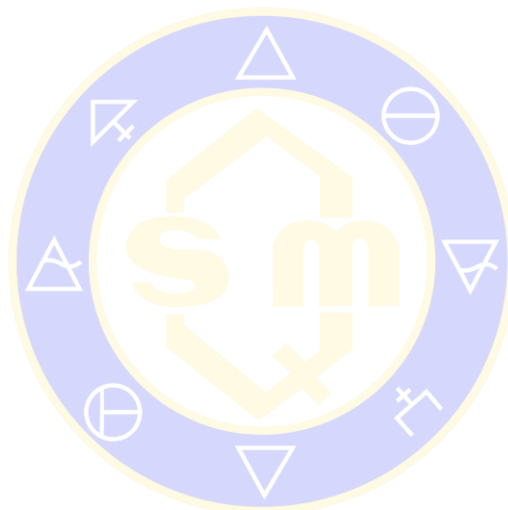


CONTENIDO

Efecto del secado a vacío asistido con ultrasonido en la pérdida de humedad, color y dureza en cubos de manzana (<i>red delicious</i>).	525
Permeabilidad al vapor de agua de una película elaborada a partir de criogel de almidón waxy	529
Cuantificación de lactobacilos y concentración de ácido láctico en tres marcas comerciales de yogurt bebible	533
Modelado matemático del proceso de secado por infrarrojo de pitaya de mayo (<i>Stenocereus Griseus H.</i>) y caracterización fisicoquímica para la determinación de betalaínas.	536
Determinación de glucosinolatos en tres cepas de hojas de moringa (<i>Moringa oleifera</i>), su eliminación y evaluación de toxicidad subcrónica por vía oral en ratones del material destoxificado	541
Evaluación del tratamiento de rastrojo de maíz con enzimas fibrolíticas	545



SOCIEDAD QUÍMICA
DE MÉXICO, A.C.
“La química nos une”

Efecto del secado a vacío asistido con ultrasonido en la pérdida de humedad, color y dureza en cubos de manzana (*red delicious*).

José Luis Miguel-Olivares, Rosalía Meléndez-Pérez, Jonathan Coria-Hernández, José Luis Arjona-Román.

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Laboratorio de Análisis térmico y estructural de alimentos y materiales.

melendez@unam.mx

La deshidratación de manzanas es una práctica frecuente, forma en la que es utilizada en alimentos preparados, en refrigerios y como alimentos integrales para el desayuno. El secado a vacío con ultrasonido ha cobrado mucha importancia ya que tiene efectos positivos en el secado, además de que disminuye el tiempo de proceso. El objetivo de este trabajo fue comparar el secado a vacío contra secado a vacío asistido con ultrasonido a 40 °C y 60 °C para determinar los efectos que se producen en la pérdida de humedad, color y dureza en cubos de manzana. Se aplicó una frecuencia de 40 kHz y vacío de 15 cmHg. Se determinó que cuando se combina el secado a vacío con ultrasonido, existe mayor pérdida de humedad, se aumenta la velocidad de secado y se controla la pérdida de color, mientras que la dureza fue similar en los dos tratamientos.

Introducción

La manzana es una fruta fácil de cultivar y es de las más producidas y consumidas en el mundo. Se consume no solo como fruta fresca sino también procesada, como jugo y mermelada, así como numerosos alimentos preparados, que en algunos casos contienen porciones de manzana seca (Santacatalina, Contreras & Simal, 2016).

El secado es un proceso utilizado en la industria alimentaria, sin embargo, en el proceso, algunas propiedades del producto se alteran, como el aspecto, la estructura del tejido, la morfología y el tamaño y, que dependen en gran medida del método de secado aplicado, el tiempo y la temperatura, entre otros. En particular, el secado de manzanas provoca una serie de cambios, como la oxidación, el oscurecimiento, la contracción, el ablandamiento y la pérdida de las propiedades nutricional-funcionales (Beck, Sabarez & Gaukel, 2014). En el secado de los alimenticios sigue siendo un gran desafío eliminar el agua de la manera más eficiente, con un mejor control de la calidad del producto, un impacto mínimo sobre el medio ambiente y a bajos costos operativos (Sabarez, 2015), por lo que el secado a vacío es especialmente adecuado para productos que son propensos al daño por calor, como son las frutas y verduras, sin embargo, en éste proceso se vuelve difícil la transferencia de energía, ya que la convección es ineficaz a bajas presiones (Giri & Prasad, 2007). El ultrasonido (US) aplicado durante el proceso de deshidratación ha demostrado mejorar la calidad de los alimentos secos debido a su carácter no térmico, además, de que el tiempo de secado puede reducirse, lo que es especialmente significativo para los productos que contienen sustancias termolábiles (Chen, Guo & Wu, 2016; Ojha & Tiwari, 2018). La aplicación de US interrumpe la continuidad de las membranas y, por lo tanto, aumenta la velocidad de transferencia de masa entre la célula y su entorno extracelular (Baslar *et al.*, 2014). El objetivo de este estudio fue investigar el efecto del ultrasonido cuando se aplica simultáneamente con el secado a vacío a 40 °C y 60 °C en la pérdida de agua, color y dureza en cubos de manzana.

Materiales y Métodos

Las manzanas (*red delicious*) se compraron en un mercado local (Tlalnepantla de Baz, Estado de México); fueron seleccionadas en términos de madurez, calibre (diámetro ecuatorial y peso) y color superficial. Se cortaron en cubos de 11 ± 1 mm retirando la cascara con una herramienta doméstica. El contenido de humedad inicial se determinó en un horno de convección a 100 ± 1 °C hasta peso constante. El secado de los cubos de manzana se llevó a cabo en un matraz Kitasato colocado dentro del baño US a 40 °C y 60 °C

con una frecuencia de 40 kHz y vacío de 15 cmHg durante 4 horas. Se pesaron las muestras antes y después del secado en una balanza analítica.

El color se determinó en el sistema CIELAB con el colorímetro Konica Minolta (observador de 10°, iluminante C), a cada cubo de manzana, tanto fresca como deshidratada a las condiciones establecidas y se determinó la diferencia total de color (ΔE^*).

Para la determinación de la dureza, se realizó una prueba de penetración por compresión simple con un texturómetro Brookfield CT3, empleando una sonda tipo cono de 45° (TA2 15/1000), a una velocidad de 0.5 mm/s, una carga de activación de 125 g a una profundidad del 50% del espesor. La dureza se calculó a partir de los perfiles de fuerza/deformación como la fuerza máxima lograda. Se realizaron 3 repeticiones para cada condición establecida.

Discusión y resultados

En la figura 1 se observa un comportamiento similar a ambas temperaturas, solo que, a 40 °C, en los primeros 40 min la pérdida de humedad fue muy similar tanto para el secado a vacío como para el vacío asistido con US, después se tuvo mayor pérdida de humedad con este mismo proceso. A una temperatura de 60 °C se detecta el comportamiento similar hasta los 90 min. La temperatura tiene un efecto muy importante en la pérdida de humedad, a 60 °C hubo una reducción cercana al 50%. También se aprecia que en los dos casos de secado el US potencializa la pérdida de agua con forme transcurre el tiempo de secado. Estudios anteriores de Baslar *et al.*, (2014), Chen, Guo & Wu, (2016) y Kowalski & Pawłowski (2015), corroboran que el secado a vacío con US disminuye el tiempo de secado.

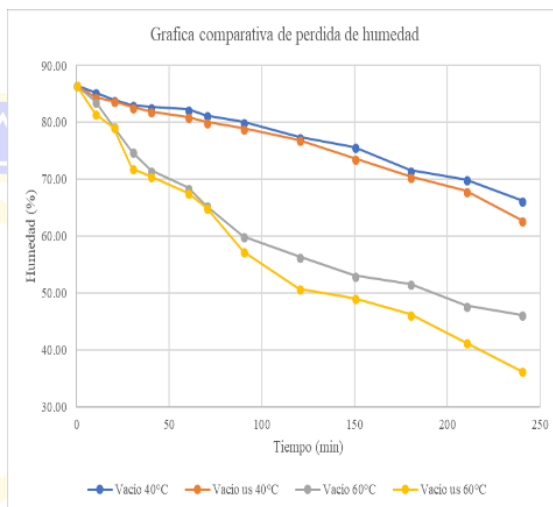


Figura 1. Cinética de secado a vacío y vacío asistido con ultrasonido a 40 °C v a 60 °C.

La aplicación de US durante el secado de manzana aumentó la velocidad de secado a ambas temperaturas.

Tabla 1. Valores promedio de la velocidad de secado (% / min)

	Vacío 40 °C	Vacío US 40 °C	Vacío 60 °C	Vacío US 60 °C
A	0.1157	0.1081	0.3865	0.4158
B	0.0495	0.0634	0.2355	0.262
C	0.0908	0.1131	0.0915	0.1226

En la tabla 1 se observa una mayor velocidad de secado durante los primeros minutos ya que la remoción de humedad de la superficie es más fácil de retirar porque no existe interacción con otros compuestos del alimento y se encuentra más disponible a difundirse al medio; cuando se aplica vacío asistido con US a 60 °C la velocidad de secado fue mayor, ya que se crean una serie de compresiones en el alimento lo cual hace que la difusión de agua al exterior se vea favorecida.

En la tabla 2 se tienen los valores obtenidos de ΔE^* , donde se aprecia que con forme transcurre el tiempo de secado la diferencia total de color aumenta en casi todos los casos, excepto en el secado a vacío a 40 °C donde, la mayor diferencia de color se tiene en la primera hora. La pérdida de color de las manzanas se le atribuye principalmente a la actividad de las polifenoloxidasas, que son las responsables del pardeamiento enzimático, las cuales se polimerizan dando lugar a pigmentos que presentan color marrón. Si bien se sabe que esta enzima necesita oxígeno para llevar a cabo sus funciones, debido al bajo nivel de vacío empleado,

la enzima sigue actuando a pesar de que se encuentra una baja cantidad de oxígeno lo que propicia el pardeamiento.

Tabla 2. Valores promedio de la diferencia total de color (ΔE)

Tiempo (h)	Vacío 40 °C	Vacío US 40 °C	Vacío 60 °C	Vacío US 60 °C
1	13.38 ± 5.34	9.53 ± 3.92	19.29 ± 5.85	16.29 ± 1.14
2	8.74 ± 1.53	9.97 ± 1.33	30.39 ± 0.95	30.93 ± 0.95
3	12.37 ± 1.39	13.56 ± 2.89	38.23 ± 1.92	31.57 ± 2.03
4	12.95 ± 1.46	16.97 ± 1.03	45.45 ± 1.64	36.08 ± 2.75

La dureza disminuyó en todos los casos con respecto al tiempo de secado. Esto se debe a que cuando se retira agua del alimento existe un colapso de la estructura, además de un desbalance de la presión entre la estructura interna y externa de la manzana, lo que provoca que la dureza se vea modificada. En particular, en procesos de secado, la pérdida de agua y la exposición a altas temperaturas, provocan el encogimiento celular, por consiguiente, cambios en la pared celular, particularmente en la lámina media, principalmente en el inicio de la ruptura de la pectina, que conduce a la separación celular y por consiguiente cambios en la textura de los productos obtenidos (Contreras, 2008). Se observa que el secado reduce notablemente ésta propiedad, de igual manera la menor dureza se obtuvo con el secado a vacío asistido con US a 60 °C; además se observó que el mayor efecto en la dureza fue de la temperatura ya que cuando se secó a una temperatura de 60 °C la dureza disminuyó en mayor medida que a 40 °C. Valencia y Rodríguez (2011) reporta que ello se debe a que la temperatura de secado provoca un cambio en la solubilidad de las pectinas, relacionado con un incremento de la fracción hidrosoluble y una disminución del oxalato soluble y de la pectina residual, que hace que las muestras deshidratadas presenten una menor dureza.

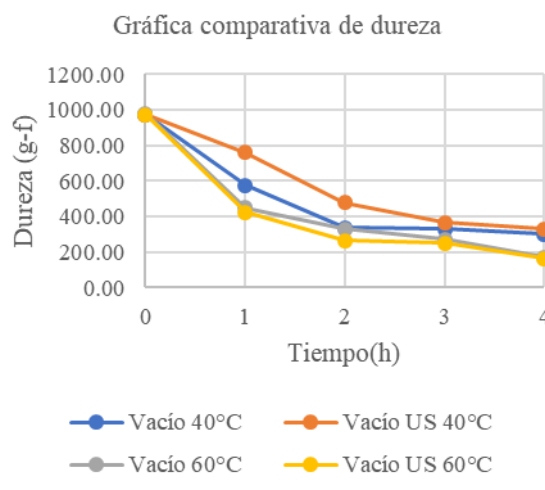


Figura 2. Gráfica comparativa de dureza a diferentes condiciones de secado.

Conclusiones

Se puede concluir que cuando se trabaja con un secado a vacío asistido con US la velocidad de secado aumenta, se tiene mayor remoción de agua tanto a 40 °C como a 60 °C y se tiene un mayor control en la pérdida de color. La dureza no se ve afectada notoriamente comparada con solo el secado a vacío.

Referencias

Baslar, M., Klichi, M., Toker, O., Sagdic, O. & Arici, M. (2014). Ultrasonic vacuum drying technique as a novel process for shortening the drying period for beef and chicken meats. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 26, 182-190.

Beck, M., Sabarez, H. & Gaukel, V. (2014). Enhancement of convective drying by application of airborne ultrasound – A response surface approach. *Ultrasonics Sonochemistry*. 21(6), 2144-2150.

Chen, Z., Guo, X. & Wu, T. (2016). A novel dehydration technique for carrot slices implementing ultrasound and vacuum drying methods. *Ultrasonics Sonochemistry*. 30, 28-34.

Contreras, M. (2008). Influencia del método de secado en parámetros de calidad relacionados con la estructura y el color de manzana y fresa deshidratadas. (tesis doctoral). Universidad Politécnica de Valencia.

Giri, S. & Prasad, S. (2007). Drying kinetics and rehydration characteristics of microwave-vacuum and convective hot-air dried mushrooms. *Journal of Food Engineering*. 78(2), 512-521.

Kowalski, S. & Pawłowski, A. (2015). Intensification of apple drying due to ultrasound enhancement. *Journal of Food Engineering*. 156, 1-9.

Ojha, K. & Tiwari, B. (2018). Effect of Ultrasound Technology on Food and Nutritional Quality. *Advances in Food and Nutrition Research*. 84, 207-240.

Sabarez, H. (2015). Modelling of drying processes for food materials. *Technology and nutrition*, Woodhead Publishing is an imprint of Elsevier. 80, 95-127.

Santacatalina, J.V., Contreras, M. & Simal, S. (2016). Impact of applied ultrasonic power on the low temperature drying of apple. *Ultrasonics Sonochemistry*. 28, 100-109.

Valencia, C. y Rodríguez H. (2011). Cinética de secado y control de la oxidación en manzana Granny Smith, mediante la aplicación de diferentes tecnologías de secado. *Revista Tumbaga*. (6), 7 – 16.

SOCIEDAD QUÍMICA
DE MÉXICO, A.C.
“La química nos une”

Permeabilidad al vapor de agua de una película elaborada a partir de criogel de almidón waxy

Luis Rodrigo López-Figueroa, Jonathan Coria-Hernández, Rosalía Meléndez-Pérez, José Luis Arjona-Román

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Laboratorio de Análisis térmico y estructural de alimentos y materiales. jonathancoria@outlook.com

En este trabajo se evaluó el efecto de la criogelificación de almidón waxy sobre la permeabilidad de una película, aplicando dos ciclos de congelación-descongelación. La película se elaboró con adición de glicerol como plastificante, con una concentración de 40% del peso del polisacárido. Se contrastaron los resultados con una película de hidrogel del mismo material como referencia. La permeabilidad se evaluó por intercambio de humedad en cámaras. Se estudió, además el efecto de la criogelificación por microscopía electrónica de barrido (SEM), se elaboraron isothermas de sorción de las películas a 20 °C, y se estudiaron las propiedades mecánicas del criogel como recubrimiento en galletas saladas.

Introducción

El desarrollo e implementación de empaques alimenticios a base de materiales biológicos ha generado gran interés debido a la necesidad de reducir y sustituir el empleo de plásticos y envases sintéticos, por materiales que generen un menor impacto al ambiente. Además, estos materiales pueden actuar como barreras semipermeables preservando las características sensoriales de productos alimenticios. Un recubrimiento comestible (RC) se puede definir como una matriz transparente continua, comestible y delgada, que se estructura alrededor de un alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución formadora del recubrimiento con el fin de preservar su calidad. Por otra parte, una película comestible (PC) es una matriz preformada, obtenida por moldeo, cuyo espesor es siempre es mayor al de los RC. Tanto las películas como los recubrimientos tienen el objetivo de aislar al producto de las condiciones ambientales [1, 2]. Los almidones son compuestos disponibles universalmente, de bajo costo y buena capacidad de formación de películas [3], además de satisfacer los requerimientos de estabilidad térmica, y mínima interferencia con las propiedades cualitativas del producto [4]. Algunos tipos de almidón se conocen como *waxy* (cerosos), debido a la apariencia cerosa del tejido del endospermo del cual se obtienen; estos tejidos contienen una cantidad mínima de amilosa en su composición ($\leq 1\%$), lo cual le confiere propiedades distintivas, como mayor viscosidad y poder de hinchamiento [5], además de conservar sus propiedades después de la congelación. Cuando un sistema de este tipo se congela, cristaliza primero el solvente mientras que el soluto se concentra en la fase que aún se encuentra en estado líquido. Este proceso produce una interacción polímero-polímero de gran intensidad que finalmente conduce a la formación de uniones estables de la red tridimensional, es decir, un aumento en la proporción de la fase cristalina en el sistema, el cual pasa a convertirse en un *criogel*. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de dicho proceso de reacomodo intermolecular provocado por la criogelificación del almidón waxy sobre la permeabilidad de una película.

Materiales y Métodos

Se realizó la dispersión del almidón waxy al 3% m/v en agua destilada a 70 °C con agitación magnética. Para la formación del criogel se completaron dos ciclos de congelación-descongelación [6]. Las películas se formaron por vertido de la solución formadora de película en moldes, con una proporción de glicerol del 40% en p/p de almidón waxy y evaporación del disolvente a 20 °C por 24 h. El recubrimiento de solución formadora de película (almidón waxy-glicerol) a galletas se realizó por aspersión con un aerógrafo de gravedad GONI modelo 3503. Las pruebas mecánicas (dureza en g_f , fracturabilidad y número de fracturas) se llevaron a cabo en un texturómetro Brookfield, CT3 Texture Analyzer. Las isothermas de sorción de las películas se realizaron graficando diferencia de pesos vs. actividad de agua, en donde la actividad de agua se evaluó con un equipo AquaLab 4te. Se caracterizó morfológicamente las películas y las galletas con y sin recubrimiento de criogel por microscopía de barrido electrónico (SEM). La permeabilidad de las

películas (g/s m Pa) se evaluó por intercambio de humedad en cámaras por 120 minutos, midiendo el cambio de humedad relativa y temperatura en la cámara aislada (secada por presencia de gel sílica) y ambiental cada 10 minutos. La conversión de humedad relativa a humedad absoluta se realizó de acuerdo con lo establecido por la Organización Meteorológica Mundial [7]. Estos resultados se analizaron estadísticamente con una prueba *t* de dos muestras, se halló que los tratamientos son significativamente diferentes con una confiabilidad del 95%.

Discusión y resultados

Se puede observar que, mientras que la película con matriz de hidrogel presenta una estructura laxa, la película a base de criogel presenta estructuración, esto coincide con la reticulación intramolecular que presenta un criogel [8]. Ambas películas presentan burbujas microscópicas, probablemente formadas desde la dispersión del almidón waxy y burbujas macroscópicas después de la evaporación del disolvente (Figura 1).

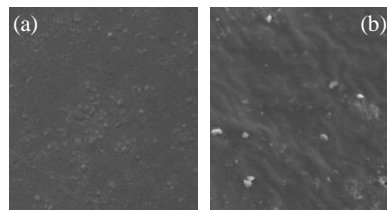


Figura 1. Comparativa entre morfología de película de hidrogel (a) y criogel (b) de almidón waxy

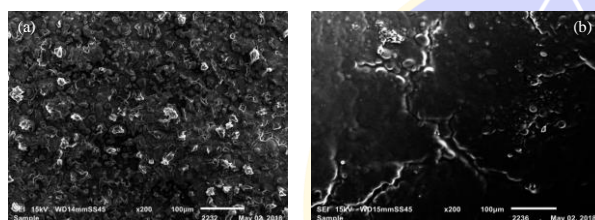


Figura 2. Microscopía (SEM) galleta (a) sin recubrimiento y (b) con recubrimiento por aspersión de criogel a 200x

En la figura 2 se observa la estructura porosa de la superficie de la galleta sin tratamiento, mientras que, al aplicar el recubrimiento los poros de la galleta se encuentran recubiertos, y son perceptibles los glóbulos formados al momento del recubrimiento de criogel por aspersión.

La disminución de la dureza (punto máximo) se debe a la acción del glicerol, añadido a la solución de recubrimiento, este suaviza la estructura superficial de la galleta, haciéndola más suave, (dureza control: 4091 ± 122.7 gr, dureza recubrimiento de criogel: 3208 ± 375.3 gr), mientras que los resultados de fracturabilidad (2796 ± 754.92 gr para control y 2543 ± 111.9 gr para recubrimiento de criogel) y número de fracturas (22.5 ± 0.7065 en promedio para control y 21.3 ± 2.1534 en promedio para recubrimiento de criogel) no mostraron variaciones en promedio entre las repeticiones, los resultados de las pruebas mecánicas de las galletas con recubrimiento de hidrogel se realizaron con condiciones distintas a los otros tratamientos, por lo cual los resultados de las pruebas mecánicas no se consideraron adecuados para su contrastación.

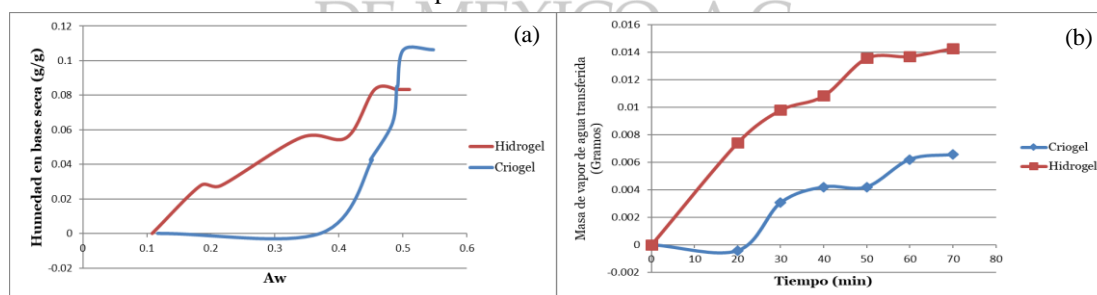


Figura 3. (a) Isotermas de sorción a 20°C (b) Tasa de transferencia de humedad

De acuerdo con lo descrito por Bronlund y Paterson [9] el arreglo molecular de un material tendrá un efecto directo sobre su interacción con el agua, así un arreglo cristalino significa una mayor interacción intramolecular y una disminución de los sitios polares disponibles, mientras que conforme se va reduciendo este arreglo, es decir, aumenta el amorfismo de la estructura molecular, estos sitios disponibles se incrementan en número. El arreglo cristalino es entonces, menos afín al agua y la isoterma de sorción del criogel lo confirma (Figura 3a), siendo que al llevar a cabo la criogelificación se disminuye la afinidad al agua, la isoterma se aproxima a un comportamiento potencial, aunque no del todo. Mientras que conforme aumenta el amorfismo, la isoterma se va alejando de este comportamiento potencial, como se observa para

el caso de la película de hidrogel, esto se interpreta como una menor cristalinidad del sistema y, por lo tanto, menor número de las interacciones intramoleculares del sistema que se forman al criogelificar. La figura 3b muestra los gramos de humedad que ingresaron a la cámara seca durante la prueba de permeabilidad, las variaciones de la pendiente coinciden con disminución o aumento del diferencial de presión de vapor entre el interior de la cámara seca y el ambiente.

Se obtuvo la permeabilidad de las películas $3.9 \times 10^{-6} \pm 9.4 \times 10^{-7}$ g/s m Pa para las películas de hidrogel, y $2.39 \times 10^{-6} \pm 4.97 \times 10^{-8}$ g/s m Pa. Entre los resultados de permeabilidad, se encontró que las películas de criogel fueron, en promedio un 63.2% menos permeables que las películas de hidrogel, esto se puede interpretar como una reducción del 63.2% de los sitios polares disponibles en el sistema al criogelificar. Los valores para permeabilidad obtenidos son altos, en comparación con los descritos por Bertuzzi [10] y Zaritzky [11], ello se atribuye a la presencia de burbujas de aire (micro y macroscópicas) descrita para la figura 1, ya que ello implica espacio libre para el paso de la humedad y representaría también una disminución del espesor efectivo como barrera impermeable a la humedad.

Conclusiones

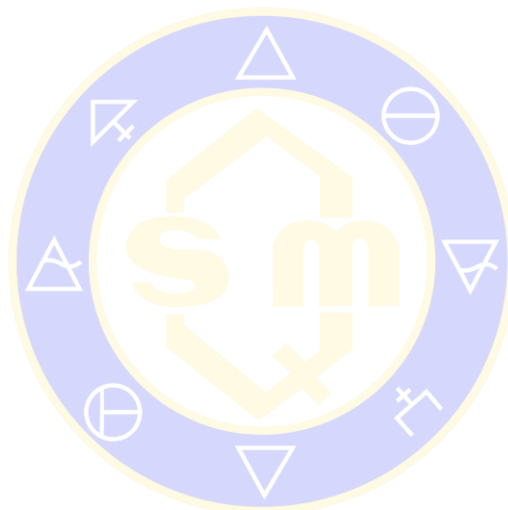
La criogelificación tiene un efecto sustancial e interesante sobre la estructura y propiedades de una película de almidón waxy, específicamente mejorando sus propiedades como barrera a la humedad sin interferir de manera importante sobre las propiedades mecánicas, además de ser una tecnología compatible con otros compuestos, y que puede desarrollarse para su aplicación en diversas áreas de investigación.

Referencias

- [1] Fernández-Valdés, D., Bautista, B., Fernández-Valdés, Ocampo, A., García, A., Falcón, A. (2015). Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, **24**(3), 52-57.
- [2] Hagenmaier, R., Shaw, P. (1990). Moisture permeability of edible films made with fatty acid and (Hydroxypropyl)methylcellulose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **38**, 1799-1803.
- [3] Mohammadi, A., Karim, A., Mahmud, S., Robal, M. (2012). Antimicrobial, rheological, and physicochemical properties of sago starch films filled with nanorod-rich zinc oxide. *Journal of Food Engineering*, **113**, 511-519.
- [4] Roshafima, R. Ali, W., Rahman, W., Kasman, R., Ibrahim, N. (2012). Starch Based Biofilms for Green Packaging. *International Journal of Materials and Metallurgical Engineering*, **6**(10), 937-941.
- [5] Hung, P., Maeda, T., Morita, N. (2007). Study on Physicochemical Characteristics of Waxy and High amylose Wheat Starches in Comparison with Normal Wheat Starch. *Wiley Online Library*, **59**(3-4), 117-196.
- [6] Coria, H.J., Méndez, A.A., Meléndez, P.R., Rosas, M.M.E., Arjona, R.J.L. (2018). Thermal, Structural, and Rheological Characterization of Waxy Starch as a Cryogel for Its Application in Food Processing. *Polymers* **10**(359), 1-13.
- [7] World Meteorological Organization. (2008). Guide to Meteorological Instruments and Methods of Observation, Geneva Switzerland pp 716.
- [8] Kumar, A., Mishra, R., Reinwald, Y., Bhat, S. (2010). Cryogels: Freezing unveiled by thawing. *Materials Today*, **13**(11), 42-44.
- [9] Bronlund, J., Paterson, T. (2004). Moisture sorption isotherms for crystalline, amorphous and predominantly crystalline lactose powders. *International Dairy Journal*, **14**, 247-254.

[10] Bertuzzi, M., Armada, M., Gottifredi, J. C., Aparicio, A. R., Jimenez, P. (2003). Estudio de la permeabilidad al vapor de agua de films comestibles para recubrir alimentos. Secretaría de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Catamarca, Argentina, pp 513.

[11] Zaritzky, N. (2007). Películas biodegradables y recubrimientos comestibles a base de hidrocoloides: caracterización y aplicaciones. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA, Argentina), pp 23.



SOCIEDAD QUÍMICA
DE MÉXICO, A.C.
“La química nos une”

Cuantificación de lactobacilos y concentración de ácido láctico en tres marcas comerciales de yogurt bebible

Sugey E. Herrera-de Jesús¹, María F. López-Rodríguez¹, Carlos Padua-Ahumada¹, Fernanda Sánchez-Carmona¹, Thania Castillo Vásquez¹, Yissel Tablada Aguilar¹.

¹Universidad del Valle de México, Campus Toluca. Químico Farmacéutico Biotecnólogo (QFBT). Laboratorio de Microbiología sugey_herrera97@hotmail.com

Resumen

El objetivo fue cuantificar los lactobacilos y concentración de ácido láctico en tres marcas comerciales de yogurt bebible. Se realizó una dilución de tres marcas (A, B y C), se sembraron en placas, se incubaron, se cuantificaron las UFC/ml y determino el ácido láctico por acidez titulable. Se tuvo la mayor concentración de lactobacilos en las marcas A y B pero la mayor concentración de ácido láctico fue para la marca A y las menores concentraciones en ambas variables fue en la marca C. Se concluye, que la producción de ácido láctico depende de la concentración de lactobacilos y la más alta fue para el yogur marca A que pudiera contribuir a mejores estándares de calidad en la industria.

Introducción

Dentro de los alimentos funcionales o alimentos que promueven la salud de las personas se tiene el yogurt entre otros alimentos que contiene microorganismos como probióticos, los cuales son suplementos de microorganismos vivos que afectan benéficamente al huésped al mejorar el balance microbiano intestinal. Las bacterias que se encuentran en este producto son principalmente miembros del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (Parra, 2012). Los *Lactobacillus*, son microaerófilos o anaerobios. Algunos bacilos forman parte de la flora intestinal normal y pueden predominar en lactantes e individuos con ingestión elevadas de azúcares, especialmente lactosa. Las bacterias ácido lácticas (BAL) están presentes en la alimentación del hombre desde hace mucho tiempo y es posible encontrarlas en diferentes productos de leche fermentada como jocoque y yogurt, también se encuentran en quesos frescos y madurados (Mateo, 2002). Con la denominación de “bacterias ácido lácticas” (BAL) se generaliza a un grupo de bacterias que fermentan azúcares como glucosa y lactosa para producir ácido láctico. Dentro de este grupo se reconoce la existencia de microorganismos aerobios, anaerobios y anaerobios facultativos. Los géneros representativos de las BAL se denominan: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* y *Pediococcus*. Con excepción de *Bifidobacterium*, todos son aeróbicos (Torres, 1999). Las BAL están representadas por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común, en general son cocos o bacilos, producen ácido láctico como el único o principal producto de la fermentación (Vázquez y col., 2009). Los microorganismos son generalmente utilizados como cultivos iniciadores en la elaboración y conservación de productos lácteos, como leche acidificada, yogurt, mantequilla, crema y quesos (Carr y col., 2002). Por ende el objetivo del estudio fue cuantificar los lactobacilos y concentración de ácido láctico en tres marcas comerciales de yogurt bebible.

Exposición

En el mercado existen una diversidad de marcas en presentación de yogurt bebible, lo importante es saber si estas marcas están aportando una gran cantidad de lactobacilos para el consumidor, ya que estos productos se promocionan con estos y más beneficios para los clientes. Por tanto, de verdad es cierto o hay algunos otros factores que estén alterando dicha concentración de microorganismos.

Materiales y Métodos

Se realizó una encuesta en diferentes supermercados en la ciudad de Metepec, Estado de México para conocer cuáles son los yogurt bebibles más consumidos y se seleccionaron tres marcas que se clasificaron con base al sector al cual va dirigido y por precio marca A (Ideal para la familia-precio elevado), marca B (Ideal para la digestión-precio intermedio) y marca C (Ideal para los chavos-menor precio). Se hizo una

dilución de los yogures con base a la NOM-110-SSA1-1994 Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico, se prepararon placas con medio estéril MRS, se sembraron las diluciones 10^5 , 10^6 y 10^7 por el método de extensión en placa por triplicado e incubaron a 35°C por 48 hrs. Después de la incubación se realizó el conteo de UFC/ml en una cuenta colonias. Para determinar la cantidad de ácido láctico se llevó a cabo por acidez titulable expresada como porcentaje de ácido láctico en 10 ml de yogur por triplicado. Así mismo, se realizó un ANOVA para cada variable con una comparación de medias usando una prueba de Tukey.

Resultados y Discusión

Se muestran en los Cuadro 1 el promedio de ácido láctico, en el Cuadro 2 y Figura 1 el conteo para las UFC/ml y las colonias de lactobacilos en agar MRS, respectivamente. Se observa una mayor cantidad de ácido láctico de 1.11% en la marca A, valores intermedios de .9% de ácido láctico en la Marca B y la menor cantidad de ácido láctico de .66% en la Marca C. Así mismo, las UFC/ml presentan una tendencia similar a la cantidad de ácido láctico siendo mayor en las Marcas A y B pero menor en la Marca C.

Cuadro 1. Promedio de ácido láctico en tres marcas comerciales de yogur bebible

A	1.11 a ¹
B	.90 b
C	.66 c

¹Valores con letras iguales en la columna no son diferentes entre sí (P>0.05, Tukey)

Cuadro 2. Promedio de UFC/ml en tres marcas comerciales de yogur bebible

MARCAS			
Dilución	A	B	C
10^5	1.78×10^{12} a ¹	2.56×10^{12} a	1.5×10^{11} b
10^6	2.2×10^{13} a	3.5×10^{13} a	0 b
10^7	1.0×10^{14} a	4.2×10^{14} a	0 b

¹Valores con letras iguales en cada fila no son diferentes entre sí (P>0.05, Tukey)

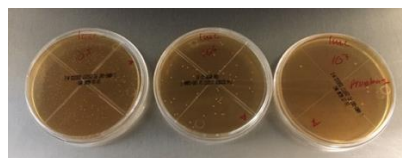


Figura 1. Colonias de Lactobacilos en las diluciones 10^5 , 10^6 y 10^7

El comportamiento de los datos es claro, ya que, a mayor cantidad de ácido láctico la tendencia sería un mayor número de lactobacilos y la Marca A y B presentaron este comportamiento mientras que la Marca C tiende a ser menor esa tendencia. Considerando que los lactobacilos ocupan la lactosa de la leche para fermentarla y producir ácido láctico. Así mismo, Vergel et al (2018), reportan que conforme pasan los días de fermentación aumentan las UFC/ml de *Lactobacillus casei* subsp. *defensis* en un yogur firme de 1.0×10^{12} CFU/mL en el día cero y 11.0×10^8 CFU/mL a los 15 días, lo cual presenta cierta relación con los datos de este estudio, pero hay que considerar que quizás la fecha de caducidad del yogur pudiera tener

alguna influencia en la concentración de *Lactobacillus* pero que fue un parámetro no estudiado. Así mismo, en este estudio solamente se consideró el conteo de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* pero con base a la NOM-181-SCFI-2010, yogurt denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, informa que el yogurt deberá contener como mínimo 107 UFC/g de la suma de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* viables.

En relación a la cantidad de ácido láctico la NOM-181-SCFI-2010 marca un valor mínimo de 0.5 %, lo cual las tres marcas evaluadas están dentro de lo establecido por la norma con un valor mínimo de .66% en la marca C que fue el yogurt del sector “Ideal para los chavos-menor precio” y un valor mayor en la marca A que fue el yogurt “Ideal para la familia-precio elevado”.

Conclusiones. Se concluye que la producción de ácido láctico depende de la concentración de lactobacilos, y la mayor concentración fue en las Marca A y B que se considera un producto en el mercado de mayor precio e ideal para la salud, respectivamente que pudo contribuir a mejores estándares de calidad en la industria. Aunque pudieran existir otras variables no estudiadas en este trabajo que influyeron como el tiempo de fermentación, cantidad de lactosa y la fecha de caducidad.

Referencias.

- Carlos Vergel, Carmen Mantilla, Solange Bravo, María Morales, Doris Medina, Jesús Ibarra, William Moreno, Luis Gutiérrez-Peña, Isbery Pérez, Roxy Chirinos, Juana Villarreal, José Vielma. (2018). Identification and quantification of *Lactobacillus casei* subsp. *defensis* from firm yogurt and buttermilk. Need for proper labeling of these foods. Acta Bioclínica. Volumen 8, N° 15
- Carr, F. J., Chill, D. y Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: A literatura survey. Critical Reviews in Microbiology. 28(4): 281-370
- Parra J.C. (2012). Yogur en la salud humana. Revista Lasallista de Investigación. 9 (2): 162- 177. Antiquia, Colombia.
- Vazquez, S.M., Suarez, H. y Zapata, S. (2009). Utilizacion de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. Revista Chilena de Nutricion . 36 (1): 64-71.
- NOM-181-SCFI-2010, yogurt-denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba, disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5167303&fecha=16/11/2010
- Mateos, J.A. (2002). Aspectos Básicos de la Tecnología de las Leches Fermentadas. En Alimentos Funcionales. Probióticos. [R.M. Ortega, A. Marcos, J. Aranceta, J.A. Mateos, A.M. Requejo, L. Serra.] Ed.Médica Panamericana. Cap. 6. “La química nos une”
- Torres, V.R. (1999). Flora Intestinal, Probióticos y Salud. Ed. Gráfica Nueva. México.

Modelado matemático del proceso de secado por infrarrojo de pitaya de mayo (*Stenocereus Griseus H.*) y caracterización fisicoquímica para la determinación de betalaínas.

Paulina Vargas Rodríguez,¹ Gustavo Ríos Moreno,¹ Ma. Guadalupe Félix Flores,¹ Ivan Cruz Reyes¹

Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Campus UAZ Siglo XXI, Carr. a Guadalajara km 6, Ejido La Escondida, Zacatecas, Zac., México C.P. 98160

Resumen

La Pitaya de mayo (*Stenocereus griseus H.*) es una fuente potencial de betalaínas. Las betalaínas son compuestos interesantes debido a su potencial uso como colorantes y sensibilizadores en celdas solares. En este trabajo, se presenta el modelado matemático del proceso de secado de pitaya de mayo por Infrarrojo a temperaturas de 40, 50, 60 y 70 °C. Se ajustaron nueve modelos matemáticos previamente reportados en la literatura para describir el proceso de secado a los datos experimentales, y se propone uno nuevo que según parámetros estadísticos se ajusta mejor. El efecto de la temperatura en la degradación de los diferentes tipos de betalaínas y en el color observado se determinó mediante espectroscopía UV-vis y colorimetría Hunter-Lab, respectivamente, encontrando que la temperatura óptima de secado correspondió a 60° C.

Introducción

Las pitayas de mayo (*Stenocereus griseus H.*) son el fruto de una especie de cactus originario del occidente de México, cuyo color varía de rojo, amarillo, anaranjado y rosa/violeta, debido al contenido de una familia de compuestos denominada betalaínas. En todos los casos, las betalaínas son derivados del ácido betalámico. Dependiendo de los sustituyentes en el nitrógeno del ácido betalámico, se agrupan en dos familias: a) Betaxantinas [Bx], con aminoácidos como sustituyentes (de color amarillo-naranja, $\lambda^{max} = 480\text{nm}$), y b) Betacianinas [Bc] con derivados del ciclo *DOPA* como sustituyente (rojo-violeta, $\lambda^{max} = 535\text{nm}$) y cuyas estructuras generales se presentan en la **Figura 1**.

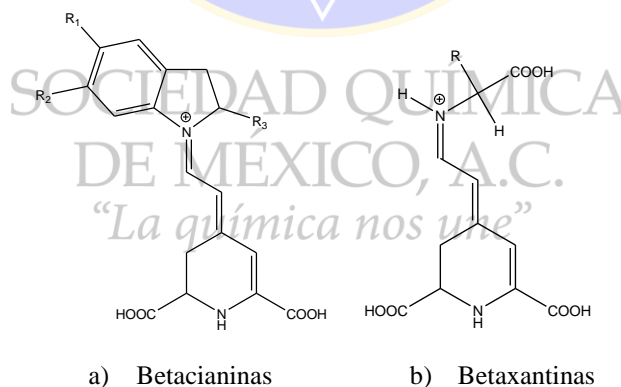


Figura 1. Estructura general de betacianinas y betaxantinas.

Debido a que este fruto se cosecha sólo de manera estacional, no es posible su aprovechamiento durante todo el año, especialmente si consideramos que se degradan al poco tiempo de cosecharse. De esta forma, su comercialización sólo se limita a las zonas donde se cultivan. Por tanto, el desarrollo de nuevas tecnologías que permita procesarlas para su aprovechamiento, resulta altamente atractivo. Un uso potencial, es su aprovechamiento como fuente natural de betalaínas las cuales se pueden usar como sensibilizadores de celdas solares dando muy buenos resultados, lo que resultaría en beneficios económicos a los pobladores que cosechan este tipo de frutos.¹

El secado es la eliminación de la mayoría del agua contenida en la fruta o verdura (a un nivel inferior a su actividad de agua). Varios métodos de secado están disponibles comercialmente y la selección del método óptimo está determinada por los requisitos de calidad, las características de la materia prima y los factores económicos. El calentamiento por infrarrojos ofrece muchas ventajas sobre el secado convencional en condiciones de secado similares. Estos pueden incluir un menor tiempo de secado, alta eficiencia energética, productos terminados de alta calidad, temperatura uniforme en el producto durante el secado y una menor necesidad de flujo de aire a través del producto.ⁱⁱ El secado por infrarrojos se ha investigado como un método potencial para obtener alimentos secos de alta calidad, que incluyen frutas, verduras y granos.ⁱⁱⁱ

Metodología experimental

Este trabajo se realizó en el laboratorio de investigación en química aplicada de la Unidad Académica de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Todos los reactivos y disolventes fueron de la marca Aldrich y se utilizaron sin purificación posterior. El secado de Pitayas rojas por IR se llevó a cabo en una . La caracterización por espectroscopía VV-vis se realizó con espectrofotómetro marca PerkinElmer, modelo Lambda XLS. El color se determinó mediante un colorímetro Hunter-Lab, marca colorimeters, modelo AMT506. Las pitayas se adquirieron de productores locales en el mercado municipal de Tabasco, Zac. durante el mes de mayo del 2018. El fruto se lavó, se peló y se obtuvieron muestras del mesocarpio en cubos de 1 cm de ancho con un peso de 1 g de la pulpa, y se introdujo en la termobalanza. Se registró el peso de la muestra a intervalos de 5min. El experimento se programó para que se detuviera automáticamente cuando la masa permaneció constante durante 5 min. Se realizaron experimentos a 40, 50, 60 y 70 °C.

Para describir el proceso de secado diez modelos matemáticos reportados previamente en la literatura y mostrados en la **Tabla 1** se ajustaron a los valores del contenido de humedad con respecto al tiempo. Adicionalmente, se propuso un nuevo modelo matemático, con el que se obtuvo un mejor ajuste para predecir los datos experimentales de la MR. Las constantes empíricas de los modelos se obtuvieron minimizando la sumatoria de los residuos al cuadrado entre la relación de humedad experimental y calculada ($\sum(MR_{exp} - MR_{cal})^2$). La minimización se llevó a cabo utilizando la herramienta Solver de la hoja de cálculo Excel® de Microsoft Office.

Tabla 1. Modelos matemáticos para el secado de frutas y verduras

No.	Nombre del Modelo	Modelo	Referencia
1	Newton o Lewis	$MR = e^{-kt}$	iv
2	Page	$MR = e^{-kt^n}$	v
3	Henderson and Pabis	$MR = a e^{-kt}$	vi
4	Two term	$MR = a e^{-k_0t} + b e^{k_1t}$	vii
5	Two term exponential	$MR = a e^{-kt} + (1 - a) e^{-kat}$	viii
6	Aproximation of diffusion	$MR = a e^{-kt} + (1 - a) e^{-kbt}$	ix
7	Verma et al	$MR = a e^{-kt} + (1 - a) e^{-gt}$	x
8	Logarithmic	$MR = a e^{-kt} + b$	xi
9	Midilli	$MR = a e^{-kt^n} + bt$	xii

Para el análisis por espectroscopia UV-vis en muestra fresca, la pieza se lavó con agua, se les cortó una rodaja en el centro longitudinal de tal forma que abarcara todo el mesocarpio y se homogenizó la pulpa, se tomó 0.5g de la pulpa homogenizada y se extrajeron las betalainas con 10 mL de una disolución 1:1 de agua-etanol con agitación vigorosa durante 5 min. Transcurrido ese tiempo, el extracto se filtró sobre una cama de tierras diatomeas y el filtrado y los lavados se diluyeron a 25 mL con agua destilada, para su análisis en un espectrofotómetro en todo el intervalo del ultravioleta y el visible. Para el caso de las muestras deshidratadas se pesó aproximadamente 0.01g de muestra, se extrajo con 4 ml de disolución agua:etanol 1:1 y se aforo a un volumen de 10 ml, posteriormente se filtró y se procedió al análisis por UV-vis. La concentración de las betalainas se realizó mediante el método propuesto por Nilsson, utilizando valores promedio para los coeficientes de absortividad molar y pesos moleculares: $\epsilon \approx 60,000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}$, y $PM \approx 550 \text{ g mol}^{-1}$ para las betacianinas, y $\epsilon \approx 48,000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}$, y $PM \approx 308 \text{ g mol}^{-1}$ para las betaxantinas.^{xiii}

Resultados y discusión

Los nueve modelos matemáticos para describir la variación de MR (humedad relativa) con respecto al tiempo, reportados previamente y que se muestran en la **Tabla 1**, así como un nuevo modelo empírico propuesto en este trabajo que se muestra en la **Ecuación 1**, se ajustaron a los valores experimentales de MR a cada temperatura de secado.

$$MR = n e^{-kt^{n+an}} - a$$

Ecuación 1

El mejor modelo se determinó a partir del valor de cuatro parámetros estadísticos: el coeficiente de correlación (R^2), la chi-cuadrada reducida (χ^2), la raíz cuadrada del error medio (RMSE) y el promedio del porcentaje del error relativo medio (%E_{medio}). Se ha establecido en la literatura que aun cuando el R^2 sea cercano a la unidad, no necesariamente implica que el modelo de regresión producirá predicciones precisas de observaciones futuras.^{xiv} En su lugar, un criterio generalmente aceptado es usar otros parámetros estadísticos: cuanto mayor sea el coeficiente de correlación y menores los valores de chi-cuadrada reducida, la raíz cuadrada del error medio y el porcentaje del error medio, se considera mejor el ajuste.

En la **Tabla 2** se muestran los parámetros estadísticos de los modelos matemáticos usados para describir el proceso de secado, en este caso fueron tres modelos: el propuesto por el grupo de investigación, el de Verma y col, y el de Midilli y col., cabe señalar que el propuesto por el grupo de investigación fue el que mejor se ajustó a los datos experimentales con una $R^2 = 0.9994$, $X^2 = 4.52 \times 10^{-5}$, una $P = 8.67$ y un $RMSE = 0.006$.

Tabla 2. Parámetros estadísticos de los modelos que mejor se ajustaron a la curva de secado

Modelo	T °C	R ²	X ²	P	RMSE
Propuesto	40	0.999518924	3.8273E-05	8.85255415	0.00611304
	50	0.999439556	4.8669E-05	6.48836891	0.00685636
	60	0.999103825	6.701E-05	10.4760471	0.00795531
	70	0.999660626	2.6753E-05	8.86881272	0.00501153
Promedio		0.999430733	4.5176E-05	8.67144571	0.00648406
Verma	40	0.997548448	0.00019315	57.5338376	0.01378715
	70	0.99875697	9.799E-05	33.6267538	0.00959118
Promedio		0.998152709	0.00014557	45.5802957	0.01168916

Midilli	50	0.999306554	6.0855E-05	23.687267	0.00761954
	60	0.99705783	0.00022421	46.7546	0.01439737
Promedio		0.998182192	0.00014253	35.2209335	0.01100845

Los espectros UV-vis a cada temperatura se presentan en la **Figura 2**. Se observa que la muestra fresca es la que presenta una mayor absorbancia a 490 y 535 nm en comparación a las muestras deshidratadas que también tuvieron sus máximos de absorbancia a estas longitudes de onda y que presentan espectros con una tendencia casi idéntica, sin embargo, es evidente que las absorbancias máximas para cada espectro son totalmente distintas, esto se demuestra mejor en la **Tabla 3**.

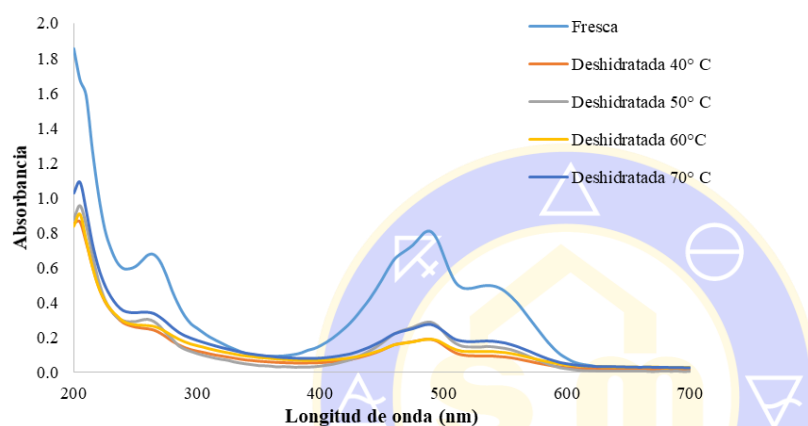


Figura 2. Espectros UV-vis de cada una de las muestras de pitaya roja, frescas y deshidratadas.

Para obtener una mejor interpretación de los datos obtenidos por UV-vis se procedió a calcular la concentración en mg/100 equivalentes a muestra fresca, con estos se hizo una serie de ajustes para que las concentraciones de las muestras deshidratadas se presentaran como equivalentes en muestra fresca. Para calcular las concentraciones se utilizó el método de Nilsson junto con la ecuación de Lambert-beer. Estos valores de concentración se muestran en la **Tabla 3**, como se observa, la muestra fresca presenta una mayor concentración de betalaínas con un total de 117.11 mg/100g de muestra, sin embargo, en muestra deshidratada, hubo una disminución en el contenido de betalaínas, pero al analizar los resultados la muestra deshidratada a 60° C es la que presenta una semejanza en el porcentaje de cada tipo de betalaínas comparando con la muestra fresca. Concluyendo con esto, que la muestra con menos degradación en el color fue la deshidratada a 60° C, mientras en a que hubo más degradación fue la deshidratada a 70° C, ya que hubo un aumento en la concentración de betaxantinas, lo cual puede deberse a la conversión termoquímica de betacianinas a betaxantinas.

Tabla 3. Concentración de betalaínas en pitaya roja fresca y deshidratada.

Muestra	λ	A	C (mg/100g fresca)
Fresca	490 nm	0.806	62.25
	535 nm	0.497	54.86
Deshidratada a 40° C	490 nm	0.188	28.56
	535 nm	0.093	14.11
Deshidratada a 50° C	490 nm	0.287	36.18
	535 nm	0.148	22.45
Deshidratada a 60° C	490 nm	0.189	19.96
	535 nm	0.119	18.10
Deshidratada a 70° C	490 nm	0.273	34.08
	535 nm	0.179	27.15

Ahora, interpretando los parámetros HunterLab reportados en la **Tabla 4**, y específicamente con la escala RGB (rojo, verde, azul) se observa que conforme aumenta la temperatura de secado, aumenta el % de rojo en la muestra, exceptuando esto en la muestra deshidratada a 70 °C, esto podría deberse a que al momento de que la muestra se encuentra a una temperatura tan elevada exista ya una degradación del color total. Sin embargo, tomando en cuenta los parámetros a y b, los cuales se relacionan con el color rojizo y amarillento, respectivamente, se observa que la muestra deshidratada a 60° C presentó colores más intensos tanto rojizos como amarillentos en comparación con las otras muestras. Lo anterior concuerda con los resultados de espectroscopia UV-vis de que la muestra deshidratada a 60° C presenta una mejor conservación del contenido de betalaínas.

Tabla 4. Color de pitaya roja en escala HunterLab

Muestra	L*	a*	b*	RGB	%RGB		
Deshidratada a 40° C	32.78	20.3	6.01	109 64 69	42.7	25.1	27.1
Deshidratada a 50° C	38	13.91	2.11	112 81 87	43.9	31.8	34.1
Deshidratada a 60° C	30.76	28.62	9.73	115 52 59	45.1	20.4	23.1
Deshidratada a 70° C	29.69	16.82	4.5	96 60 64	37.6	23.5	25.1

Conclusiones

Se estudió el efecto del secado por infrarrojo en muestras de pitaya roja, con lo que se determinó que la temperatura óptima para el secado de esta fruta es a 60° C, ya que hubo una menor degradación en la concentración de betalaínas y por lo tanto en el color. Además, se propuso un nuevo modelo matemático para describir la variación de humedad relativa mediante el proceso de secado, resultando que este modelo se ajusta mejor a los datos experimentales que los reportados previamente en la literatura, comprobándose con parámetros estadísticos.

Referencias

- I. Oprea, C. I.; Dumbravă, A., Enacheb, I., Georgescu, A., Girt, M. A.; *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 240, 5–13, 2012
- II. Sharma, G. P., Verma, R. C., Pathare, P. *Journal of Food Engineering*, 67, 361–366, 2005
- III. Zhu, K., Zou, J., Chu, Z., Li, X. *Heat Transfer-Asian Research*, 31(2), 141–147, 2002
- IV. Bruce, D.M.; *Journal of Agricultural Engineering Research*, 32, 337–347, 1985
- V. Page, G. E.; *Department of Mechanical Engineering*, 1949
- VI. Henderson, S. M., Pabis, S.; *Journal of Agricultural Engineering Research*, 6, 169–174, 1961
- VII. Henderson, S. M.; *Transactions of the ASAE*, 17, 1167–1168, 1974
- VIII. Sharaf, E. Y. I., Blaisdell, J. L., Hamdy, M. Y.; *Transactions of the ASAE*, 23, 5, 1261–1265, 1980
- IX. Yaldiz, O., Ertekin, C., Uzun, H.I.; *Energy*, 26, 457–564, 2001
- X. Verma, L.R., Bucklin, R.A., Endan, J. B., Wratten, F. T.; *Transactions of the ASAE*, 85, 296–301, 1985
- XI. Togrul, I. T., Pehlivan D.; *Journal of Food Engineering*, 55, 209–216, 2002
- XII. Midilli, A., Kucuk, H., Yapar, Z.; *Drying Technology*, 20, 7, 1503–1513, 2002
- XIII. Nilsson, T.; *Lantbrukshögskolans Annaler*, 36, 179-178, 1970
- XIV. Valderrama J.O., Campusano R.R.; *Uso y mal uso del coeficiente R2 en modelos de correlación y predicción*, 10o congreso Interamericano de computación Aplicada a la Industria de Procesos, ISBN: 978-84-8458-356-1, 2011

Determinación de glucosinolatos en tres cepas de hojas de moringa (*Moringa oleífera*), su eliminación y evaluación de toxicidad subcrónica por vía oral en ratones del material destoxificado

Bernardo Lucas Florentino^{1*}, Rosa N. García Villalobos^{1†} y Ruth Bustamante García²

¹ Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México

² Departamento de Biología, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México

* berlucas@unam.mx

Las hojas del árbol de moringa (*Moringa oleífera*), se proponen como complemento de la dieta en comunidades donde se presenta problema de desnutrición; sin embargo, este material biológico puede contener glucosinolatos (GL), considerados factores tóxicos; por lo que se realizó la determinación de éstos y aquel material arriba del límite máximo permitido (LMP) para GL, se procedió a su eliminación (destoxificación). Una vez contando con suficiente material destoxificado (< LMP para GL), se realizó el bioensayo de toxicidad subcrónica por vía oral en ratones, evaluándose parámetros de crecimiento corporal, hematológicos y de algunos órganos morfología e histología. Las 3 cepas de hojas resultaron con un nivel de GL arriba del LMP y con la evaluación toxicológica, se logró obtener NOELs preliminares.

Introducción

Desde un inicio el hombre ha sustentado una lucha continua por satisfacer sus necesidades alimenticias, actividad que seguirá siendo de las principales del presente y futuro. Actualmente todavía se presenta el problema de desnutrición en nuestro país, donde la desnutrición proteínico-energética sigue siendo un problema de salud pública, que afecta a la población de bajos recursos, particularmente a las comunidades rurales y en especial al sector infantil (1, 2). No obstante que México cuenta con una gran biodiversidad vegetal, hay muchas especies que están subvaloradas o subutilizadas, algunas con justa razón, por contener factores tóxicos naturales, que no permiten su utilización directa; sin embargo, con un adecuado proceso de eliminación o inactivación de estos factores tóxicos (destoxificación), se podrían proponer para alimentación animal y posiblemente como complemento en la dieta humana (1, 3-6).

Las hojas del árbol de moringa (*Moringa oleífera*), se han propuesto como complemento de la dieta en comunidades donde se presentan problemas de desnutrición, debido a su aporte de nutrientes, en especial de proteína; sin embargo, se menciona la presencia de isotiocianatos en esta familia de plantas; además, de un trabajo previo, se observó que su proteína tiene un pobre perfil de aminoácidos indispensables, observándose del bioensayo un pésimo desarrollo de los animales ensayados, con excepción del grupo control (2, 5-7).

El presente trabajo tiene la finalidad de cuantificar la concentración de glucosinolatos totales (TGL) en tres cepas de hojas de moringa en forma de harina que se cultivan en el país y de aquellas que su concentración este arriba del límite máximo permitido (LMP) se procederá a su eliminación (destoxificación). Contando con suficiente harina de moringa destoxificada (HMD) de las tres cepas, se desarrollará el bioensayo de toxicidad subcrónica por vía oral en ratones, donde se evaluarán parámetros de crecimiento corporal, hematológicos y de algunos órganos la valoración morfológica e histológica, para que una vez analizados éstos resultados, estar en la posibilidad de proponer el nivel donde no se observe efecto adverso (NOEL), del material biológico destoxificado (3-7).

Material y métodos

El material biológico fue obtenido de Puebla (P), Oaxaca (O) y Michoacán (M), donde se cultiva esta especie vegetal y de un estudio previo, mostraron un potencial alimenticio (2). Se desarrolló un método para la cuantificación de glucosinolatos y de aquel material arriba de 0.5% que es el LMP para TGL, se

procedió a su purificación (destoxificación) a nivel laboratorio y posteriormente a escala semi-piloto, con un seguimiento en la concentración de TGL en el material destoxificado, hasta obtener un nivel abajo del LMP, denominándose dicho material harina de moringa destoxificada (**HMD**) (3, 6, 7). A las 3 cepas de HMD, se les realizó la evaluación de toxicidad subcrónica por vía oral en ratones machos raza Hsd:ICR/CD-1, recomendados para estudios toxicológicos (8). Se ensayaron 50 ratones distribuyéndose de acuerdo a la **Tabla 1**.

Tabla 1. Lotes de animales formados en el bioensayo toxicológico

Grupo	Alimento proporcionado	% de HMD	Clave del grupo
Control	Pellets Tekland 2018S®	-----	CPT
		10.0	HMDP10
	Pellets con HMD de Puebla (HMDP)	20.0	HMDP20
Hojas de moringa destoxificada (HMD)		30.0	HMDP30
		10.0	HMDO10
	Pellets con HMD de Oaxaca (HMDO)	20.0	HMDO20
		30.0	HMDO30
		10.0	HMDM10
	Pellets de HMD de Michoacán (HMDM)	20.0	HMDM20
		30.0	HMDM30

® Marca registrada de Pellets especiales para alimentación de roedores de laboratorio ($\geq 18\%$ de proteína)

Como se observa de la **Tabla 1**, se ensayaron 10 grupos cada uno formado por 5 animales ($n = 5$), donde hay un control y tres dosificaciones de de HMD de cada una de las regiones obtenidas. Se suministró agua y alimento *ad libitum*, llevándose un control de peso individual y alimento consumido cada tercer día y durante todo el experimento se observaron detalladamente los animales, con el fin de aplicar el punto final humanitario sí era necesario (9). La noche previa al final del experimento que duro 28 días, se retiró el alimento y sólo se dejó agua (ayuno), para que el último día, una vez pesado los animales, se obtuviera por punción seno-orbital previa anestesia de los animales, aproximadamente 350 μL de sangre, con la finalidad de realizar el hemograma y la química sanguínea individual y a continuación se procedió con la eutanasia, para realizar la necropsia y obtener los siguientes órganos: hígado, riñones, corazón y pulmones, los cuales inmediatamente se pesaron para obtener la relación porcentual de éstos; además, se realizó el examen morfológico por personal especializado y los órganos se colocaron separadamente en frascos con formol amortiguado, para su posterior estudio histológico (8, 9).

Resultados y discusión

Como se mencionó de un estudio previo, las 3 cepas de hojas de moringa estudiadas en forma de harina, tienen un contenido apreciable de proteína ($\geq 20\%$) y también significativo de grasa ($> 6\%$) (2); por lo cual, una vez que se desarrolló y montó la metodología para determinar glucosinolatos totales (TGL), se tuvieron que desengrasar las harinas para realizar la cuantificación de TGL, resultando que estos factores tóxicos estuvieron arriba del LMR para TGL en las 3 cepas, como se puede observar de la **Tabla 2**; por lo cual, se procedió a su purificación, usando dos sistemas de extracción: metanol-agua 70% (v/v) y etanol-agua 80% (v/v) a 80 ± 2 °C por espacios de tiempos de 2 a 8 hrs., en sistemas Soxhlet con junta esmerilada 34/45 (7). Una vez obtenida la destoxificación a nivel laboratorio, se procedió a montar un dispositivo tipo Soxhlet para procesar aproximadamente 1½ kg de harina de moringa y llevar un seguimiento en la concentración residual de TGL en el material destoxificado.

Tabla 2. Concentración de TGL en material biológico en forma de harina^a

Procedencia	Hojas originales ^b	Hojas procesadas (HMD) ^b
Puebla	4.62 ± 0.035 (0.75)	0.10 ± 0.002 (2.00)
Oaxaca	4.56 ± 0.004 (0.09)	0.34 ± 0.004 (1.18)
Michoacán	4.61 ± 0.013 (0.28)	0.14 ± 0.006 (4.29)

^a Expresado en porcentaje (%), donde el LMP para TGL es de 0.5%

^b Valor promedio ± desviación estándar, determinación por triplicado (n = 3); entre paréntesis su CV

De la **Tabla 2** se observa que con el proceso aplicado a las 3 cepas de hojas de moringa, se logró el objetivo de tener un material biológico abajo del LMP para TGL y contando con suficiente HMD de las 3 procedencias, se desarrolló el bioensayo toxicológico subcrónico en ratones, del cual todos los animales finalizaron el estudio, ya que a ninguno se les aplico el punto final humanitario, como se puede observar de la **Figura 1**, donde se ve de izquierda a derecha: lote HMDO30 (ver Tabla 1) y el lote control. En la **Tabla 3**, se



Figura 1. Ratones ensayados al final del estudio

presentan los resultados de los parámetros de crecimiento de los animales del bioensayo, el cual arrojó un panorama final de la evaluación de toxicidad subcrónica por vía oral, ya que los demás parámetros hematológicos, morfológicos e histológicos evaluados, confirmaron los resultados aquí presentados.

Tabla 3. Parámetros de crecimiento del bioensayo subcrónico por vía oral

Clave (ver Tabla 1)	Incremento de peso (g) ^a	Alimento consumido (g) ^a	Eficiencia Alimenticia (%EA) ^b
CPT	17.38	125.94	13.80 ± 0.964 (6.98) ^A
HMDP10	17.24	138.36	12.46 ± 3.674 (29.49) ^A
HMDP20	14.60	146.88	9.94 ± 3.409 (34.29) ^A
HMDP30	15.16	154.77	9.79 ± 2.564 (26.19) ^B
HMDO10	18.34	125.88	14.57 ± 2.175 (14.93) ^A
HMDO20	17.16	135.92	12.62 ± 1.204 (9.54) ^A
HMDO30	18.66	158.00	11.81 ± 1.345 (11.39) ^A
HMDM10	17.98	133.38	13.48 ± 1.480 (10.98) ^A
HMDM20	15.24	126.84	12.01 ± 1.554 (12.94) ^A
HMDM30	15.84	142.13	11.14 ± 1.504 (13.50) ^B

^a Se presenta el valor promedio individual, obtenido durante el bioensayo toxicológico (28 días)

^b %EA = (incremento en peso/alimento consumido)X100. Se presenta el valor promedio ± desviación estándar (n = 5) y entre paréntesis su CV; además, letra diferente dentro de la columna indica diferencia estadística significativa (p ≤ 0.05)

Conclusiones

Se logró desarrollar un método para cuantificar TGL y las 3 cepas de hojas de moringa, presentaron un nivel de TGL arriba del LMP. Se purificó el material biológico tanto a nivel laboratorio como a escala semi-piloto y del bioensayo toxicológico, se lograron obtener los siguientes valores provisionales de NOEL: 17,728, 59,348 y 34,057 mg/kg pc.-día, para HMDP, HMDO, y HMDM respectivamente.

Bibliografía Mínima

Luisellí, C. 2017. *Agricultura y alimentación en México (evolución, desempeño y perspectivas)*. Editorial Siglo XXI editores-UNAM, CDMX

Pablo, D. 2017. *Evaluación nutritiva proteínico-energética de 3 cepas de hojas de moringa (*Moringa oleifera*) con potencial uso alimenticio que se cultivan en el país*. Tesis de Fac. de Química, UNAM, CDMX

Watson, D. 1987. *Natural toxicants in food (progress and prospects)*. Ellis Horwood, Chichester

Deshpande, S. 2002. *Handbook of food toxicology*. Marcel Dekker, Inc., New York

Thurber, M. and Fahey, J. 2009. *Adoption of *Moringa oleifera* to combat under-nutrition viewed through the lens of “differential innovation” theory*. Ecology of Food and Nutritional Journal. 48, 212-225

Tripathi, M. and Mishra, A. 2007. *Glucosinolates in animal nutrition. A review*. Animal Feed Science and Technology. 132, 1-27

Förster, N., Ulrichs, C., Schreiner, M., Carsten, T. and Inga, M. 2015. *Development of reliable extraction and quantification method for glucosinolates in *Moringa oleifera**. Food Chemistry. 166, 456-464

Derelanko, M. and Hollinger, M. 1995. *Handbook of toxicology*. CRC Press, Boca Raton, Fl.

National Academy of Sciences. 2002. *Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio*. National Academy Press, Washington, DC



SOCIEDAD QUÍMICA
DE MÉXICO, A.C.
“La química nos une”

Evaluación del tratamiento de rastrojo de maíz con enzimas fibrolíticas

Padilla-Herrera Braian, Morfín-Loyden Lilián, **Camacho- Morfín Deneb**, y Vicente-Andrés Panuncio.

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. morfinde@yahoo.com

Resumen

El rastrojo de maíz (RM) es un alimento importante en época de sequía, sin embargo presenta baja digestibilidad (D). Con objeto de evaluar dos complejos enzimáticos (CE) comerciales en RM para mejorar su D se trabajó con concentraciones de 0.015, 0.03, 0.045 % de cada uno y se compararon con respecto al RM seco y húmedo. El tiempo de exposición a los tratamientos fue de 48 h. y fueron evaluados tanto por características organolépticas como mediante la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS). Para el CE 1 los resultados fueron 48, 44 y 45 % de DIVMS y para el CE 2: 50, 50 y 49 % respectivamente. El RM presentó 49 y 52 % de DIVMS, seco y húmedo respectivamente. Se concluye que los complejos enzimáticos trabajados cambian las características organolépticas pero no mejoraron la DIVMS del RM.

Introducción

Los rastrojos son residuos de cosecha que se derivan de las actividades agrícolas, y se consideran como la porción del cultivo cosechado (hojas, tallos, espigas y brácteas de la mazorca) que queda después de extraer el grano (Shanahan *et al.*, 2010). Los rastrojos se obtienen de los cereales y está asociada directamente con la producción de grano, por lo que a medida que aumenta la producción de granos para se incrementa la disponibilidad de estos residuos. En México el maíz es el grano más importante desde el punto de vista alimentario, por la superficie sembrada y el volumen de producción (Reyes *et al.*, 2013).

El rastrojo de maíz se utiliza en la alimentación de ganado principalmente en los periodos de sequía (Reyes *et al.*, 2013), y se caracteriza por su bajo contenido de proteína cruda, así como alto contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina (Montañez *et al.*, 2015), las dos primeras las podría aprovechar el ganado, sin embargo, al estar lignificadas ocasionan baja digestibilidad del rastrojo, por lo cual se proponen tratamientos para aumentar la digestibilidad, como lo son los tratamientos con enzimas fibrolíticas (Vijay *et al.*, 2013). De ahí que el objetivo de este trabajo fue evaluar el tratamiento del rastrojo de maíz con dos productos comerciales con base en enzimas, con el fin de mejorar las características nutricionales del rastrojo de maíz.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en el laboratorio de Bromatología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la UNAM. Se utilizó rastrojo de maíz proveniente de una forrajera de Cuautitlán, Estado de México, el rastrojo se molió en un molino de martillos y posteriormente se almacenó en costales para su posterior utilización en los tratamientos. Por otro lado, se utilizaron dos complejos enzimáticos comerciales: el complejo 1, conformado por xilanasas, glucanasas, pectinasas y celulasa, y el complejo 2, por β -glucanasa y celulasa.

Se pesaron 18 charolas con 300 g de rastrojo de maíz, las cuales se distribuyeron al azar mediante un diseño factorial 2x3, dos complejos enzimáticos y tres concentraciones: 0.015 %, 0.03 % y 0.045%, con tres repeticiones. Las concentraciones utilizadas de los complejos enzimáticos se decidieron con base en las recomendaciones de la ficha técnica del complejo 1.

Cada concentración se diluyó en 300 ml de agua potable, la solución se asperjó en la charola correspondiente al tratamiento, cada rastrojo humedecido se homogeneizó y se depositó en bolsas de plástico individuales, se cerraron y se dejaron reposar por un periodo de 48 h a temperatura ambiente. Se utilizaron como testigos rastrojo de maíz tal cual y el segundo consistió en rastrojo de maíz humedecido con la misma cantidad de agua que los tratamientos, éste último se envasó en una bolsa de plástico durante

48 h.

Al término del tiempo de exposición, los tratamientos se vaciaron en charolas individuales para evaluar el olor, color y la consistencia del rastrojo tratado, después se secaron en una estufa a 60°C, para posteriormente moler en un molino de Wiley y envasar (Morfin, 2018).

A cada uno de los tratamientos con sus repeticiones se les determinó la humedad total, para calcular por diferencia el contenido de materia seca total (Morfin, 2018); asimismo, se les determinó la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) mediante la técnica de Tilley y Terry (Morfin, 2018).

Los datos de digestibilidad de los tratamientos se analizaron mediante un diseño al azar bajo un arreglo factorial 2x3 (dos complejos enzimáticos comerciales, tres concentraciones), esto con el fin de comparar diferencias entre cada tratamiento. El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza donde se incluyeron los testigos y una prueba de comparación de medias de Tukey y con alfa 0.05 (Daniel, 2007).

Los datos de digestibilidad se analizaron mediante un diseño aleatorio bajo un arreglo factorial 2 x 3. Todos los resultados de DIVMS fueron sometidos a un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias de Tukey y con alfa 0.05 (Daniel, 2007).

Resultados y discusión

En el cuadro 1 resalta que olor, color y textura, son similares entre las concentraciones utilizadas de los dos complejos enzimáticos comerciales para el tratamiento de rastrojo, pero difieren de los rastrojos sin tratamiento. Desde este punto de vista, los complejos enzimáticos a cualquiera de las concentraciones trabajadas actuaron en el rastrojo, lo cual concuerda con las recomendaciones del fabricante.

Cuadro 1. Características organolépticas en rastrojo de maíz tratado con dos complejos enzimáticos, a tres concentraciones con un tiempo de exposición de 48 h, en condiciones anaerobias y una relación agua – rastrojo 1:1

Complejo enzimático ^β								
	-	-	1	2	1	2	1	2
C	0	0	%		%		%	
	RS [£]	RH [¥]	0.015		0.03		0.045	
Olor	<i>Sui generis</i>	<i>Sui generis</i>	Dulce	Dulce	Dulce	Dulce	Dulce	Dulce
Color	Amarillo opaco	Amarillo opaco	Amarillo brillante	Amarillo brillante	Amarillo brillante	Amarillo brillante	Amarillo brillante	Amarillo brillante
Textura	Dura y áspera	Dura y áspera	Suave y porosa	Suave y porosa	Suave y porosa	Suave y porosa	Suave y porosa	Suave y porosa

C: Concentración £: Rastrojo seco ¥: Rastrojo húmedo

^β: 1: Complejo enzimático 1

2: Complejo enzimático 2.

En cuanto al olor dulce en los tratamientos con enzimas, si bien no se encontró información de esto cuando se tratan pajas con enzimas exógenas, Wang y Mc Allister (2001) sugieren que los olores dulces, se puede deber a la liberación de azúcares reductores por efecto del tratamiento de las enzimas. Debido a que ambos complejos coinciden en cuanto a estar formulados con celulasas y glucanasas y los rastrojos tienen alto contenido de celulosa se esperaría los azúcares reductores provinieran de la degradación de celulosa.

En el cuadro 2 resalta que el uso del complejo enzimático 1 no mejoró la digestibilidad, en ninguna de las concentraciones utilizadas, con respecto tanto al rastrojo seco como al rastrojo húmedo. Para el complejo enzimático 2, no hubo cambios por efecto del uso del mismo, con respecto al rastrojo original.

Los resultados no concuerdan con los datos obtenidos por Colombatto *et al.* (2003), Vijay *et al.* (2013) y López-Aguirre *et al.*, (2016) quienes encontraron que el uso de enzimas exógenas mejoró la digestibilidad de henos y pajas. Sin embargo, los resultados numéricos obtenidos en la digestibilidad *in vitro* de los tratamientos coinciden con los obtenidos por Vijay *et al.* (2013) cuando trataron rastrojo de maíz con complejos enzimáticos similares. En contraste se coincide con Romero *et al.* (2013) quienes señalan que el uso de enzimas fibrolíticas exógenas no mejoró la digestibilidad del heno de zacate Bermuda. El hecho de que la digestibilidad del rastrojo de maíz tratado con los complejos enzimáticos estudiados no incrementara se podría explicar porque con las concentraciones de las enzimas recomendadas por el fabricante, pueden competir por los sitios de unión y afectar la adherencia de los microorganismos ruminales y limitar la digestibilidad del rastrojo (Tirado *et al.*, 2015); así como también a la estructura de la pared celular (Vijay *et al.*, 2013).

Cuadro 2. Digestibilidad *in vitro* de la de la materia seca del rastrojo de maíz tratado con dos complejos enzimáticos comerciales a tres concentraciones.

Tratamiento	Concentración	DIVMS [£]	
		%	
1	0.015	48.13	±0.01 b
1	0.030	44.25	±0.81 c
1	0.045	43.68	±0.97 c
2	0.015	49.90	±2.81 ab
2	0.030	49.50	±0.43 ab
2	0.045	48.61	±0.61 ab
Rastrojo húmedo	-	49.08	±0.90 ab
Rastrojo seco	-	52.00	± 2.90 a

1: Complejo enzimático 1

2: Complejo enzimático 2

£: Letras distintas dentro de la columna señalan diferencias estadísticas.

Conclusiones

Los complejos enzimáticos comerciales utilizados para tratar el rastrojo de maíz tuvieron efecto en olor, color y textura, pero no se mejoraron la DIVMS.

Bibliografía

Colombatto D., Morgavi D. P., Furtado A. F. y Beauchemin K. A., 2003 Screening of exogenous enzymes for ruminant diets: Relationship between biochemical characteristics and *in vitro* ruminal degradation. J. of Anim. Sci. 81(10)2628-38.

Daniel W. W. 2007. Bioestadística. Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. México D.F. Limusa Wiley.

López-Aguirre D., Hernández-Meléndez J., Rojo R., Sánchez-Dávila F., López-Villalobos N., Abdel-Fattah Z. M. Salem, Martínez-González J.A., Vázquez-Armijo J. F. y Ruíz S. 2016. Effects of exogenous enzymes and application method on nutrient intake, digestibility and growth performance of Pelibuey lambs. SpringerPlus. 5:1399.

Montañez-Valdez J.H., Avellaneda-Cevallos C.E., Guerra-Medina J.A., Reyes-Gutiérrez M.M., Peña-Galeas L.M., Casanova-Ferrín L. M. y Herrera-Herrera R.C. 2015. Chemical composition and ruminal disappearance of maize stover treated with *Pleurotus djamor*. Life Sci J. 12 (2s)55-60

Morfin L.L. 2018. Bromatología. Manual de laboratorio. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.

Reyes M. L., Camacho V. T. C. y Guevara, H. F. 2013. Rastrojos: manejo, uso y mercado en el centro y sur de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Libro Técnico Núm. 7. Pabellón de Arteaga, Aguascalientes, México.

Romero J. J., Zárate M. A., Queiroz O. C. M., Hand J. H., Shin J. H., Stapes C. R., Brown W. F. y Adesogan A. T. 2013. Fibrolytic enzyme and ammonia application effects on the nutritive value, intake, and digestion kinetics of bermudagrass hay in beef cattle. J. Anim. Sci. 91(9) 4345-56.

Shanahan, F., Smith, D. H., Stanton, T. L. y Horn, B. E. 2010. Crop Residues for Livestock Feed. Crop series [en línea]. Collins, Colorado [Consulta: 24 de septiembre de 2017]. Colorado State University. Disponible en: <http://extension.oregonstate.edu/gilliam/sites/default/files/Crop_Residue_for_Livestock_Feed.pdf>.

Tirado-González D. N., Tirado-Estrada G. y Miranda Romero L. A. 2015. Sobre el efecto de enzimas fúngicas en la alimentación de rumiantes. Interciencia, 40(11)758-766.

Vijay B.T., Nagalakshmi D. y Srinivasa R. D. 2013. Development of Appropriate Fibrolytic Enzyme Combination for Maize Stover and Its Effect on Rumen Fermentation in Sheep. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 26(7)945-951.

SOCIEDAD QUÍMICA
DE MÉXICO, A.C.
“La química nos une”