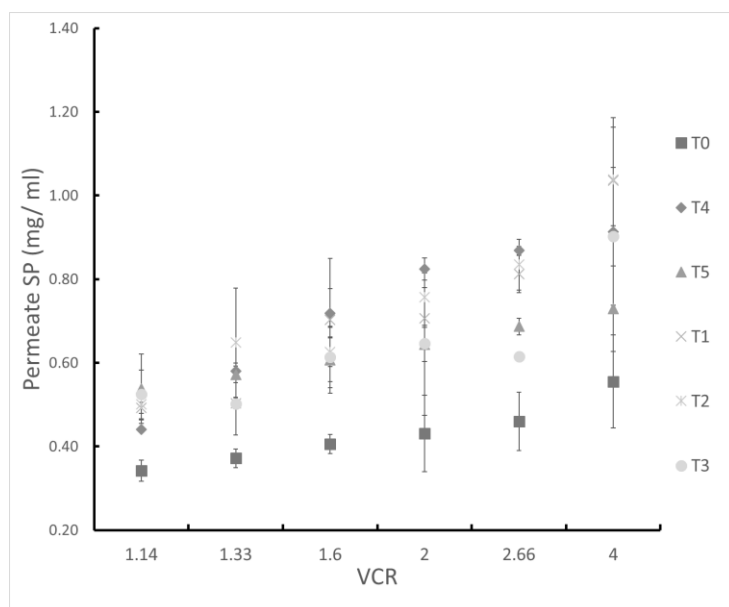


Figure 2. SP concentration in permeate against VCR in the UF process of alkali extracted protein supernatant from raw and thermally treated CB San Luis cultivar flours. ^a n = 2; Values expressed are mean±standard deviation, values followed by the same letter in each column are not significantly different by Tukey's HSD test ($p = 0.05$). ^bTT0)Raw bean, TT1) 121°C 15 min, TT2)121°C 30 min, TT3) 121°C 45 min, TT4) 100°C 15 min, TT5) 100°C 30 min. ^c SP = Soluble protein, UF = Ultrafiltration process, CB= Common bean, VCR= Volume Concentration Ratio

Represent the increase in SP loses while VCR is increasing. When VCR is at value 4 the permeability of protein is higher than 1 mg/ml. Membrane failure, protein interactions due to the high concentration reduces membrane effectiveness increasing loses that affect the final yield of the ingredient.

Conclusions

Thermal treatments of CB San Luis affect protein structure, solubility, and yields in alkaline extraction. However, moderate heat treatment ≤ 100 °C does not affect ($p < 0.05$) protein extraction efficiency with 0.05N NaOH. Ultrafiltration process with 5 kDa MWCO membrane is effective to concentrate protein, membrane behavior with de sample permits a volume concentration ratio of 4 times before failure. The concentration of protein increase in an average 3-fold times in retentate with a maximum protein loses in permeate of 4.17% for highly thermally treated samples.

Bibliography

- Boye, J. I., S. Aksay, S. Roufik, S. Ribéreau, M. Mondor, E. Farnworth, and S. H. Rajamohamed. 2010. "Comparison of the Functional Properties of Pea, Chickpea and Lentil Protein Concentrates Processed Using Ultrafiltration and Isoelectric Precipitation Techniques." *Food Research International* 43 (2): 537–46. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.02>
- Hadnadev, Miroslav, Tamara Dapčević-Hadnadev, Athina Lazaridou, Thomas Moschakis, Alexandra - M. Michaelidou, Senka Popović, and Costas G. Biliaderis. 2018. "Hempseed Meal Protein Isolates Prepared by Different Isolation Techniques. Part I. Physicochemical Properties." *Food Hydrocolloids* 79: 526–33. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.12.015>.
- Jafari, Mousa, Amin Reza Rajabzadeh, Solmaz Tabatabaei, Frédéric Marsolais, and Raymond L. Legge. 2016. "Physicochemical Characterization of a Navy Bean (*Phaseolus Vulgaris*) Protein Fraction Produced Using a Solvent-Free Method." *Food Chemistry* 208: 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.102>.
- Los, Francine Gomes Basso, Acácio Antonio Ferreira Zielinski, José Pedro Wojcicchowski, Alessandro Nogueira, and Ivo Mottin Demiate. 2018. "Beans (*Phaseolus Vulgaris* L.): Whole Seeds with Complex Chemical Composition." *Current Opinion in Food Science* 19: 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.010>.
- Mojica, Luis, Diego A Luna-vital, Elvira González, and De Mejía. 2016. "Characterization of Peptides from Common Bean Protein Isolates and Their Potential to Inhibit Markers of Type-2 Diabetes, Hypertension, and Oxidative Stress Luis Mojica," no. January. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8053>.
- Rathod, Rahul P., and Uday S. Annapure. 2016. "Effect of Extrusion Process on Antinutritional Factors and Protein and Starch Digestibility of Lentil Splits." *LWT - Food Science and Technology* 66: 114–23. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.028>.
- Siddiq, M., S. Kelkar, J. B. Harte, K. D. Dolan, and G. Nyomba. 2013. "Functional Properties of Flour from Low-Temperature Extruded Navy and Pinto Beans (*Phaseolus Vulgaris* L.)." *LWT - Food Science and Technology* 50 (1): 215–19. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.024>.
- Stone, Andrea K., Anna Karalash, Robert T. Tyler, Thomas D. Warkentin, and Michael T. Nickerson. 2015. "Functional Attributes of Pea Protein Isolates Prepared Using Different Extraction Methods and Cultivars." *Food Research International* 76 (P1): 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.017>.
- Tang, Chuan He, Ling Chen, and Ching Yung Ma. 2009. "Thermal Aggregation, Amino Acid Composition and in Vitro Digestibility of Vicilin-Rich Protein Isolates from Three *Phaseolus* Legumes: A Comparative Study." *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.038>.
- Ustunol, Z. Physical, Chemical, and Processing-Induced Changes in Proteins. in *Applied Food Protein Chemistry* 23–46 (John Wiley & Sons, Ltd, 2015). doi:10.1002/9781118860588.ch4
- Wani, Idrees Ahmed, Dalbir Singh Sogi, Uma Shanker Shivhare, and Balmeet Singh Gill. 2014. "Physico-Chemical and Functional Properties of Native and Hydrolyzed Kidney Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) Protein Isolates." *Food Research International* 76 (P1): 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.027>

CARACTERIZACIÓN DE LOS RESIDUOS DE GALLETERÍA PARA CONSUMO ANIMAL COMERCIALIZADOS EN EL VALLE CUAUTITLÁN- TEXCOCO

Jiménez Basilio Itzel Angélica, **Camacho- Morfín Deneb** y Morfín-Loyden Lilián.

Dpto. de Ciencias Pecuarias. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Campo 4. Km 2.5 carretera Cuautitlán-Teoloyucan. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán Izcalli, México. C.P. 54500. Contacto: morfinde@yahoo.com

Resumen

Los residuos de galletería son rechazos del control de calidad de la industria y se comercializan para la alimentación animal. En el Valle Cuautitlán-Texcoco hay disponibilidad de esa materia prima; por lo cual el objetivo de este trabajo fue evaluar las características microscópicas y químicas de estos residuos en el Valle de Cuautitlán - Texcoco. Se recolectaron muestras de residuos de galletería a los que se les determinó el análisis químico proximal, carbonatos en forma cualitativa y el análisis microscópico. se encontró que su composición química fue variable, pero resaltaron los porcentajes de cenizas entre 1 y 50 %, La mayoría de las muestras fue positiva a carbonatos que es un adulterante. Se concluye que los residuos de galletería que se comercializan en la zona tienen una composición química muy variable y en general están adulterados.

Introducción

El residuo de galletería es un subproducto de la industria alimentaria y esta formado por aquellos que productos rechazados por el sistema de control de calidad. El componente base de estos residuos es la harina de trigo, pero su composición y valor nutricional es variable debido a al tipo de galleta del cual provengan y de las condiciones del procesado (San Martín *et al.*, 2016; FEDNA, 2019). En el Valle Cuautitlán-Texcoco se encuentran ubicadas diversas industrias dedicadas a la fabricación galletas, donde los concesionarios pueden recoger éstos residuos para sus animales o para venta en distintas unidades de producción animal. Pese a la disponibilidad de esta materia prima para la alimentación animal no hay una caracterización de la misma que permita visualizar su calidad, de ahí que el objetivo de este trabajo fue evaluar las características microscópicas y químicas de residuo de galletería para consumo animal en el Valle de Cuautitlán - Texcoco.

Materiales y métodos

Se recolectaron muestras de residuos de galletería en diversos municipios del Valle de Cuautitlán- Texcoco entre agosto 2018 y febrero de 2019. Las muestras se llevaron al Laboratorio de Bromatología de la FES-Cuautitlán UNAM y se identificaron con el nombre del sitio de muestreo y la fecha. Cada muestra se dividió en dos submuestras, la primera de éstas últimas se molió en un molino de Wiley a 1 mm y se le determinó humedad total, cenizas (AOAC 923.03), proteína cruda (954.01 AOAC), la fibra

cruda (989.03 AOAC) y extracto etéreo (AOAC 920.39). A la segunda submuestra de cada muestra, se le determinó en forma cualitativa la presencia de carbonatos con HCl al 10% (Morfín, 2019), debido a que este es un contaminante común en alimentos para consumo animal; posteriormente, cada submuestra se separó mediante tamizado en las mallas 10, 20 y 40, con el fin de realizar el análisis microscópico con mayor nitidez. Las fracciones de cada malla se observaron por separado en un microscopio estereoscópico, con el fin de identificar las partículas que las integraban (Morfín, 2019). Los resultados obtenidos en cada análisis químico fueron sometidos a un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias de Turkey (Daniel, 2007).

Resultados y discusión

Los de residuos de galletería localizados se encontraron en forma de harina, excepto la muestra Teoloyucan IV, la cual eran galletas enteras. El cuadro 1 muestra la composición química de los residuos de galletería, resalta que la composición de estos alimentos es muy variable, lo cual se podría atribuir, en primera instancia, a los diferentes tipos de galletas que producen las industrias, lo que implica distintos tipos de ingredientes utilizados en su elaboración (Müller, 2015); sin embargo, resaltan las altas concentraciones de cenizas y el contenido similar de fibra cruda en varias de las muestras, lo cual podría atribuirse a adulteraciones.

El cuadro 2 muestra los resultados en cuanto a la presencia de carbonatos, todas las muestras excepto la Teoloyucan IV, fueron positivas, con ello se presumiría que dichos alimentos estarían adulterados con carbonatos. De hecho algunos productores de la zona mencionan que es común la adición de marmolina en los residuos de galletería; la marmolina es un compuesto de carbonato de calcio-magnesio soluble en agua y reacciona en medio ácido (Techmo, 2009), lo cual podría explicar el contenido de cenizas alto, así como el bajo y similar contenido de fibra cruda entre varias de las muestras.

Es importante mencionar que los carbonatos se descomponen a temperaturas altas y quedan como productos óxidos y CO₂ (Mc Murry, 2009). Si bien hay alto contenido de cenizas, el extracto libre de nitrógeno, al no ser una determinación en sí sino un cálculo, no representaría carbohidratos de reserva ni azúcares sino que una parte importante podría estar conformada por bióxido de carbono (Mc Donald *et al.*, 2013) con lo cual se podría sobrevalorar el contenido de energía para los residuos de galletería, lo que tendría implicaciones negativas con el uso de este ingrediente en la alimentación animal, debido a que su uso es como fuente de energía.

El cuadro 3 muestra las características microscópicas de los residuos de galletería, destaca la diversidad de estructuras que conforman las muestras, en este sentido sobresalen los residuos de Teoloyucan I porque presentó maíz molido y salvado de trigo, además de cascarilla de arroz y sulfato de cobre. Si bien la presencia de maíz y salvado podrían ser ingredientes normales en un residuo de galletería, la cascarilla de arroz no debería estar presente en ninguna muestra ya que no es parte de la formulación de las galletas para consumo humano; además, al ser un ingrediente con alto contenido de lignina y sílice (FEDNA, 2019) no debe ser utilizado en alta proporción en las dietas de los animales. Por otro lado, normalmente la cascarilla de arroz se utiliza para adulterar diferentes ingredientes para consumo animal. Por otro lado, el sulfato de cobre no es un ingrediente normal en los residuos de galletería, sobre todo si se considera que

proviene de alimentos para consumo humano. Asimismo, se observó en todos los residuos altos en cenizas presencia de cristales blancos opacos lo cual es característico de la marmolina, se confirmó su presencia con la prueba de carbonatos.

Cuadro 1. Composición química de residuos de galletería para alimentación animal en el Valle de Cuautitlán -Texcoco, en base seca.

Sitio de muestreo		Naucalpan	Teoloyucan I	Teoloyucan II	Zumpango	Teoloyucan III	Teoloyucan IV	Teotihuacán
Materia seca	%	98,5 ± 0,18	89,5 ± 0,22	91,6 ± 0,11	94,43 ± 0,34	92,15 ± 0,08	95,99 ± 0,01	93,77 ± 0,19
Humedad total	%	1,5 ± 0,18	10,5 ± 0,22	8,4 ± 0,11	5,57 ± 0,34	7,85 ± 0,08	4,01 ± 0,01	6,23 ± 0,19
Extracto etéreo	%	11,1c ± 0,30	16,4a ± 0,97	6,1f ± 0,18	13,9b ± 0,65	9,9d ± 0,05	11,0c ± 0,04	7,1e ± 0,06
Cenizas	%	17,3c ± 0,17	9,9e ± 0,12	50,2 ^a ± 0,16	19,9c ± 0,19	14,4d ± 1,13	1,2f ± 1,23	28,6b ± 0,31
Proteína cruda	%	9,3a ± 0,07	7,9b ± 0,11	4,4f ± 0,05	5,9c ± 0,29	6,9c ± 0,56	6,2d ± 0,30	5,2e ± 0,15
Fibra cruda	%	2,1b ± 0,20	2,5b ± 0,36	2,2b ± 0,13	2,8b ± 0,82	3,4b ± 1,03	0,4c ± 0,09	10,6a ± 1,70
ELN	%	60,2	63,3	37,1	57,5	65,4	81,2	48,5

ELN: Extracto libre de nitrógeno

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas con $\alpha=0.05$.

Cuadro 2. Presencia de carbonatos en residuos de galletería para alimentación animal en el Valle de Cuautitlán-Texcoco.

	Sitio de muestreo						
Concepto	Naucalpan	Teoloyucan I	Teoloyucan II	Zumpango	Teoloyucan III	Teoloyucan IV	Teotihuacán
Carbonatos	+	+	+	+	+	-	+

Cuadro 2. Partículas observadas de residuos de galletería en el microscopio estereoscópico comercializadas para alimentación animal en el Valle de Cuautitlán-Texcoco

Sitio de muestreo						
Naucalpan	Teoloyucan I	Teoloyucan II	Zumpango	Teoloyucan III	Teoloyucan IV	Teotihuacán

<ul style="list-style-type: none"> - Harina de galleta. - Cristales blancos opacos 	<ul style="list-style-type: none"> - Endospermo harinoso de maíz - Pericarpio de maíz - Salvado de trigo - Cascarilla de arroz - Sulfato de cobre - Galleta - Cristales blancos opacos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Endospermo harinoso de maíz - Pericarpio de maíz - Salvado de trigo - Harina de galleta - Cristales blancos opacos 	<ul style="list-style-type: none"> - Harina de galleta. - Cristales blancos opacos 	<ul style="list-style-type: none"> - Harina de galleta - Cristales blancos y opacos 	<ul style="list-style-type: none"> - Fragmentos grandes de galleta y malvavisco 	<ul style="list-style-type: none"> - Harina de galleta. - Cristales blancos opacos
--	--	--	--	---	--	--

Conclusiones

Los residuos de galletería que se comercializan en la zona tienen una composición química muy variable y los que se encontraron como harinas estaban adulterados con carbonatos, además también se está utilizando para adulterar la cascarilla de arroz.

Bibliografía

- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis International. En Association of Official Agricultural Chemists (18° ed.).
- FEDNA. 2019. Fundación Española para el desarrollo de la Nutrición Animal. Harina de galleta. Consultado 21 abril 2019 http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/harina-de-galleta-3-cenizas
- San Martín D., Ramos S., Zufía J. 2016. Valorisation of food waste to produce new raw materials for animal feed, Food Chemistry, Volumen 198, paginas 68-74.
- Mc Donald P., Edwards R. A., Greenhalgh J. F. D., Morgan C. A., Sinclair L. A., Wilkinson R. G. 2013. Nutrición animal. 2013. Nutrición animal. 7 ed. Ed. Acribia. Zaragoza España.
- McMurry J. 2009. Química general, 5° Ed, Mexico, Pearson Educación.
- Morfin L. L. 2019. Manual de Bromatología de alimentos. FES-Cuautitlán UNAM.
- Techmo. 2009. Hoja de seguridad de marmolina. http://www.techmo.es/pdf/hs/HS_MARMOLINA.pdf (revisado el 20 de noviembre del 2018)

ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE FÓRMULAS MATERNIZADAS DE INICIO Y LECHE DE MADRES CON LACTANTES MENORES A 6 MESES DE EDAD

Biol. Lucía Alicia Cruz Yáñez (1). **M. en C. Imelda Velázquez Montes** (2). M.C. Esp. Medicina Familiar Jocelyn Estefanía Gabriela Amador González (3). IBT. Christian Soto Carreño (4). (1) Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. (2) Facultad de Química, UNAM. (3) Facultad de Medicina, UNAM. (4) Ingeniero Biotecnólogo, Universidad Abierta y a Distancia de México.

Email: lucyestrella2010@yahoo.com.mx, ivela@yahoo.com

Resumen

Estudio descriptivo, comparativo y transversal, de composición de la leche humana respecto a fórmulas maternizadas de inicio, realizado en la consulta externa de medicina familiar de UMF 44 y UMF 95. Se eligieron en forma aleatoria a 100 mamás, encontrando que 26 otorgaban lactancia materna exclusiva (LME), 22 con fórmula láctea exclusiva (FLE) y 52 con lactancia mixta (LMX). Los exámenes clínicos mostraron que la leche materna y las fórmulas lácteas tienen un aporte calórico similar, todas las fórmulas lácteas de inicio tienen un exceso de nutrientes lo que provocan un incremento en el peso. La lactancia materna permite que madres e hijos tengan un IMC dentro de parámetros normales, en el caso de la lactancia mixta y alimentación con fórmulas tanto madres como hijos presentan sobrepeso u obesidad.

Extenso

La leche materna es el alimento de primera elección para los lactantes sanos en los primeros seis meses de vida, por lo cual la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la alimentación exclusiva con leche materna durante el primer semestre de vida para recién nacidos sanos a término. La lactancia materna por sí misma provee todos los nutrientes necesarios durante los primeros seis meses de vida, lo que supone una mejor regulación metabólica, mayor protección inmunológica y menor riesgo de sensibilidad alérgica, y condiciona una menor incidencia de enfermedades crónicas. Establece un vínculo madre-hijo más adecuado y favorece en el bebé un mejor desarrollo emocional e intelectual. La leche humana tiene un contenido proteínico que contribuye a su digestibilidad y a la mejor absorción de calcio, hierro y vitamina B12, además, ayuda al establecimiento de flora intestinal favorable.

Objetivos

Comparar la composición de fórmulas maternizadas de inicio y leche de madres con lactantes menores a 6 meses de edad.

Metodología

Estudio descriptivo, comparativo y transversal, de composición de la leche humana respecto a formulas maternizadas de inicio, realizado en la consulta externa de medicina familiar de UMF 44 y UMF 95. Se incluyó en el estudio a 156 madres con parto único, sanas, hijos sanos menores de 6 meses de edad. Se eligieron de forma aleatoria a 100, encontrando que 26 otorgaban lactancia materna exclusiva, (LME), 22 con fórmula láctea exclusiva (FLE) y 52 con lactancia mixta (LMX). Se tomaron solo las muestras de madres que otorgaban LME y FLE, se excluyeron las muestras de madres que otorgaban lactancia mixta. En madres/niños(as) se realizó examen clínico, encuesta nutricional, antropometría, evaluación desarrollo psicomotor. En el caso de fórmulas maternizadas, se tomaron muestras de 7 marcas comerciales de fórmulas de inicio, diferentes.

Resultados

Madres que otorgaban FLE presentaban mayor peso (Peso 66,5kg \pm 18.2kg, IMC 26.8 \pm 6.1), Madres con LME menor peso (Peso 62.4kg \pm 12.5kg, IMC 24.9 \pm 4.9), Madres LMX ((Peso 64.8kg \pm 14.5kg, IMC 25.6 \pm 5.4), En los lactantes se encontró relación peso/ talla FLE 0,76 \pm 1,01, LME 0,34 \pm 1,07, IMC 0,49 \pm 1,15 y 0,56 \pm 1,09 en el grupo LMX no diferencia significativa. Desarrollo psicomotor: Sin diferencia significativa. Muestras de leche materna (LM) vs fórmula maternizada (FM) se tomaron en cuenta el Aporte calórico (kcal) carbohidratos totales (g), proteínas totales (g), Grasas totales (g), Electrolitos (mg) (Sodio, potasio, calcio y hierro en mg.). Aporte calórico (kcal): LM 64 \pm 4, FM 68g \pm 3.1, Proteínas (g) LM 0.8 \pm 0.3, FM 2.1 \pm 0.8, Grasas (g) LM 3.6 \pm 0.3, FM 4.2g \pm 1.2, Carbohidratos: LM 6.9 \pm 0.4, FM 10.8 \pm 2.8, Electrolitos: Na (g) : LM 15 \pm 3, FM 46 \pm 28, K(mg): LM 49 \pm 4, FM 62 \pm 8, Ca: 31 \pm 2.4, FM 82 \pm 28, P: LM 12 \pm 2, FM 21.8 \pm 2.8. Fe LM 0.08 +1, FM 0.72 + 0.41.

Conclusiones:

La leche materna y las fórmulas lácteas tienen un aporte calórico similar, todas las fórmulas lácteas de inicio tienen un exceso de nutrientes lo que provoca el incremento ponderal en el peso de los lactantes alimentados. La lactancia materna permite que madres e hijos tengan un IMC dentro de parámetros normales, en el caso de la lactancia mixta y alimentación con fórmulas maternizadas, tanto madres como hijos presentan sobrepeso u obesidad, así como relación peso/ talla aumentados.

Bibliografía

1. http://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est_05/formula_lactan_mayo05.pdf
2. <http://www.infobae.com/2015/08/19/1749166-leche-formula-bebes-todo-lo-que-hayque-saber>
3. <http://espanol.babycenter.com/a4500055/c%25C3%25B3mo-escoger-la-lechedef%25C3%25B3rmula#ixzz48L2WR56c>
4. http://www.alimentacionynutricion.org/es/index.php?mod=content_detail&id=138
5. Tojo, R., & Caballero, B. (Eds.). (2001). Tratado de nutrición pediátrica. Doyma.
6. Rebollo, M. J. (2009). La mejor pauta de alimentación en el primer año de vida. Medwave, 9(04).
7. http://www.analesdepediatría.org/es/estudio-comparativo-leche-mujercon/articulo/13081720/MIRAR_ESTA
8. Piñana, C. J., Pons, N. A., Carretero, C. B., & Val, V. A. (2015, December). Composición nutricional de las leches infantiles. Nivel de cumplimiento en su fabricación y adecuación a las necesidades nutricionales. In Anales de Pediatría (Vol. 83, No. 6, pp. 417-429). Elsevier Doyma.
9. <http://blog.exclusivasdelbebe.com/lactancia/tipos-de-leche-de-formula/>
10. <http://www.apcontinuada.com/es/formulas-adaptadas-lactantesmodificacionesactuales/articulo/8000>