



FRONTERA

Biotechnológica



Revista Digital del IPN, CIBA Tlaxcala - No. 22 mayo - agosto 2022

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE
NANOPARTÍCULAS DE ORO
UTILIZANDO SÍNTESIS VERDE
Y QUÍMICA EN PELÍCULAS DE
ALGINATO DE SODIO

EFFECTO DE LA
SACAROSA EN LA
SÍNTESIS DE CELULOSA
BACTERIANA POR
FERMENTACIÓN DE
KOMBUCHA EN TÉ
NEGRO (*CAMELLIA
SINENSIS*)

ANTIHIPERTENSIVOS
¿AHORA PÉPTIDOS?

BENEFICIOS Y PROPIEDADES DE LA
ZANAHORIA, PERO ¿MORADA?

COMPUESTOS
CURCUMINOIDES UNA POSIBLE
SOLUCIÓN NATURAL PARA
TRATAR EL CÁNCER



IPN

ARTURO REYES SANDOVAL
DIRECTOR GENERAL

JUAN MANUEL CANTÚ VÁZQUEZ
SECRETARIO GENERAL

LORENZO JAVIER REYES TRUJILLO
SECRETARIO ACADÉMICO

LAURA ARREOLA MENDOZA
SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

RICARDO MONTEERRUBIO LÓPEZ
SECRETARIO DE INNOVACIÓN E INTEGRACIÓN SOCIAL

ANA LILIA CORIA PÁEZ
SECRETARIO DE SERVICIOS EDUCATIVOS

JAVIER TAPIA SANTOYO
SECRETARIO DE ADMINISTRACIÓN

JOSÉ ALEJANDRO CAMACHO SÁNCHEZ
SECRETARIO EJECUTIVO DEL PATRONATO DE OBRAS E
INSTALACIONES

MARÍA DE LOS ANGELES JASSO CISNEROS
ABOGADO GENERAL

MODESTO CÁRDENAS GARCÍA
PRESIDENTE DEL DECANATO

CIBA IPN

DIANA VERÓNICA CORTÉS ESPINOSA
DIRECTORA DEL CIBA-IPN, TLAXCALA

MARÍA DEL CARMEN CRUZ LÓPEZ
SUBDIRECTORA ACADÉMICA DEL CIBA-IPN, TLAXCALA

ERIK OCARANZA SÁNCHEZ
SUBDIRECTOR DE VINCULACIÓN DEL CIBA-IPN, TLAXCALA

MIGUEL ÁNGEL PLASCENCIA ESPINOSA
SUBDIRECTOR DE INNOVACIÓN TECNOLÓGICA DEL CIBA-IPN, TLAXCALA

VÍCTOR ERIC LÓPEZ Y LÓPEZ
EDITOR EN JEFE

GONZALO PÉREZ ARAIZA
SOPORTE TÉCNICO

PEDRO RAMÍREZ CALVA
DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN FRONTERA BIOTECNOLÓGICA

ISMAEL SÁNCHEZ GONZÁLEZ
DESARROLLO WEB

LILIA ESPINDOLA RIVERA
COORDINADORA ADMINISTRATIVA

CONTENIDO

MENSAJE EDITORIAL 3

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE
NANOPARTÍCULAS DE ORO
UTILIZANDO SÍNTESIS VERDE Y
QUÍMICA EN PELÍCULAS DE ALGINATO
DE SODIO 4

EFFECTO DE LA SACAROSA EN LA
SÍNTESIS DE CELULOSA BACTERIANA
POR FERMENTACIÓN DE KOMBUCHA
EN TÉ NEGRO (*CAMELLIA SINENSIS*) 14

ANTIHIPERTENSIVOS
¿AHORA PÉPTIDOS? 21

COMPUESTOS CURCUMINOIDES
UNA POSIBLE SOLUCIÓN NATURAL
PARA TRATAR EL CÁNCER 27

BENEFICIOS Y PROPIEDADES DE LA
ZANAHORIA, PERO ¿MORADA? 33

CINTILLO LEGAL

FRONTERA BIOTECNOLÓGICA, año 10, número 22, mayo - agosto 2022, es una publicación cuatrimestral editada por el Instituto Politécnico Nacional a través del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac - Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, México. Tels.: 01-248-48707-65 y 66 Conmutador IPN: 57296000, Ext. 87816. <http://www.revistafronterabiotecnologica.cibatlaxcala.ipn.mx/>, Editor responsable: Dr. Víctor Eric López y López. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo del Título No. 04-2015-120313501700-203, ISSN: 2448-8461, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor (INDAUTOR). Responsable de la última actualización de este número, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Dr. Víctor Eric López y López., Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac - Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, fecha de última modificación, 24 de agosto de 2022.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización del Instituto Politécnico Nacional.

Agosto 2022

Mensaje Editorial

Estimados lectores, la ventaja de las vacunas que dicho sea de paso son un producto biotecnológico, nos han ayudado a superar con mucho merecimiento la quinta ola de contagios en México, si bien ha habido muchos contagios los decesos han sido considerablemente menos que aquellos cuando no teníamos la vacuna. Debemos de agradecer los adelantos científicos para el control de tan dura enfermedad ocasionada por el virus SARS-CoV-2.

En este número conoceremos información relacionada con alimentos. Por ejemplo, una idea interesante de cómo con la incorporación de nanopartículas de oro obtenidas por síntesis verde ayudan a mejorar diferentes propiedades de biopelículas biodegradables destinadas para la conservación de alimentos. Se abordarán las propiedades y aplicaciones de la Kombucha una membrana delgada biodegradable con una nanoestructura tridimensional única y compuesta por celulosa bacteriana obtenida de la fermentación del té negro. Sabremos que contamos con fuentes naturales ricas en proteínas, que con el procesamiento adecuado podrían ayudarnos a controlar la hipertensión arterial sin efectos secundarios dañinos, pues tales moléculas obtenidas son denominadas péptidos antihipertensivos. En el mismo sentido, nos ilustrarán de características y propiedades de compuestos llamados curcuminoides que son obtenidos de la planta Cúrcuma de todos conocidos y pueden tener efectos en enfermedades como el cáncer. Y por último... ¿Han consumido zanahoria morada? Pues conoceremos que este vegetal gracias a su contenido de antocianinas puede tener diversos beneficios a la salud y además aplicarlo como aditivo en el área de alimentos como remplazo de colorantes sintéticos.

De nueva cuenta no bajemos la guardia, aunque pareciera que la vida vuelve a la normalidad, sabemos por los años de pandemia que no tenemos la seguridad al 100 por ciento.

“La Técnica al Servicio de la Patria”

Dr. Víctor Eric López y López

Editor en Jefe

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO UTILIZANDO SÍNTESIS VERDE Y QUÍMICA EN PELÍCULAS DE ALGINATO DE SODIO

Vargas-Galina, Nuria Y.¹; Hernández-Cázares, A.S.¹; Real-Luna, N.¹; Rojas-López, M.³; Hidalgo-Contreras, J.V.¹; Ríos-Corripio, M.A.^{2*}

¹Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba – Veracruz km 348, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C.P. 94953.

²CONACYT- Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba – Veracruz km 348, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C.P. 94953.

³Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla km 1.5 Tlaxcala, México C.P. 90700.

RESUMEN

Se prepararon películas biodegradables a base de alginato de sodio y glicerol como plastificante, incorporando nanopartículas de oro a diferentes concentraciones (1, 5 y 10 % v/v), sintetizadas por el método químico y método verde a partir de citrato de sodio y un extracto acuoso de pulpa de café como agente reductor. Se caracterizaron las películas a base de alginato de sodio con el objetivo de evaluar el efecto de la adición de las nanopartículas por síntesis química y nanopartículas por síntesis verde sobre propiedades físicas, mecánicas, de barrera, estructurales y antioxidantes. La presencia de las nanopartículas por síntesis química y nanopartículas por síntesis verde sobre las películas a base de alginato de sodio produce un cambio sobre las propiedades físicas, mecánicas, de barrera y estructurales. Además, la adición de nanopartículas por síntesis verde dotó a las películas de actividad antioxidante y se observó un aumento directamente proporcional a la concentración de nanopartículas por síntesis verde adicionadas. Los resultados plantean el uso de las nanopartículas como una innovación prometedora ya que tienen el potencial de mejorar las propiedades de las películas a base de alginato de sodio para su aplicación como película activa en empaques de productos alimenticios.

Palabras clave: películas activas, AuNPs, pulpa de café, alginato de sodio, propiedades mecánicas.

ABSTRACT

Biodegradable films based on sodium alginate and glycerol as plasticizer were prepared, incorporating gold nanoparticles at different concentrations (1, 5 and 10% v/v), synthesized by the chemical method and the green method from sodium citrate and an aqueous extract of coffee pulp as a reducing agent. Films based on sodium alginate were characterized to evaluate the effect of the addition of nanoparticles by chemical synthesis and nanoparticles by green synthesis on physical, mechanical, barrier, structural and antioxidant properties. The presence of nanoparticles by chemical synthesis and nanoparticles by green synthesis on the sodium alginate-based films produces a change in the physical, mechanical, barrier and structural properties. In addition, the addition of nanoparticles by green synthesis provided the films with antioxidant activity and an increase directly proportional to the concentration of nanoparticles by green synthesis added was observed. The results suggest the use of nanoparticles as a promising innovation since they have the potential to improve the properties of sodium alginate-based films for their application as active film in food product packaging.

Keywords: active films, AuNPs, coffee pulp, sodium alginate, mechanical properties.

1. INTRODUCCIÓN

El empaque juega un papel importante en la conservación, distribución y comercialización de los productos alimenticios, algunas de sus funciones son proteger el producto de daños mecánicos, actividades físicas, químicas y microbiológicas; sin embargo, después que el alimento es consumido el empaque es desechado, al ser de plástico convencional que se obtiene a partir del petróleo tarda mucho tiempo en degradarse lo que genera acumulación y contaminación al ambiente. Como respuesta a esta problemática surgen los materiales biodegradables. Un ejemplo de ello son las películas biodegradables (PB) que son aquellos materiales que cuando son expuestos a condiciones determinadas de humedad, flora microbiana y oxígeno son transformados en sustancias sencillas (agua y CO₂) y biomasa. Las unidades estructurales de las que se componen se conocen como biopolímeros y se obtienen principalmente de materias primas renovables de origen animal, vegetal o microbiano y existen como polisacáridos (alginato, pectina, almidones) y proteínas (suero, caseína, colágeno o proteína hidrolizada). Entre los biopolímeros más utilizados se encuentra el alginato de sodio, una sal de ácido algínico que se extrae de algas pardas (Siddhesh y Edgar, 2011). Este biopolímero permite obtener películas con buena elasticidad, transparentes, buenas propiedades de barrera y baja permeabilidad a aceites y oxígeno (Oliveira et al., 2018). Una funcionalidad importante de las PB es su habilidad para incorporar ingredientes activos como antimicrobianos, antioxidantes, vitaminas, prebióticos y probióticos con el objetivo de mejorar propiedades específicas como cambiar las condiciones del alimento, extender la vida de anaquel, mejorar la seguridad microbiológica o las propiedades sensoriales, además de monitorear y ofrecer información acerca de la calidad durante el transporte y el almacenamiento (Puligundla et al., 2012), que las convierten en películas activas. Por otra parte, la evaluación de las propiedades mecánicas es importante porque envases frágiles son inapropiados para el correcto almacenamiento de alimentos. Pagno et al. (2015) menciona que la presencia de nanopartículas de plata produce una mejora en las propiedades mecánicas, ópticas y morfológicas, manteniendo las propiedades térmicas y de barrera sin cambios en comparación con la película estándar. Sin embargo, hasta donde sabemos, el desarrollo de películas a base de alginato de sodio (PC) incorporadas con nanopartículas de oro (AuNPs) no ha sido descrito previamente. Además, se ha encontrado que las AuNPs obtenidas por síntesis verde (AuNPsV) pueden poseer algunas de las ventajas y propiedades conferidas por moléculas orgánicas contenidas en los extractos químicos de las plantas tales como compuestos antioxidantes antiinflamatorios, antibacterianos, entre otras moléculas con actividad biológica (Katas et al., 2019). En este contexto la pulpa de café (*Coffea arabica*) contiene compuestos fenólicos y derivados como el ácido clorogénico, cafeico

y ferúlico (Keijok et al., 2019) que sirven como agentes reductores para la síntesis de AuNPs y, además se contribuye en la reducción de este residuo agroindustrial (Bonilla-Nepomuceno et al., 2021). La adición de estos nanomateriales convierte a estas películas a base de alginato de sodio en un sistema innovador para contribuir a la preservación de la calidad de los alimentos. Esta investigación tuvo como objetivo desarrollar PC, así como evaluar el efecto sobre propiedades físicas, mecánicas, de barrera, estructurales y antioxidantes por la adición de nanopartículas de oro por síntesis química (AuNPsQ) y AuNPsV.

2. CALIDAD DE PROTEÍNAS

2.1. Materiales

Para la elaboración de las PC se utilizó alginato de sodio grado alimenticio (Sigma, St. Louis MO, USA), glicerol como plastificante (Monarca Aditivos, México), cloruro de calcio como agente reticulante (Meyer, México). Para la síntesis de AuNPs se utilizó ácido tetracloroáurico (HAuCl₄) de Sigma Aldrich® (Toluca, México), citrato de sodio de Sigma Aldrich® (Toluca, México) y pulpa de café de Huatusco, Veracruz, México, como agentes reductores.

2.2. Síntesis química y verde de AuNPs

La obtención de AuNPsQ se llevó a cabo por el método de reducción química (Hermanson, 2008). Se añadió 0.5 mL de HAuCl₄ al 4% a 200 mL de agua destilada y la solución se llevó a ebullición en agitación constante. Una vez que la solución llegó a 97 °C, se agregó citrato de sodio al 1%. Después de 30 min, la reacción se completó y el color final de la solución fue rojo rubí, indicando la formación de las AuNPsQ. Después de enfriar la solución, las AuNPsQ se centrifugaron a 10,000 rpm durante 15 min, se eliminó el sobrenadante y las AuNPsQ se resuspendieron en 10 mL de agua destilada. La solución obtenida se almacenó en refrigeración a 4 °C hasta su uso.

La obtención de AuNPsV se realizó de acuerdo con la metodología establecida por Bonilla-Nepomuceno et al. (2021) siguiendo el método de oxidación-reducción, donde un extracto acuoso de pulpa de café (2 mg·mL⁻¹) sirvió como agente reductor. La reacción consistió en calentar 200 mL de solución (extracto de pulpa de café) con agitación constante hasta alcanzar una temperatura de 95 °C, se añadió 1 mL de HAuCl₄ al 4% y después de 20 min la solución alcanzó el color rojo rubí que indica la formación de las AuNPsV. El almacenamiento fue similar a las AuNPsQ.

2.3 Caracterización de las AuNPs por espectrofotometría UV/Visible

Para medir la resonancia de plasmón superficial de las AuNPsQ y AuNPsV se utilizó un espectrómetro Thermo Scientific™ Evolution 300, se midió a una longitud de onda

de 190 a 900 nm.

2.4. Preparación de PC adicionadas con AuNPsQ y AuNPsV.

La elaboración de la PC se realizó mediante el método de casting (Escobar et al., 2009). La solución formadora de película (SFP) se elaboró disolviendo alginato al 1% p/v en agua destilada a 70 °C, se dejó en agitación constante por 30 min, se añadió glicerol al 1.5% v/v y se mantuvo en agitación por 30 min más. Las AuNPsQ y AuNPsV se añadieron a la SFP a diferentes concentraciones (1%, 5% y 10% v/v) en agitación constante por 30 min. Una vez que la temperatura descendió a 35-40 °C se sometió a vacío durante 20 min para eliminar las burbujas atrapadas en la solución. La SFP se vertió en placas de Petri (35 mL) y se colocaron en un deshidratador (Excalibur 4900, España) a 41 °C durante 16 h. Una vez obtenidas las películas se añadió 3 mL de cloruro de calcio al 1% para su reticulación, dejando secar por 15 min. Seis tipos de películas fueron producidas (película a base de alginato de sodio (PC), PC con AuNPsQ 1% (PAuNPsQ1%), PC con AuNPsQ 5% (PAuNPsQ5%), PC con AuNPsQ 10% (PAuNPsQ10%), PC con AuNPsV 1% (PAuNPsV1%), PC con AuNPsV 5% (PAuNPsV5%), PC con AuNPsV 10% (PAuNPsV10%). Todas las películas fueron acondicionadas en un desecador a 53% de humedad relativa hasta su análisis.

2.5 Caracterización de las PC con y sin AuNPs

2.5.1. Espesor

El espesor se determinó con un micrómetro (Modelo 25, AMES, USA). Los valores promedio se calcularon utilizando 5 medidas para cada tipo de película en un punto diferente (mm).

2.5.2. Color

El color se determinó con un colorímetro CR-400 Minolta Croma Meter (Konika Minolta, Valencia, España). Las diferentes películas se evaluaron utilizando la escala de colores CIELab: L* = 0 (negro) a L* = 100 (blanco), -a* (verde), +a* (enrojecimiento), -b* (azul) y +b* (amarillo). Para la calibración del equipo se utilizó una placa blanca estándar.

2.5.3. Transparencia

La transparencia se midió con un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys™ 10uv Scanning, Alemania) a 600 nm (Han y Floros, 1997). Las películas se cortaron en trozos rectangulares (4 x 1 cm) y se colocaron directamente en una celda de prueba para su lectura en el espectrofotómetro. Las mediciones se realizaron tomando como blanco el aire y se calculó con la ecuación (1):

$$\text{Transparencia} = A_{600} / \delta \quad \text{Ec.1}$$

Donde: A₆₀₀ es la absorbancia y δ es el espesor de la película (mm).

2.5.4 Propiedades de barrera

2.5.4.1 Contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó con el método de Kurek et al. (2014). Se cortaron películas de 2 x 2 cm, se colocaron en charolas a peso constante, se pesaron y secaron en un horno durante 24 h a 105 °C. El contenido de humedad se determinó por la pérdida de peso de la película después del secado y se calculó con la ecuación (2):

$$\%CH = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 \quad \text{Ec. 2}$$

Donde: P_i es el peso inicial de la película, P_f es el peso de la película a peso constante.

2.5.4.2. Solubilidad en agua

La solubilidad se realizó en trozos de películas de 2 x 2 cm, secadas previamente en un horno a 105 °C a 24 h según el método establecido por Gontard et al. (1994), una vez obtenida la masa seca, las películas se sumergieron en 20 mL de agua destilada en agitación constante durante 24 h.

La solubilidad se expresó en porcentaje y se calculó con la siguiente ecuación (3):

$$\%S = \frac{S_i - S_f}{S_i} \times 100 \quad \text{Ec. 3}$$

Donde: S_i es el peso inicial de la película, S_f es el peso final de la película después de 24 h bajo agitación.

2.5.5. Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

La PVA se realizó en base el método gravimétrico estándar E96M-16 (ASTM, 2010). Para ello se utilizaron pesa filtros de 3 cm de diámetro (PYREX®); en los cuales se colocaron 3 g de CaCl_2 (Meyer, México, D.F.), y en la parte superior se colocó la película, que se sujetó con Parafilm. Los pesafiltros se colocaron dentro de un desecador que contenía una solución saturada de MgCl_2 (33% de HR) a 25 °C. El agua transferida a través de la película se determinó a partir de la ponderación de 0.1 mg más cercano usando una balanza analítica. El pesafiltro se pesó cada 24 h por 5 d. La PVA se determinó de acuerdo con la siguiente ecuación (4 y 5):

$$VTVA = \left(\frac{g}{\text{hm}^2} \right) = \frac{G/t}{A} \quad \text{Ec. 4}$$

$$PVA = \left(\frac{g \text{ mm}}{\text{kPa h m}^2} \right) = \frac{VTVA}{\Delta P} \times e \quad \text{Ec. 5}$$

Donde: G/t es la pendiente de la línea recta (ganancia de peso vs tiempo, g/h), A es el área de la película (área de la abertura de la celda, m^2), ΔP es la diferencia de presiones de vapor (kPa) entre el cloruro de sodio y el cloruro de calcio, e es el espesor de la película (mm).

2.5.6. Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas que se evaluaron fueron la fuerza tensil y elasticidad, según el método ASTM-D882 utilizando un texturómetro (Shimadzu EZ-S 500N, Japón). Las películas se cortaron en tiras rectangulares de 2 x 5 cm, se utilizó una separación inicial de 5 cm y una velocidad de 500 mm/min. La evaluación se realizó por triplicado.

2.5.7. Actividad antioxidante

Se evaluó la actividad antioxidante de la PC y PAuNPsV a diferentes concentraciones, se determinó con base al método 1,2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) descrito por Brand-Williams et al. (1995). Una muestra de 0.25 g de cada tipo de película se homogenizó con 10 mL de agua destilada en un vortex (Digital Vortex Mixer, USA), durante 10 s y se incubó durante 30 min a temperatura ambiente. Del extracto madre de la película se tomaron 0.25 mL y se aforó con 10 mL de agua destilada. De esta solución se tomó 1 mL, se mezcló con 3 mL de la solución DPPH (0.0039 g·100·mL⁻¹ de etanol), se agitó vigorosamente durante 10 s y se mantuvo en oscuridad por 30 min. Posteriormente, la mezcla se midió a 517 nm con un espectrofotómetro UV - Visible (Thermo Scientific, GENESYS 10S; Madison, Wisconsin, USA). La actividad antioxidante se calculó utilizando la ecuación (6):

$$I (\%) = \frac{1 - A_s}{A_c} \times 100 \quad \text{Ec. 6}$$

Donde: I es la inhibición (%), A_s representa la absorbancia de la muestra y A_c la absorbancia del blanco, disolución de muestra y agua sin DPPH.

2.5.8. Espectroscopia infrarroja

La caracterización estructural de los diferentes tipos de películas se determinó con un espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) (Bruker, Vertex; Billerica, Massachusetts, USA) por el método de muestreo Reflectancia Total Atenuada (ATR). Los espectros de cada tratamiento se obtuvieron por triplicado y se promediaron. Se utilizaron 64 barridos con una resolución de 4 cm^{-1} en la región espectral de 4000-400 cm^{-1} . Para el análisis de los espectros se utilizó el programa Origin 6.1 (OriginLab Corporation; Northampton, Massachusetts, USA).

2.6 Análisis estadístico

Los datos se sometieron a un análisis de varianza de una vía (ANOVA) utilizando el software estadístico SAS® (Statistical Analysis System, USA). La comparación de medias se realizó con la prueba Tukey a un nivel de significancia de $p \leq 0.05$. Los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de las AuNPs por espectrofotometría UV/Visible

La Figura 1 muestra los espectros UV / Visible de las AuNPs obtenidas por los dos tipos de agentes reductores (citrato de sodio y extracto de pulpa de café). La oscilación colectiva de electrones en los espectros incluye una banda única y fuerte (indicativo de forma esférica) a 518 nm para las AuNPsQ y en 526 nm para la AuNPsV. Siguiendo la metodología de Haiss et al. (2007) se determinaron tamaños de 15 nm (AuNPsQ) y 20 nm (AuNPsV). El espectro de las AuNPsV muestra además una banda en la región de 200-300 nm que es causada por la absorción de compuestos fenólicos específicamente flavonoides (Cala et al., 2007), la pulpa de café contiene flavonoides, ácidos fenólicos lo que indica que estos compuestos forman parte de las AuNPsV.

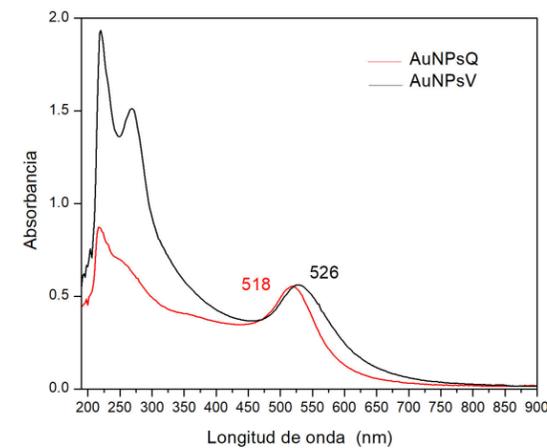


Figura 1. Espectro UV/Visible de AuNPsQ y AuNPsV

3.2 Obtención de PC adicionadas con AuNPsQ y AuNPsV

Las PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones se muestran en la Figura 2. En cuanto a su apariencia física para todas las películas su superficie fue uniforme sin presencia de poros o grietas. En cuanto al color, visualmente la PC era transparente, sin embargo, PAuNPsV y PAuNPsQ se tornaron de color rojizo y esto se observó en las concentraciones más altas de AuNPsQ y de AuNPsV. El

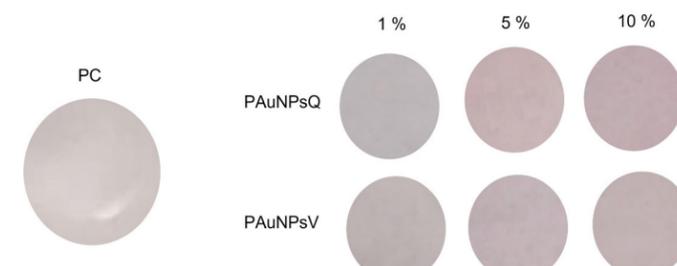


Figura 2. Apariencia de PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones de AuNPs.

color rojo es característico de las AuNPs de forma esférica y tamaño nanométrico de 10-20 nm lo que nos indica su presencia en la estructura de las películas.

3.3 Espesor

En cuanto al espesor la PC presentó un valor de 0.10 ± 0.00 mm, fue posible observar ese valor en todas las películas desarrolladas, lo cual no fue significativamente diferente ($p \leq 0.05$) por la adición de las AuNPsQ y AuNPsV a concentraciones de 1, 5 y 10 %, posiblemente esto se debe a que las AuNPs ocupan los espacios en la PC e interactúan con el alginato (Jafarzadeh et al., 2016); este resultado es mayor al reportado por Pagno et al. (2015) donde obtuvo películas de 0.08 mm de espesor para películas de quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) adicionadas al 2.5 y 5% de AuNPs. Sebti et al. (2007) menciona que el espesor depende de la naturaleza y composición de la película y en gran medida del método y las condiciones de secado en la que es elaborada.

3.4 Color y transparencia

Los resultados de las mediciones de color de PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones se presentan en el Cuadro 1. Se puede observar que el valor de L^* disminuye para PAuNPsQ 10% y PAuNPsV 10% donde se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto a PC. La disminución de este valor se presentó en las películas con mayor concentración de AuNPsV, obteniéndose los valores más bajos por lo que la adición de las AuNPs afecta el valor L^* haciendo las películas más oscuras. Las PAuNPsV 5% y PAuNPsV 10% mostraron los valores más altos en el parámetro a^* indicando un aumento en el enrojecimiento respecto a la PC. Pagno et al. (2015) obtuvieron valores similares para películas de quinoa con AuNPs mostrando que los parámetros de a^* más altos indican un color más rojizo característico de las AuNPs.

Cuadro 1. Valores de color de PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones de AuNPs.

Tratamiento	Color		
	L^*	a^*	b^*
PC	78.70 ± 0.41^{bc}	2.64 ± 0.02^e	2.49 ± 0.01^c
PAuNPsQ 1%	77.64 ± 0.41^c	2.58 ± 0.02^e	1.51 ± 0.01^d
PAuNPsQ 5%	79.80 ± 0.41^{ab}	4.74 ± 0.02^d	3.42 ± 0.01^a
PAuNPsQ 10%	75.60 ± 0.41^d	5.48 ± 0.02^c	2.59 ± 0.01^b
PAuNPsV 1%	80.6 ± 0.41^a	5.53 ± 0.02^c	2.54 ± 0.01^b
PAuNPsV 5%	78.37 ± 0.41^{bc}	7.10 ± 0.02^b	1.40 ± 0.01^e
PAuNPsV 10%	73.56 ± 0.41^e	7.49 ± 0.02^a	1.19 ± 0.01^f

Media \pm desviación estándar ($n=3$). Valores medios por columna con letra distinta son diferentes ($p \leq 0.05$, Tukey): DMS: $L^* = 1.51$, $a^* = 0.08$, $b^* = 0.04$. Película a base de alginato de sodio (PC), PC con AuNPsQ 1% (PAuNPsQ 1%), PC con AuNPsQ 5% (PAuNPsQ 5%), PC con AuNPsQ 10% (PAuNPsQ 10%), PC con AuNPsV 1% (PAuNPsV 1%), PC con AuNPsV 5% (PAuNPsV 5%), PC con AuNPsV 10% (PAuNPsV 10%).

Los valores de transparencia se muestran en la Figura 3. El valor de transparencia de PC presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto a la mayoría de los tratamientos. Los valores de transparencia aumentaron por la presencia de las AuNPs en PC. Por otro lado, hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre PAuNPsV a 5 y 10%. Valores bajos de transparencia se observaron en las películas con AuNPsQ respecto a las películas con PAuNPsV a 5 y 10%. Este efecto se atribuye a la dispersión de luz de las AuNPs (Aristizabal-Gil et al., 2019).

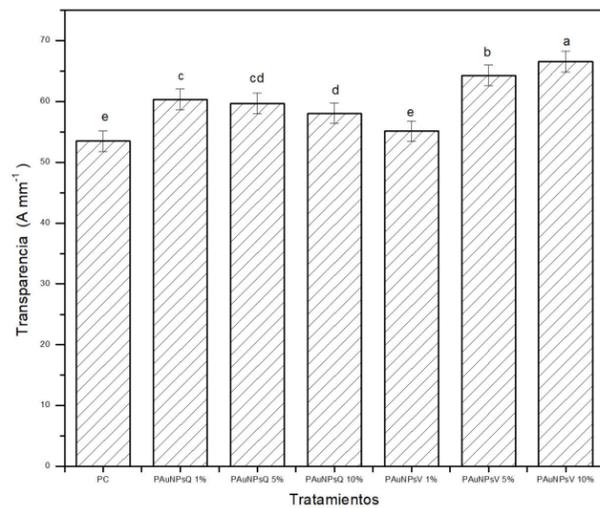


Figura 3. Transparencia de PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones de AuNPs. Media \pm desviación estándar ($n=3$). Valores medios por columna con letra distinta son diferentes ($p \leq 0.05$, Tukey): DMS: transparencia=0.02. Película a base de alginato de sodio (PC), PC con AuNPsQ 1% (PAuNPsQ1%), PC con AuNPsQ 5% (PAuNPsQ5%), PC con AuNPsQ 10% (PAuNPsQ10%), PC con AuNPsV 1% (PAuNPsV1%), PC con AuNPsV 5% (PAuNPsV5%), PC con AuNPsV 10% (PAuNPsV10%).

3.5 Propiedades de barrera

3.5.1 Contenido de humedad y solubilidad

Las propiedades de barrera en las PC juegan un papel importante para la conservación de los productos alimentación, además se utiliza para determinar el uso y aplicación de la película (Romani et al., 2018), en el Cuadro 2 se muestra el contenido de humedad y solubilidad.

Los valores de humedad se obtuvieron en un intervalo de 0.75 a 1.63 %, la PC presentó un valor de $1.27 \pm 0.02\%$, esto puede atribuirse a la presencia de grupos hidroxilos en el alginato, además presentó diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos. Por otro lado, se observó una reducción del contenido de humedad en PAuNPsQ y PAuNPsV al 5%, esto puede deberse a la interacción que existe entre el átomo de Au y grupos hidroxilo del alginato, lo que resulta en una red molecular más fuerte debido a los iones metálicos que interactúan con el alginato mejorando la estructura molecular y dando una mayor compactación en la matriz polimérica (Ramziia et al., 2017).

Cuadro 2. Contenido de humedad y solubilidad de PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones de AuNPs.

Tratamiento	Humedad (%)	Solubilidad (%)
PC	1.27 ± 0.02^c	100 ± 0.00^a
PAUNPSQ 1 %	1.24 ± 0.00^d	93.7 ± 0.00^b
PAUNPSQ 5 %	0.83 ± 0.00^f	90.6 ± 0.00^d
PAUNPSQ 10 %	1.47 ± 0.00^b	89.9 ± 0.00^e
PAUNPSV 1 %	1.63 ± 0.00^a	92.9 ± 0.00^c
PAUNPSV 5 %	0.75 ± 0.00^g	90.1 ± 0.00^e
PAUNPSV 10 %	1.08 ± 0.00^e	89.6 ± 0.00^f

Media \pm desviación estándar ($n=3$). Valores medios por columna con letra distinta son diferentes ($p \leq 0.05$, Tukey): DMS: humedad=0.02, solubilidad=0.27. Película a base de alginato de sodio (PC), PC con AuNPsQ 1% (PAuNPsQ 1%), PC con AuNPsQ 5% (PAuNPsQ 5%), PC con AuNPsQ 10% (PAuNPsQ 10%), PC con AuNPsV 1% (PAuNPsV 1%), PC con AuNPsV 5% (PAuNPsV 5%), PC con AuNPsV 10% (PAuNPsV 10%).

La solubilidad de los tratamientos se encontró en un intervalo de 93.7 a 89.6 %. Se observó que todos los tratamientos mostraron una disminución significativa ($p \leq 0.05$) en comparación con la PC con un valor de solubilidad del 100%, este efecto puede atribuirse a la ruptura entre los átomos de Ca^{2+} y las moléculas del alginato, mientras que en las PC con la adición de AuNPsQ y AuNPsV como se mencionó anteriormente presentaron menor solubilidad siendo la PAuNPsV 10% la que presentó el menor valor 89.6%, como se mencionó anteriormente, la presencia de las AuNPs en las PC genera una red polimérica más compacta que se ve reflejado en una disminución de la solubilidad. Estos resultados coinciden con lo reportado por Aristizabal-Gil et al. (2019) en el cual a medida que se incrementaba la concentración de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) se disminuía el valor de humedad, obteniendo valores de 75-78%.

3.5.2 Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

El deterioro de los alimentos se ve influenciado por el contenido de humedad presente en ellos, es por esto por lo que se sugieren valores bajos de PVA en PC. Los valores de PVA de PC, PAuNPsQ y PAuNPsV se muestran en la Figura 4. La PVA de PC fue de $0.0376 \text{ g mm/kPa h m}^2$ y se redujo a $0.0314 \text{ g mm/kPa h m}^2$ para PAuNPsQ 5% que fue el menor valor reportado. Se encontró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre el valor PVA de la PC y PAuNPsV 5%. Por otro lado, PAuNPsQ 1% y 10%, y PAuNPsV al 1 y 10% no presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$), estos resultados coinciden con lo reportado por Wu et al. (2019) en películas aisladas de proteína de soya con nanopartículas de ZnO; y Ahmadi et al. (2021) en películas de gelatina y nanofibras de celulosa con nanopartículas de ZnO y Se, lo cual puede deberse a la disminución de la disponibilidad de grupos hidroxilo por la presencia de la AuNPs.

Filho et al. (2019) menciona que, al incorporar nanomateriales a una PB, existe una reducción en los sitios de la reticulación provocando la disminución de volumen libre, como consecuencia disminución de PVA. Solano-Doblado et al. (2018) refieren que la PVA depende de la porción hidrofóbica, en este caso del alginato de sodio, sin embargo, al adicionar las AuNPs existe una reticulación por iones metálicos, esta permite la formación de redes insolubles y reduce la PVA, además es posible que la presencia de iones Ca^{2+} tenga un efecto de reticulación más fuerte (Liling et al., 2016; Aristizabal-Gil et al., 2019).

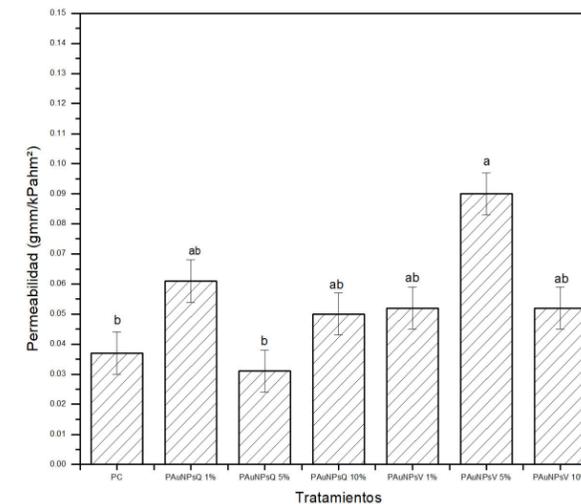


Figura 4. Permeabilidad de las PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones de AuNPs.

Media \pm desviación estándar ($n=3$). Valores medios por columna con letra distinta son diferentes ($p \leq 0.05$, Tukey): DMS: permeabilidad=0.05. Película a base de alginato de sodio (PC), PC con AuNPsQ 1% (PAuNPsQ1%), PC con AuNPsQ 5% (PAuNPsQ5%), PC con AuNPsQ 10% (PAuNPsQ10%), PC con AuNPsV 1% (PAuNPsV1%), PC con AuNPsV 5% (PAuNPsV5%), PC con AuNPsV 10% (PAuNPsV10%).

3.6 Propiedades mecánicas

La fuerza tensil y elasticidad son valores importantes debido a que por medio de estos se puede evaluar la capacidad de mantener la integridad del producto frente a factores ambientales relacionados con la aplicación del empaque y el transporte (Kumar et al., 2018; Hanani et al., 2019). La fuerza tensil y elasticidad se muestran en la Figura 5. La fuerza tensil (Figura 5a) de la PC tuvo un valor de $3.84 \pm 0.01 \text{ N/mm}^2$. La adición de las AuNPsV trajo un aumento de este valor en PAuNPsV 10% con un valor de $3.88 \pm 0.01 \text{ N/mm}^2$, esto puede deberse a que estas AuNPsV presentan mayor tamaño que las AuNPsQ. Valores similares fueron reportados por Aristizabal-Gil et al. (2019) y Pagno et al. (2015).

Por otro se pudo observar un efecto inverso respecto a los resultados de fuerza tensil. Los valores de elasticidad para las PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones se muestran en la Figura 5 (b). La adición de AuNPsQ y AuNPsV a las PC trajo una disminución en la elasticidad. La PC tuvo

un valor inicial de elasticidad de $18.04 \pm 0.42\%$, donde se observó diferencias significativas ($p \leq 0.05$) respecto a los tratamientos. El menor valor de elasticidad se presentó en PAuNPsV 1%, esto se relaciona con la presencia de iones metálicos formando uniones más fuertes en los enlaces, esto genera que la elasticidad disminuya (Alinaqi et al., 2021).

3.7 Actividad antioxidante

Los radicales de DPPH se utilizan para confirmar la presencia de actividad antioxidante, formando un radical libre estable que permita la donación de electrones para neutralizar estructura del anillo (Cuvelier et al., 1992). En la Figura 6 se presentan los valores de actividad antioxidante para PC y PAuNPsV a diferentes concentraciones. El valor de la actividad antioxidante de la PC mostro diferencias significativas ($p \leq 0.05$) respecto a los tratamientos. La PC no presento actividad antioxidante debido a que en su composición no se encuentran componentes que pudieran otorgarle esta actividad. Sin embargo, la adición de las AuNPsV a la PC trajo consigo la presencia de actividad antioxidante, esta propiedad de las AuNPsV esta otorgada por los ácidos hidroxixinámicos (ácido clorogénico, cafeico y ferúlico) presente en el extracto de pulpa de café (Duangjai et al., 2016); lo que permitió que las PAuNPsV mostraran actividad antioxidante, obteniendo valores de 31.67 ± 0.14 a $51.62 \pm 0.12\%$ de inhibición DPPH, creciendo conforme se aumentó la concentración de AuNPsV; sin embargo, las AuNPsQ debido a su naturaleza no presentan actividad antioxidante (datos no mostrados).

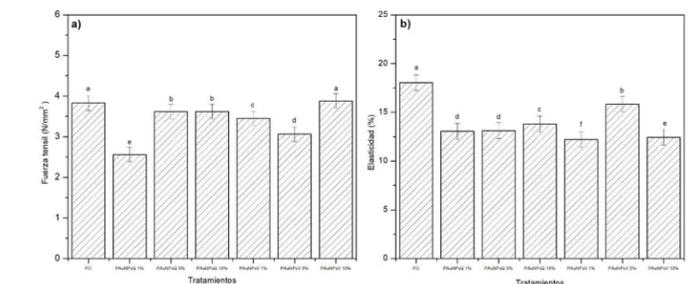


Figura 5. Fuerza tensil (a) y elasticidad (b) de PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones de AuNPs.

Media \pm desviación estándar ($n=3$). Valores medios por columna con letra distinta son diferentes ($p \leq 0.05$, Tukey): DMS: fuerza tensil=0.05, elasticidad=0.12. Película a base de alginato de sodio (PC), PC con AuNPsQ 1% (PAuNPsQ1%), PC con AuNPsQ 5% (PAuNPsQ5%), PC con AuNPsQ 10% (PAuNPsQ10%), PC con AuNPsV 1% (PAuNPsV1%), PC con AuNPsV 5% (PAuNPsV5%), PC con AuNPsV 10% (PAuNPsV10%).

3.8 Espectroscopia infrarroja

En la Figura 7 se presentan los espectros FTIR de las PAuNPsQ y PAuNPsV, así como los componentes utilizados para su formación. En la Figura 7 (A) y (B) el espectro de alginato presenta bandas de absorción relacionadas a la

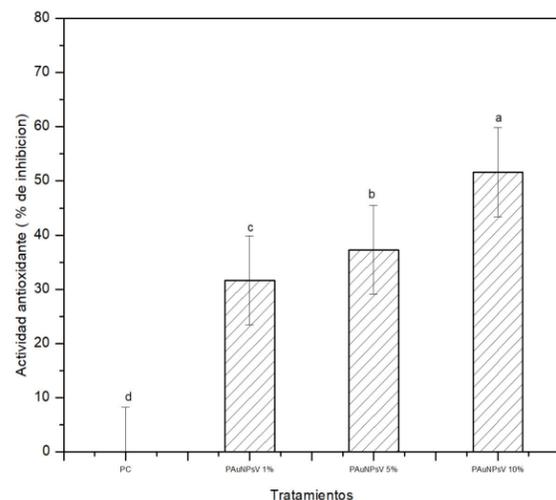


Figura 6. Actividad antioxidante de PC y PAuNPsV a diferentes concentraciones de AuNPs. Media \pm desviación estándar ($n=3$). Valores medios por columna con letra distinta son diferentes ($p \leq 0.05$, Tukey): DMS: actividad antioxidante = 0.59. Película a base de alginato de sodio (PC), PC con AuNPsQ 1% (PAuNPsQ1%), PC con AuNPsQ 5% (PAuNPsQ5%), PC con AuNPsQ 10% (PAuNPsQ10%), PC con AuNPsV 1% (PAuNPsV1%), PC con AuNPsV 5% (PAuNPsV5%), PC con AuNPsV 10% (PAuNPsV10%).

presencia de enlaces C=O, C-O-C, COOH. En las bandas 1597 y 1410 cm^{-1} , se observa un enlace doble C=O del grupo carboxilato. De igual forma, en 1300 cm^{-1} se evidencian los enlaces simples entre carbono e hidrogeno C-H y a 1123 cm^{-1} los enlaces C-C. El enlace C-O-C se observa en el pico de 1084 cm^{-1} y en el pico de 948 cm^{-1} se evidencia el tipo de enlace C-O (Coates, 2000). En la Figura 7 (A) y (B) el espectro del glicerol presento bandas características asociadas a grupos funcionales C-C en 850-995 cm^{-1} , C-O en 1038 cm^{-1} y 1110 cm^{-1} . En la Figura 7 (A) y (B) el espectro de las AuNPs presento 2 bandas características en 1589 y 1403 cm^{-1} relacionada con los enlaces CH₂-O y C=O. En la Figura 7 (A) y (B) la PC presentó bandas intensas asociadas a alginato y glicerol, lo que nos indica la presencia de estos compuestos en la estructura de la PC. En la Figura 7 (A) se presentan los espectros de las PAuNPsQ a diferentes concentraciones, se observa que estos espectros presentan similitud de línea base con PC, sin embargo, la adición de las AuNPsQ trajo un desplazamiento en la banda en 1589 cm^{-1} banda característica de las AuNPs, este desplazamiento pudiera estar asociado a la interacción entre los componentes (alginato, glicerol) de la PC y las AuNPsQ presentes en PAuNPsQ generando nuevos cambios estructurales en la matriz polimérica de PC, este mismo resultado se evidencio en la Figura 7 (B) para las PAuNPsV a diferentes concentraciones. Este efecto puede derivar en cambios estructurales, lo cual puede contribuir a controlar las propiedades mecánicas y de barrera.

CONCLUSIONES

Los resultados mostraron que es posible obtener películas a

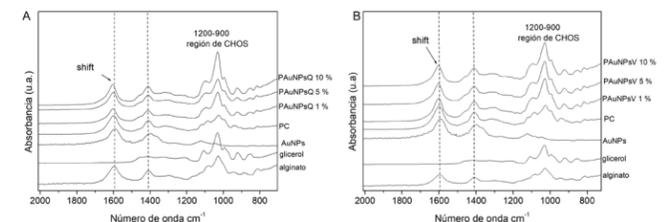


Figura 7. Espectros FTIR de alginato, glicerol, AuNPs, PAuNPsQ 1%, PAuNPsQ 5%, PAuNPsQ 10% (A), espectros FTIR de alginato, glicerol, AuNPs, PAuNPsV 1%, PAuNPsV 5%, PAuNPsV 10% (B) en la región de 2000-700 cm^{-1} .

base de alginato adicionadas con nanopartículas de oro. Por otro lado, la adición de nanopartículas de oro por síntesis química y verde modifica las propiedades físicas, mecánicas, de barrera, antioxidantes y estructurales de las películas a base de alginato. Presencia de actividad antioxidante proporciona una mejor protección química en el empaque. Por lo que, se concluye que las nanopartículas de oro son una innovación prometedora para el desarrollo de películas activas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada (N° 956160) y al Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba, Veracruz por el apoyo brindado para el desarrollo y financiamiento de la presente investigación.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores han declarado no tener ningún conflicto de intereses para este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ahmadi A, Ahmadi P, Alizadeh M S, Ehsani A, Ghanbarzadeh B (2021) Functional biocompatible nanocomposite films consisting of selenium and zinc oxide nanoparticles embedded in gelatin/cellulose nanofiber matrices. *Int. J. Biol. Macromol.* 175 (1): 87-97.
- Alinaqi Z, Kezri A, Razaenia H (2021) Sustained release modeling of clove essential oil from the structure of starch-based bio-nanocomposite film reinforced by electrosprayed zein nanoparticles. *Int. J. Biol. Macromol.* 173 (15):193-202.
- Aristizabal-Gil M V, Santiago-Toro S, Sanchez L T, Pinzon M I, Gutierrez J A, Villa C C (2019) ZnO and ZnO/CaO nanoparticles in alginate films. Synthesis, mechanical characterization, barrier properties and release kinetics. *LTW.* 112: 108217.
- ASTM (2010) E96M-16 Standard test methods for water vapor transmission of materials (ASTM Inter). ASTM International. Available from <http://www.astm.org/cgi-bin/resolver.cgi?E96E96M-16>.
- ASTM (2018) D882-18 Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting (ASTM Inter). ASTM International. Available from <https://www.astm.org/search/fullsite-search.html?query=d882&>

Bonilla-Nepomuceno G, Gómez-Merino FC, Arcila-Lozano LS, Rojas-López M, Ríos-Corripio MA, Méndez-Rojas MA and Hernández-Cazares AS (2021) Analysis by response surface methodology of gold nanoparticles obtained by green chemical reduction using aqueous coffee pulp extract (*Coffea arabica*). *Can. J. Chem.* 99(6): 519-530.

Brand-Williams W, Cuvelier M E, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Technol.* 28: 25-30.

Cala, M M, Vásquez C A, Martínez M J R, Stashenko E E (2007) Caracterización de compuestos fenólicos por electroforesis capilar de la especie *Phyllanthus acuminatus* (Euphorbiaceae) y estudio de su actividad antioxidante. *Scientia et Technica UTP.* 33: 173-175.

Cuvelier, M E, Richard H, Berset C (1992) Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: Structure-activity relationship. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 56 (2):324-325.

Duangjai A, Suphrom N, Wungrath, J, Ontawong, A, Nuengchamng N, Yosboonruang A (2016) Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integr. Medicina Res.* 4:324-331.

Escobar, D, Sala A, Silvera C, Harispe R, Márquez R (2009) Películas biodegradables y comestibles desarrolladas en base a aislado de proteínas de suero lácteo: estudio de dos métodos de elaboración y del uso de sorbato de potasio como conservador. *Innotec.* 4: 33-36.

Filho, de O J G, Rodrigues J M, Valadares A C F, Almeida de A B, Lima de T M, Takeuchi K P, Alves C C F, Sousa de F H A, Silva da E R, Dyszy F H, Egea M B (2019) Active food packaging: Alginate films with cottonseed protein hydrolysates. *Food Hydrocoll.* 92: 267-275.

Gontard N, Duchez C, Cuq J-L, Guilbert S (1994) Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *Int. J. Food Sci.* 29 (1): 39-50.

Haiss, W, Thanh N T K, Aveyard J, Fernig D G (2007) Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV-Vis Spectra. *Anal. Chem.* 79 (11): 4215-4221.

Hanani, Z A N, Cheng F Y, Nor-Khaizura M A R (2019) Effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel powder on the antioxidant and antimicrobial properties of fish gelatin films as active packaging. *Food Hydrocolloids.* 89: 253-259.

Han, J H, Floros DJ (1997) Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Plast. Film Sheeting.* 13(4): 287-298.

Hermanson G T (2008) Bioconjugate techniques. Academic Press Inc, San Diego. 2nd (Ed). (i.e., 1323 p.).

Jafarzadeh S, Karim A A, Ariffin F, Mahmud S y Najafi A (2016) Preparation and characterization of bionanocomposite films reinforced with nano kaolin. *J. Food Sci. Technol.* 53:1111-1119.

Katas H, Lim C S, Azlan A Y H N, Buang F, Busra M F M (2019)

Antibacterial activity of biosynthesized gold nanoparticles using biomolecules from *Lignosus rhinocerotis* and chitosan. *Saudi Pharm J.* 27 (2) 283-292.

Keijok WJ, Pereira R H A, Alvarez L A C, Prado A R, da Silva A R, Ribeiro J, Oliveira J P, Guimarães M C C (2019) Controlled biosynthesis of gold nanoparticles with *Coffea arabica* using factorial design. *Sci Rep.* 9:16019.

Kumar S, Shukla A, Pratim P B, Mitra A, Halder D (2018). Biodegradable hybrid nanocomposites of chitosan/gelatin and silver nanoparticles for active food packaging applications. *Food Packag. Shelf Life.* 16: 178-184.

Kurek M, Galus S, Debeaufort F (2014) Surface, mechanical and barrier properties of bio-based composite films based on chitosan and whey protein. *Food Packag. Shelf Life.* 1(1): 56-67.

Liling G, Di Z, Jiachao X, Xin G, Xiaoting F, Qing Z (2016) Effects of ionic crosslinking on physical and mechanical properties of alginate mulching films. *Carbohydr. Polym.* 136 (20): 259-265.

Oliveira, de N G C, Rodríguez L F P, Castro M P A, Giannetti B F and Villas C M, B de A (2018) A framework of actions for strong sustainability. *J. Clean. Prod.* 196: 1629-1643.

Pagno, C H, Costa T M H, de Menezes E W, Benvenuti E V, Hertz P F, Mate C. R, Tosati J V, Monteiro A. R, Ríos A.O, Flores S.H (2015) Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. *Food Chem.* 173: 755-762.

Puligundla P, Jung J, Ko S (2012) Carbon dioxide sensors for intelligent food packaging applications. *Food Control.* 25 (1): 328-333.

Ramziia S, Ma H, Yao Y, Wei K, Huang Y (2017) Enhanced antioxidant activity of fish gelatin-chitosan edible films incorporated with procyanidin. *Journal of Applied Polymer Science.* 135: 45781.

Romani, P V, Hernández C P, Martins V G (2018) Pink pepper phenolic compounds incorporation in starch/protein blends and its potential to inhibit apple browning. *Food Packag. Shelf Life.* 15: 151-158.

Sebti I, Chollet E, Degraeve P, Noel C, Peyrol E (2007) Water sensitivity, antimicrobial, and physicochemical analyses of edible films based on HPMC and/or chitosan. *J. Agric. Food Chem.* 55(3):693-699

Siddhesh N P, Edgar K J (2011) Chemical modification of alginates in organic solvent systems. *Biomacromolecules.* 12 (11): 4095-4103

Solano-Doblado L G, Alamilla-Beltrán L, Jiménez-Martínez C (2018) Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *TIP Rev. Esp. Cienc. Quím. Biol.* 21(2): 30-42.

Wu J, Sun Q, Huang H, Duan Y, Xiao G, Le T (2019) Enhanced physico-mechanical, barrier and antifungal properties of soy protein isolate film by incorporating both plant-sourced cinnamaldehyde and facile synthesized zinc oxide nanosheets. *Colloids Surf. B: Biointerfaces.* 180 (1): 31-38.

Finnigan T, Needham L, Abbott C (2017) Mycoprotein: A healthy new protein with a low environmental impact. In: Sustainable Protein Sources. Academic Press. 305-325 pp.

Fritz RD, Chen Y (2018) Oat safety for celiac disease patients: theoretical analysis correlates adverse symptoms in clinical studies to contaminated study oats. *Nutr. Res.* 60:54-67.

Garibaldi LA, Andersson G, Fernández FC, Pérez-Méndez N (2018) Seguridad alimentaria, medio ambiente y nuestros hábitos de consumo. *Rev. Asoc. Argent. Ecol.* 3: 572-580.

Giavasis I, Seviour RJ, Hudman P, McNeil B (2019) Fungal bioproducts for use in food: polysaccharides, organic acids, and mycoprotein. In *advances in food bioproducts and bioprocessing technologies*. 512-536 pp.

Gorissen SH, Crombag JJ, Senden JM, Waterval WA, Bierau J, Verdijk LB, van Loon LJC (2018) Protein content and amino acid composition of commercially available plant-based protein isolates. *Amino Acids*. 50: 1685-1695.

Gutiérrez C, Lares M, Sandoval J, Hernández MS (2020) Aminoácidos de cadena ramificada: implicaciones en la salud. *Rev. Digital Postgrado*. 9(2).

Hashempour-Baltork F, Khosravi-Darani K, Hosseini H, Farshi P, Reihani SF (2020) Mycoproteins as safe meat substitutes. *J. Clean. Prod.* 253: 119958.

Hernández C, L, Olvera TF, Luna FV, Sánchez C (2020) Diseño y determinación del valor nutritivo de una formulación de un alimento enriquecido con *Sphenarium purpurascens*. *Educatconciencia*. 25: 57-69.

Hocquette J, Chriki S, Tourre L (2020) The myth of cultured meat: a review. *Front. Nutr.* 7:7.

Huang S, Wang LM, Sivendiran T, Bohrer BM (2017) Review: Amino acid concentration of high protein food products and an overview of the current methods used to determine protein quality. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 58(15): 2673-2678.

Hughes GJ, Ryan DJ, Mukherjee R, Schasteen CS (2011) Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores (PDCAAS) for Soy Protein Isolates and Concentrate: Criteria for Evaluation. *J. Agric. Food. Chem.* 59:12707-12712.

Ibarra-Herrera CC, Acosta-Estrada B, Chuck-Hernández C, Serrano-Sandoval SN, Guardado-Félix D, Pérez-Carrillo E (2020) Nutritional content of edible grasshopper (*Sphenarium purpurascens*) fed on alfalfa (*Medicago sativa*) and maize (*Zea mays*). *CyTA. J. Food.* 18: 257-263.

Jiang ZQ, Sontag-Strohm T, Salovaara H, Sibakov J, Kanerva P, Loponen J (2015) Oat protein solubility and emulsion properties improved by enzymatic deamidation. *J. Cereal. Sci.* 64:126-132.

Kaleda A, Talvistu K, Tamm M, Viirma M, Rosend J, Tanilas K, Kriisa M, Part N, Tammik ML (2020) Impact of fermentation and phytase treatment of pea-oat protein blend on physicochemical, sensory, and nutritional properties of extruded meat analogs. *Foods*. 9: 1059.

Karaca AC, Low N, Nickerson M (2011) Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Int. Food. Res. J.* 44: 2742-2750.

Klose C, Arendt EK (2012) Proteins in oats; their synthesis and changes during germination: a review. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 52: 629-639.

Lam AC, Karaca AC, Tyler RT, Nickerson MT (2018) Pea protein isolates: structure, extraction and functionality. *Food. Rev. Int* 34: 126-147.

Liang HN, Tang CH (2013) pH-dependent emulsifying properties of pea [*Pisum sativum* (L.)] proteins. *Food. Hydrocoll.* 33: 309-319.

Lu ZX, He JF, Zhang YC, Bing DJ (2019) Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 60: 2593-2605.

Lynch JV, Pierrehumbert R (2019) Climate Impacts of Cultured Meat and Beef Cattle. *Front Sustain. Food. Syst.* 3:5.

Makinen OE, Sozer N, Ercili-Cura D, Ercili-Cura K (2017) Protein From Oat: Structure, Processes, Functionality, and Nutrition. In *Sustainable Protein Sources*. Academic Press. 105-119 pp.

Martínez-Álvarez O, Iriondo-DeHond A, Gómez-Estaca J, Dolores del Castillo M (2021) Nuevas tendencias en la producción y consumo alimentario. *Distr. Consum.* 1: 51-62.

McCarthy NA, Kennedy D, Hogan SA, Kelly PM, Thapa K, Murphy KM, Fenelon MA (2016) Emulsification properties of pea protein isolate using homogenization, microfluidization and ultrasonication. *Int. Food. Res. J.* 415-421.

Nie C, He T, Zhang W, Zhang G, Ma X (2018) Branched Chain Amino Acids: Beyond Nutrition Metabolism. *Int. J. Mol. Sci.* 19:954.

Nishinari K, Fang Y, Nagano T, Guo S, Wang R (2018) Soy as a food ingredient. In *Proteins in Food Processing*. Woodhead Publishing. 149-186 pp.

Nowak V, Persijn D, Rittenschober D, Charrondiere UR (2016) Review of food composition data for edible insects. *Food Chem.* 193: 39-46.

Okuskhanova E, Assenova B, Rebezov M, Amirkhanov K, Yessimbekov Z, Smolnikova F, Nurgazezova A, Nurymkhan G, Stuart M (2017) Study of morphology, chemical, and amino acid composition of red deer meat. *Vet. World.* 10: 623-629.

Post MJ (2014) Cultured beef: medical technology to produce food. *J. Sci. Food. Agric.* 94: 1039-1041.

Quesada D, Gómez G (2019) ¿Proteínas de origen vegetal o de origen animal?: Una mirada a su impacto sobre la salud y el medio ambiente. *Rev. Nutr. Clin. Metab.* 2: 79-86.

Ramos-Elorduy B, Pino MJ, Martínez CV (2012) Could Grasshoppers Be a Nutritive Meal? *Food. Sci. Nutr.* 3: 164-175.

Ribotta PD, Colombo A, Rosell CM (2012) Enzymatic modifications of pea protein and its application in protein-cassava and corn starch gels. *Food. Hydrocoll.* 27: 185-190.

Rodríguez-Miranda J, Alcántar-Vázquez JP, Zúñiga-Marroquín T, Juárez-Barrientos JM (2019) Insects as an alternative source of protein: a review of the potential use of grasshopper (*Sphenarium purpurascens* Ch.) as a food ingredient. *Eur. Food Res. Technol.* 245: 2613-2620.

Schweiggert-Weisz U, Eisner P, Bader-Mittermaier S, Osen R (2020) Food proteins from plants and fungi. *Curr. Opin. Food. Sci.* 32: 156-162.

Sey MS, Parfitt J, Parfitt J (2011) Prospective study of clinical and histological safety of pure and uncontaminated Canadian oats in the management of celiac disease. *JPEN. J. Parenter. Enteral. Nutr.* 459-464.

EFFECTO DE LA SACAROSA EN LA SÍNTESIS DE CELULOSA BACTERIANA POR FERMENTACIÓN DE KOMBUCHA EN TÉ NEGRO (*CAMELLIA SINENSIS*)

Natanael Victoriano-Huerta¹, Salvador Alcántara-Iniesta¹, Blanca Susana Soto-Cruz^{1*}, Plácido Zaca-Morán², Abdu Orduña-Díaz³, Leslie Susana Arcila-Lozano³, Marlon Rojas-López^{3*}

¹Centro de Investigación en Dispositivos Semiconductores, Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ed. IC5 o IC6, Col. San Manuel, 72570 Puebla, México.

²Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ecocampus Valsequillo, 72960, Puebla, México.

³Instituto Politécnico Nacional. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada CIBA-Tlaxcala, Carretera estatal Santa Inés Tecuexcomac-Tepetitla, Tepetitla, 90700, Tlaxcala, México

RESUMEN

Se sintetizaron membranas de celulosa bacteriana mediante fermentación líquida de la cepa Kombucha en té negro (*Camellia sinensis*) a diferentes concentraciones de sacarosa. Propiedades estructurales de la celulosa bacteriana Kombucha, tales como el índice de orden lateral (LOI), el índice total de cristalinidad (TCI), la intensidad de los enlaces de hidrógeno (HBI), la fracción ($f\alpha$), así como su dependencia con el contenido de sacarosa fueron evaluadas mediante espectroscopia FTIR, utilizando distintas bandas de absorción del espectro vibracional. Se observó así que la sacarosa tiende a cristalizar a la celulosa bacteriana, debido al aumento del índice total de cristalinidad y de orden lateral, así como de la fracción ($f\alpha$), mientras que el índice de enlaces de hidrógeno disminuyó. La adición de cacao orgánico (*Theobroma cacao*) en el medio de cultivo previo a la fermentación produjo membranas con propiedades muy similares a las preparadas solamente con te negro. La obtención de celulosa tipo I y la cristalización controlada por este proceso podrían contribuir a la obtención de membranas de alta cristalinidad para aplicaciones biomédicas y bioelectrónicas.

Palabras clave: Celulosa bacteriana, propiedades estructurales, índice total de cristalinidad, índice de orden lateral, intensidad de enlaces de hidrógeno, espectroscopia FTIR.

ABSTRACT

Bacterial cellulose membranes were synthesized by liquid fermentation of the Kombucha strain into black tea (*Camellia sinensis*) at different concentrations of sucrose. Structural properties of bacterial cellulose Kombucha, such as lateral order index (LOI), total crystallinity index (TCI), hydrogen bond intensity (HBI), fraction ($f\alpha$), as well as their dependence on sucrose content were evaluated by FTIR spectroscopy, using different absorption bands of the vibrational spectrum. Thus, sucrose tends to crystallize bacterial cellulose, due to the increase in the total index of crystallinity and lateral order, as well as the fraction ($f\alpha$), while the index of hydrogen bonds decreased. The addition of organic cocoa (*Theobroma cacao*) in the culture medium prior to fermentation produced membranes with properties very similar to those prepared only with black tea. Obtaining type I cellulose and crystallization controlled by this process could contribute to obtaining high crystallinity membranes for biomedical and bioelectronic applications.

Keywords: Bacterial Cellulose; structural properties; total crystallinity index, lateral order index, hydrogen bond intensity, FTIR spectroscopy.

Corresponding authors: blanca.sotocruz@viep.com.mx, marlonrl@yahoo.com.mx

INTRODUCCIÓN

La celulosa bacteriana de Kombucha (KBC) es una membrana delgada biodegradable obtenida de la fermentación del té negro (*Camellia sinensis*), sacarosa, y el cultivo microbiano conocido como SCOBY (Cultivo simbiótico de bacterias y levaduras), que tiene la consistencia de un gel y está compuesta de un consorcio de bacterias del género *Acetobacter*, *Gluconacetobacter*, *Leuconostoc*, *Allobaculum*, *Ruminococcaceae*, *Enterococcus*, *Thermus* (Angela et al. 2020; Domskiene et al. 2019; Mukadam et al. 2016; Zhu et al. 2014) así como levaduras como *Zygosaccharomyces*, *Brettanomyces*, *Saccharomyces* (Kaewkod et al. 2019; Leal et al. 2018). Así, esta membrana posee características únicas como alta pureza, biocompatibilidad, biodegradabilidad, (Jacek et al. 2021; Revin et al. 2018), alta capacidad de absorción de agua y por tanto mayor adaptabilidad biológica (Popa et al. 2022), así como alta resistencia a la tensión (Bardone et al. 2018). Las microfibrillas de KBC son 100 veces más pequeñas en comparación con la celulosa vegetal (Ruka et al. 2012), lo que le otorga una micro/nanoestructura tridimensional única, aumentando su interés en biotecnología, biomedicina, alimentos, electrónica, bioelectrónica, nanocompuestos y otras aplicaciones entre las que se encuentran la regeneración de tejido y cicatrización (Esa et al. 2014).

En este trabajo, se utilizó la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) para analizar las propiedades estructurales de la celulosa bacteriana de Kombucha, tales como el índice de orden lateral, el índice de cristalinidad total, la intensidad de los enlaces de hidrógeno, la fracción α y su dependencia con la concentración de sacarosa y con la composición del medio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

Té negro orgánico marca Molienda Sagrada para infusión que servirá como medio de cultivo para la obtención de celulosa bacteriana por SCOBY Kombucha. Sacarosa de grado reactivo de la marca Meyer, extracto de polvo de levadura de la marca Himedia. Peptona grado bacteriológico marca Meyer. Para realizar la limpieza de las KBC formadas se utilizó Hidróxido de Sodio (NaOH) en hojuelas grado reactivo, marca Meyer, y en todos los procesos se utilizó agua destilada marca PiSA.

Preparación de membranas de celulosa bacteriana por Kombucha (KBC y KBC-cacao)

Se elaboraron dos tipos de medio de cultivo, ambos contienen té negro al 1% el cual se vierte en 1L de agua hirviendo durante 5 minutos dejando enfriar a temperatura ambiente, posteriormente se emplean cuatro concentraciones de sacarosa (5, 10, 15 y 20 %). Además, se añadieron 1 g/L de

peptona y 10 g/L de extracto de levadura. Al segundo medio se le agregó cacao orgánico (*Theobroma cacao*) 10 g/L, ambos medios contienen la misma concentración de sacarosa. Del medio obtenido se vierten 100 mL de la infusión en frascos cilíndricos de vidrio de 175 mL. A continuación, las muestras (KBC y KBC-cacao) se esterilizaron a 121 °C durante 15 min y se mide el pH. Posteriormente, se utilizó una incubadora para mantener los cultivos a una temperatura de 26 ± 1 °C durante 7 días. Las membranas de KBC obtenidas se lavaron durante 30 minutos 3 veces en una solución de NaOH 1 M a 85 °C para eliminar células e impurezas. Luego del lavado se enjuagaron con agua destilada hasta obtener un pH neutro. Finalmente, las membranas de KBC y KBC-cacao se filtraron por gravedad (Indriyati et al. 2019) y se secaron a temperatura ambiente durante 4 días. Estas membranas se prepararon por triplicado en las mismas condiciones, variando únicamente la concentración de sacarosa.

Determinación del espesor y peso de las membranas KBC y KBC-cacao.

Los espesores las membranas KBC se midieron utilizando un micrómetro electrónico Oumefar con un rango de 0-12 mm y resolución de 0,01 mm. Por otro lado, el peso de las membranas se determinó mediante una balanza digital marca Amir con una resolución de 0,001 g, en un rango de medición de 0,05 a 500 g.

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología de la superficie de la membrana de KBC se examinó utilizando un microscopio electrónico de barrido (Vega TS-5136SB, Tescan, Kohoutovice, República Checa) que opera en modo de bajo vacío. Las muestras se montaron sobre una base de aluminio con cinta de carbón.

Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Para la caracterización química y estructural de las muestras de celulosa bacteriana se utilizó un espectrómetro FTIR Bruker, modelo VERTEX 70 en un rango de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} , en modo de muestreo por reflectancia total atenuada (ATR) y una resolución espectral de 4cm^{-1} , con 120 escaneos por muestra. Se empleó el software Origin 6.0 para analizar los espectros de absorción.

Determinación de índices de cristalinidad en KBC y KBC-cacao

Los espectros FTIR de las membranas se normalizaron en 1027cm^{-1} (vibración de extensión C-O), debido a que esta fue la banda de mayor intensidad en las muestras analizadas. Primeramente, el índice de orden lateral (LOI) se define como la relación entre las intensidades entre las bandas a 1427 y 895cm^{-1} , $I(1427)/I(895)$ (Hurtubise y KrÄSSIG 1960; Nelson y O'Connor, 1964a); mientras que el índice total de cristalinidad (TCI), se define como la relación entre



las intensidades entre las bandas a 1371cm^{-1} y 2895cm^{-1} , $I(1371)/I(2895)$ (Kruer-Zerhusen *et al.* 2017; Nelson y O'Connor 1964a). La siguiente propiedad estructural es la intensidad de bandas de hidrógeno (HBI), calculada como $I(3340)/I(1337)$ (Nada *et al.* 2000) y finalmente, la fracción α de la celulosa ($f\alpha$) se determinó utilizando las áreas deconvolucionadas de las bandas a 750cm^{-1} y 710cm^{-1} respectivamente, de acuerdo con las siguientes ecuaciones (Kataoka y Kondo 1999; Zeng *et al.* 2011a; Żywicka *et al.* 2018):

$$f_{\alpha} = 2.55 \times f_{\text{IR}} - 0.32 \quad (1)$$

donde

$$f_{\text{IR}} = \frac{A_{750}}{A_{750} + A_{710}} \quad (2)$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Espesor y peso de KBC y KBC-cacao

La figura 1(a) y 1(b) muestra el grosor y el peso respectivamente de las membranas de KBC (húmedas y secas) en función del contenido de sacarosa. En ambos casos se observa un aumento tanto del espesor como del peso de la membrana con el contenido de sacarosa. Esto se puede atribuir a una mayor producción de celulosa por los microorganismos de la cepa Kombucha causada por el aumento en la cantidad de fuente de carbono (Aswini *et al.* 2020; Kulkarni *et al.* 2012). En el caso de las membranas KBC cultivadas en el medio de cultivo adicionado con extracto de cacao, se observó un aumento de espesor superior al doble con respecto a la membrana crecida sin adicionar extracto de cacao. Esto podría deberse a los nutrientes y compuestos antioxidantes presentes en el extracto de cacao (Saavedra-Sanabria *et al.* 2021). Después del proceso de secado de las membranas KBC, el espesor en ambos tipos de membranas se redujo a valores entre $0,6-1,1 \pm 0,2$ mm. Por otra parte, tras el proceso de secado de las membranas, su peso se redujo al 10% de su peso húmedo.

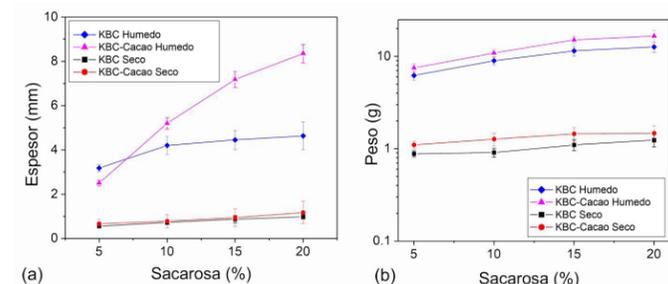


Figura 1. (a) Espesor vs concentración de sacarosa, (b) Peso vs concentración de sacarosa empleada en la síntesis de membranas de celulosa bacteriana Kombucha

Apariencia morfológica de KBC y KBC-cacao

La figura 2 muestra la morfología superficial de muestras de celulosa bacteriana preparadas en condiciones de cultivo

estático con 5 y 20 % de sacarosa (a, b) respectivamente, así como el crecimiento de celulosa bacteriana en el medio de cultivo adicionado con *Theobroma cacao*, con 5 y 20 % de sacarosa (c, d) respectivamente. Las micrografías obtenidas de KBC y KBC-cacao revelaron una red densamente empaquetada de fibras con diámetros entre $1,3$ y $3,8\ \mu\text{m}$. Estas observaciones concuerdan con la morfología típica de las microfibrillas preparadas en condiciones de cultivo estático, con un gran número de ellas conectadas por puentes de hidrógeno, formando una estructura de red densa durante su formación (Zhang *et al.* 2018). No se observan diferencias morfológicas aparentes con respecto a la variación en el contenido de sacarosa aplicado en el medio de cultivo para KBC Figuras 2(a), y 2(b) y, también para KBC-cacao Figuras 2(c) y 2(d) respectivamente, excepto por una apariencia morfológica más rugosa observada para las muestras de KBC-cacao con 20% de sacarosa en el medio de cultivo, en comparación con las muestras con 5% de sacarosa. Este aspecto rugoso de las muestras preparadas en condiciones de fermentación estática podría deberse al importante número de compuestos antioxidantes y nutrientes presentes en el té negro y en el cacao, ya que KBC como KBC-cacao se sintetizan cuando las moléculas de celulosa se excretan fuera de la superficie celular a través de los poros durante el crecimiento celular.

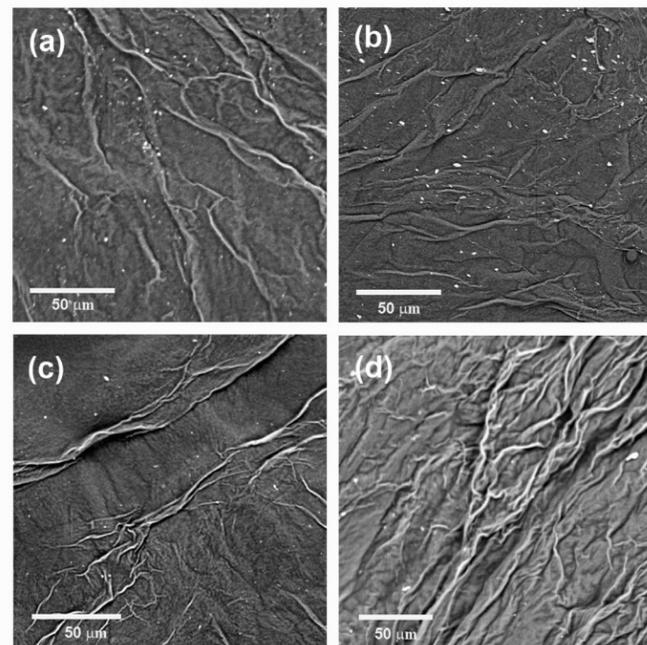


Figura 2. Imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido de las membranas de celulosa bacteriana Kombucha sintetizadas con 5% (a) y 20% (b). Membranas de celulosa bacteriana Kombucha sintetizadas en el mismo medio de cultivo pero adicionado con cacao orgánico (*Theobroma cacao*) al 5% (c) y 20% (d).

Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier de KBC y KBC-cacao

Los espectros vibracionales de las membranas de KBC y KBC-cacao se obtuvieron mediante espectroscopia FTIR,

después de secadas las muestras. La figura 3 (a, b, c y d) muestra los espectros FTIR de muestras de KBC preparadas con 5, 10, 15 y 20 % de sacarosa, para ambos medios de cultivo, respectivamente.

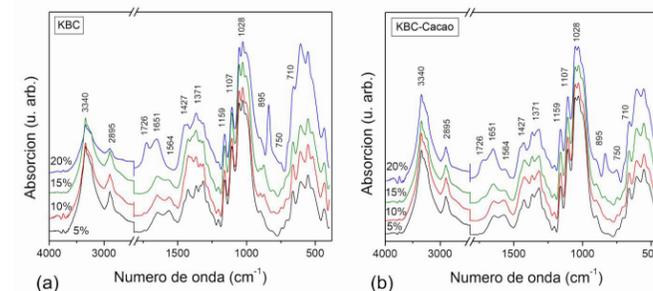


Figura 3. Espectros FTIR de (a) KBC, y (b) KBC-cacao. Ambos tipos de membranas fueron preparadas con 5, 10, 15, y 20% de sacarosa en el medio de cultivo.

Una banda ancha en 3340cm^{-1} se atribuye a los modos de vibración de extensión de los grupos O-H, mientras que la banda en 2895cm^{-1} surge de los modos vibracionales de extensión de los grupos C-H en la membrana de celulosa. La banda en 1726cm^{-1} se puede relacionar con los modos vibracionales de extensión del carbonilo perteneciente al grupo aldehído, que puede existir en forma hemiacetal, acetal y/o hidratos (Babac y Kutsal 2009). La banda en 1651cm^{-1} corresponde a las vibraciones de deformación de los grupos O-H de la molécula de agua. Asimismo, diferentes bandas de absorción en el intervalo espectral $1600-1200\text{cm}^{-1}$ son sensibles a transformaciones químicas y estructurales, como las observadas a 1564 , 1427 , 1371 , 1337 y 1313cm^{-1} cuya intensidad de algunas de ellas determina los índices de cristalinidad de las muestras de celulosa bacteriana (Atykyan *et al.* 2020; Kruer-Zerhusen *et al.* 2017). Además de lo anterior, las bandas de absorción en 1159 , 1107 y 1028cm^{-1} están asociadas a los modos vibracionales de extensión C-O/C-H de los azúcares en la celulosa y a los modos vibracionales de extensión C-O-C de enlaces glucosídicos β -(1, 4) entre los azúcares (Schwanninger *et al.* 2004). La banda de 895cm^{-1} también es característica del enlace glucosídico β -(1, 4) de la celulosa. Las bandas de absorción a 750 y 710cm^{-1} están asociadas a la celulosa triclinica ($I\alpha$) y monoclinica ($I\beta$) de la celulosa tipo I (Atykyan *et al.* 2020). Para el caso de las membranas de KBC-cacao se observaron bandas de absorción similares a las de KBC, aunque con diferentes intensidades de absorción entre ambos tipos de membranas.

El índice de orden lateral (LOI) es una propiedad asociada con la cantidad de estructura cristalina de la celulosa. Este se calculó utilizando la relación entre la intensidad de las bandas a 895cm^{-1} (enlace glucosídico β -(1, 4) en celulosa) y 1427cm^{-1} , (Nelson y O'Connor, 1964b). La Figura 4 muestra la variación LOI respecto a la concentración de sacarosa. Se observó un comportamiento exponencial con la concentración de sacarosa (5 a 20 %) añadida al medio de

cultivo para la obtención de celulosa bacteriana. El aumento de LOI se explica en términos de la cantidad de fuente de carbono que aumenta fuertemente por la sacarosa, lo que sugiere que la cristalización de la celulosa aumenta con la concentración de sacarosa. El LOI aumentó (17%) para el 15% de sacarosa, sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el LOI para ambos tipos de membranas KCB y KCB-cacao para el resto de las concentraciones de sacarosa.

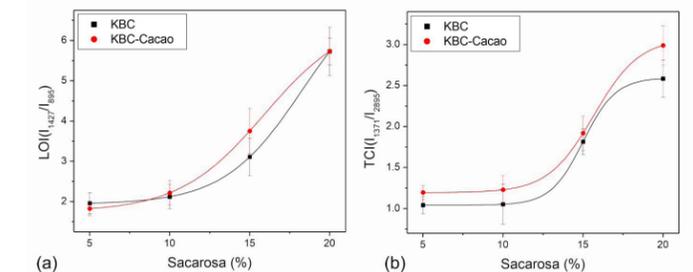


Figura 4. (a) Índice de orden lateral (LOI), y (b) índice de cristalinidad total (TCI) de celulosa bacteriana Kombucha y su dependencia con la concentración de sacarosa.

De manera similar el índice de cristalinidad total (TCI) se puede estimar con el espectro FTIR de la celulosa bacteriana de Kombucha como la relación de intensidades entre las bandas de 1371cm^{-1} y 2895cm^{-1} (Nelson y O'Connor 1964). La Figura 4(b) muestra el aumento de TCI con la concentración (5-20%) de sacarosa, lo que sugiere un aumento de la cristalinidad o grado de regularidad intermolecular. El TCI de la celulosa bacteriana Kombucha (KBC) preparada con *Theobroma cacao* fue ligeramente superior al de la KBC simple (13 %) para el 20 % de sacarosa. Esto podría deberse al contenido de vitaminas y ácido fólico en el extracto de cacao, que aceleran el metabolismo de los microorganismos productores de celulosa (Saavedra-Sanabria *et al.* 2021).

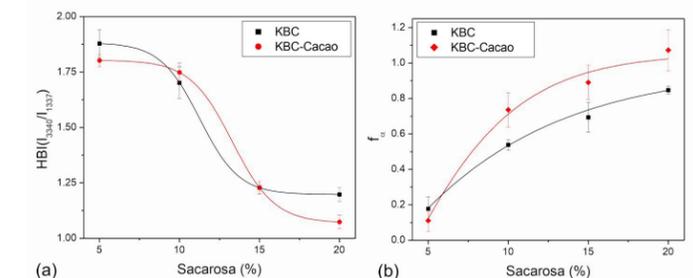


Figura 5. (a) Intensidad de enlaces de hidrógeno (HBI), y (b) fracción α ($f\alpha$) de celulosa bacteriana Kombucha y su dependencia con la concentración de sacarosa.

Otro parámetro estructural importante es la intensidad de enlaces de hidrógeno (HBI), la cual se puede estimar como la relación de intensidades entre las bandas de 3340cm^{-1} y 1337cm^{-1} . La figura 5(a) muestra que el HBI disminuye con la concentración de sacarosa, lo que indica que la cristalización aumenta de forma inversa con la cantidad de agua unida (hidrógeno).

La adición de *Theobroma cacao* en los medios de cultivo disminuyó la magnitud de HBI (10%) con respecto a KBC simple para 20% de sacarosa. El HBI también se puede asociar con el grado de regularidad intermolecular en el sistema cristalino, en términos de la cantidad de enlaces de hidrógeno (Nada et al. 2000; Oh et al. 2005; Široký et al. 2009).

Finalmente, se estimó la fracción α a partir de la deconvolución lorentziana del espectro FTIR de la celulosa bacteriana *Kombucha* calculando el área de las bandas a 710 y 750 cm^{-1} respectivamente y, utilizando las ecuaciones 1 y 2. Esta propiedad estructural se puede relacionar con la formación de la celulosa tipo I (Kataoka y Kondo 1999). La figura 5(b) muestra el aumento de la fracción α con la concentración de sacarosa. La adición de *Theobroma cacao* en los medios de cultivo aumentó la magnitud de $f\alpha$ (21%) para una concentración de sacarosa de 20% sugiriendo el aumento de la cristalización debido a los compuestos presentes en el extracto de cacao. De esta manera, las propiedades cristalinas de las membranas de celulosa bacteriana *Kombucha*, sintetizadas por fermentación líquida en té negro y té negro adicionado con cacao, pueden ser controladas con la concentración de sacarosa y evaluadas mediante su espectro FTIR.

CONCLUSIONES

Se observó el aumento de la cristalinidad en membranas de celulosa bacteriana *Kombucha* sintetizadas por fermentación líquida en té negro y té negro adicionado con cacao, debido al aumento de la concentración de sacarosa. Se evaluaron varios parámetros estructurales como el índice de orden lateral (LOI), el índice total de cristalinidad (TCI), la intensidad de enlaces de hidrógeno (HBI), así como la fracción α ($f\alpha$), en función de la concentración de sacarosa. La obtención de celulosa tipo I así como el nivel de cristalización obtenido pueden ser controlados con el contenido de sacarosa agregada antes el proceso de fermentación y evaluada en las membranas mediante espectroscopia FTIR.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), CIDS-ICUAP ECO-Campus Valsequillo; así como a la Secretaría de Investigación y Posgrado-IPN por el apoyo financiero. Asimismo, los autores agradecen a la Dra. M. Miranda por su contribución a esta investigación.

REFERENCIAS

- Angela, C., Young, J., Kordayanti, S., Virginia Partha Devanthi, P., & . K. (2020). Isolation and Screening of Microbial Isolates from *Kombucha* Culture for Bacterial Cellulose Production in Sugarcane Molasses Medium. *KnE Life Sciences*, 2020, 111–127. <https://doi.org/10.18502/kls.v5i2.6444>
- Aswini, K., Gopal, N. O., & Uthandi, S. (2020). Optimized culture conditions for bacterial cellulose production by *Acetobacter senegalensis* MA1. *BMC Biotechnology*, 20(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/S12896-020-00639-6/TABLES/4>
- Atykhan, N., Revin, V., & Shutova, V. (2020). Raman and FT-IR Spectroscopy investigation the cellulose structure al differences from bacteria *Gluconacetobacter sucrofermentans* during the different regimes of cultivation on a molasses media. *AMB Express*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/S13568-020-01020-8>
- Babac, C., & Kutsal, T. (2009). Production and Characterization of Biodegradable Bacterial Cellulose Membranes. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 3(2), 1–2.
- Bardone, E., Marzocchella, A., Keshavarz, T., Vasconcellos, V. M., & Farinas, C. S. (2018). The Effect of the Drying Process on the Properties of Bacterial Cellulose Films from *Gluconacetobacter hansenii*. *CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS*, 64. <https://doi.org/10.3303/CET1864025>
- Domskiene, J., Sederavičiute, F., & Simonaityte, J. (2019). *Kombucha* bacterial cellulose for sustainable fashion. *International Journal of Clothing Science and Technology*, 31(5), 644–652. <https://doi.org/10.1108/IJCST-02-2019-0010>
- Esa, F., Tasirin, S. M., & Rahman, N. A. (2014). Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.017>
- Hurtubise, F. G., & KrÄSSIG, H. (1960). Classification of Fine Structural Characteristics in Cellulose by Infrared Spectroscopy Use of Potassium Bromide Pellet Technique. *Analytical Chemistry*, 32(2), 177–181. <https://doi.org/10.1021/ac60158a010>
- Indriyati, Irmawati, Y., & Puspitasari, T. (2019). Comparative study of bacterial cellulose film dried using microwave and air convection heating. *Journal of Engineering and Technological Sciences*, 51(1), 121–132. <https://doi.org/10.5614/j.eng.technol.sci.2019.51.1.8>
- Jacek, P., Silva, F. A. G. S. da, Dourado, F., Bielecki, S., & Gama, M. (2021). Optimization and characterization of bacterial nanocellulose produced by *Komagataeibacter rhaeticus* K3. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, 100022. <https://doi.org/10.1016/J.CARPTA.2020.100022>
- Kaewkod, T., Bovonsombut, S., & Tragoolpua, Y. (2019). Efficacy of kombucha obtained from green, oolong and black teas on inhibition of pathogenic bacteria, antioxidation, and toxicity on colorectal cancer cell line. *Microorganisms*, 7(12). <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS7120700>

Kataoka, Y., & Kondo, T. (1999). Quantitative analysis for the cellulose I α crystalline phase in developing wood cell walls. *International Journal of Biological Macromolecules*, 24(1), 37–41. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(98\)00065-8](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(98)00065-8)

Kruer-Zerhusen, N., Cantero-Tubilla, B., & Wilson, D. B. (2017). Characterization of cellulose crystallinity after enzymatic treatment using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). *Cellulose* 2017 25:1, 25(1), 37–48. <https://doi.org/10.1007/S10570-017-1542-0>

Kulkarni, P. K., Anil Dixit, S., & Singh, U. B. (2012). Evaluation of bacterial cellulose produced from *Acetobacter xylinum* as pharmaceutical excipient. *American Journal of Drug Discovery and Development*, 2(2), 72–86. <https://doi.org/10.3923/AJDD.2012.72.86>

Leal, J. M., Suárez, L. V., Jayabalan, R., Oros, J. H., & Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. <http://Mc.Manuscriptcentral.Com/Tcyt>, 16(1), 390–399. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>

Mukadam, T. A., Punjabi, K., Deshpande, S. D., Vaidya, S. P., & Chowdhary, A. S. (2016). Isolation and Characterization of Bacteria and Yeast from *Kombucha* Tea. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(6), 32–41. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.506.004>

Nada, A. A. M. A., Kamel, S., & El-Sakhawy, M. (2000). Thermal behaviour and infrared spectroscopy of cellulose carbamates. *Polymer Degradation and Stability*, 70(3), 347–355. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(00\)00119-1](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(00)00119-1)

Nelson, M. L., & O'Connor, R. T. (1964a). Relation of Certain Infrared Bands to Cellulose Crystallinity and Crystal Lattice Type . Part II . A New Infrared Ratio for Estimation of Crystallinity in Celluloses I and II *. *Journal of Applied Polymer Science*, 8, 1325–1341.

Nelson, M. L., & O'Connor, R. T. (1964b). Relation of certain infrared bands to cellulose crystallinity and crystal latticed type. Part I. Spectra of lattice types I, II, III and of amorphous cellulose. *Journal of Applied Polymer Science*, 8(3), 1311–1324. <https://doi.org/10.1002/app.1964.070080322>

Oh, S. Y., Yoo, D. il, Shin, Y., & Seo, G. (2005). FTIR analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide. *Carbohydrate Research*, 340(3), 417–428. <https://doi.org/10.1016/J.CARRES.2004.11.027>

Popa, L., Ghica, M. V., Tudoroiu, E. E., Ionescu, D. G., & Dinu-Pirvu, C. E. (2022). Bacterial Cellulose—A Remarkable Polymer as a Source for Biomaterials Tailoring. *Materials* 2022, Vol. 15, Page 1054, 15(3), 1054. <https://doi.org/10.3390/MA15031054>

Revin, V., Liyaskina, E., Nazarkina, M., Bogatyreva, A., & Shchankin, M. (2018). Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49, 151–159. <https://doi.org/10.1016/J.BJM.2017.12.012>

Ruka, D. R., Simon, G. P., & Dean, K. M. (2012). Altering the growth conditions of *Gluconacetobacter xylinus* to maximize the yield of bacterial cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 89(2), 613–622. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2012.03.059>

Saavedra-Sanabria, O. L., Durán, D., Cabezas, J., Hernández, I., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2021). Cellulose biosynthesis using simple sugars available in residual cacao mucilage exudate. *Carbohydrate Polymers*, 274, 118645. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2021.118645>

Schwanninger, M., Rodrigues, J. C., Pereira, H., & Hinterstoisser, B. (2004). Effects of short-time vibratory ball milling on the shape of FT-IR spectra of wood and cellulose. *Vibrational Spectroscopy*, 36(1), 23–40. <https://doi.org/10.1016/J.VIBSPEC.2004.02.003>

Široký, J., Blackburn, R. S., Bechtold, T., Taylor, J., & White, P. (2009). Attenuated total reflectance Fourier-transform Infrared spectroscopy analysis of crystallinity changes in lyocell following continuous treatment with sodium hydroxide. *Cellulose* 2009 17:1, 17(1), 103–115. <https://doi.org/10.1007/S10570-009-9378-X>

Zeng, X., Liu, J., Chen, J., Wang, Q., Li, Z., & Wang, H. (2011a). Screening of the common culture conditions affecting crystallinity of bacterial cellulose. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 38(12), 1993–1999. <https://doi.org/10.1007/s10295-011-0989-5>

Zeng, X., Liu, J., Chen, J., Wang, Q., Li, Z., & Wang, H. (2011b). Screening of the common culture conditions affecting crystallinity of bacterial cellulose. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 38(12), 1993–1999. <https://doi.org/10.1007/s10295-011-0989-5>

Zhang, W., Wang, X., Qi, X., Ren, L., & Qiang, T. (2018). Isolation and identification of a bacterial cellulose synthesizing strain from kombucha in different conditions: *Gluconacetobacter xylinus* ZHCJ618. *Food Science and Biotechnology*, 27(3), 705–713. <https://doi.org/10.1007/S10068-018-0303-7>

Zhu, C., Li, F., Zhou, X., Lin, L., & Zhang, T. (2014). *Kombucha*-synthesized bacterial cellulose: Preparation, characterization, and biocompatibility evaluation. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 102(5), 1548–1557. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34796>

Żywicka, A., Junka, A. F., Szymczyk, P., Chodaczek, G., Grzesiak, J., Sedghizadeh, P. P., & Fijałkowski, K. (2018). Bacterial cellulose yield increased over 500% by supplementation of medium with vegetable oil. *Carbohydrate Polymers*, 199, 294–303. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.126>

RESUMEN

Actualmente las enfermedades crónicas son un foco importante de atención, pues se han convertido en un problema de salud pública. Se estima que uno de cada cuatro adultos padece hipertensión arterial, esta enfermedad se caracteriza por incrementar la presión arterial y causar daño en órganos como el corazón, riñón o cerebro y finalmente, una muerte prematura. Existen múltiples tratamientos para controlarla ya que no existe cura para este padecimiento. Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) son los más comunes, y se encargan de limitar la actividad de la ECA, quien hace la conversión de Angiotensina I (compuesto inactivo) a Angiotensina II (Vasoconstrictor), una de las moléculas responsables de elevar la presión, regulando así este padecimiento. Esta revisión es un complemento para ayudar a entender cómo fuentes naturales, ricas en proteínas pueden ser aprovechadas para la producción de compuestos bioactivos. Mostrando, así como los microorganismos como las bacterias (Acido lácticas) BALS pueden contribuir a mejorar la calidad de la vida.

ABSTRACT

Chronic diseases are currently an important point of attention; they are a public health problem. It is estimated that one in four adults suffer from high blood pressure, this disease is characterized by increased blood pressure and organ damage in, the heart, kidney or brain, leading to premature death. There are many treatments to control, but there is no cure for this condition. Inhibitors of the angiotensin-converting enzyme (ACE) are the most common, they stop the activity of ACE, which converts Angiotensin I (inactive compound) to Angiotensin II (Vasoconstrictor), one of the molecules responsible for pressure elevation, thus regulating this condition. This review is a complement to help understand how natural sources (some considered waste) rich in proteins can be used for the production of the bioactive compounds, in addition to showing how microorganisms such as bacteria (Lactic acid) BALS have a contribution to improve the quality of life.

Keywords: Angiotensin-converting enzyme, Hypertension, Bioactive peptides, BALS

I. INTRODUCCIÓN

Hoy en día la hipertensión arterial es una enfermedad común, uno de cada cuatro personas sufre de ésta alrededor de todo el mundo. Esto puede causar enfermedades cardiovasculares, renales, y problemas en el corazón. (Wu et al. 2019). Factores como el estilo de vida, estrés, inactividad

física, obesidad, pueden afectar la presión sanguínea, la cual puede ser baja, normal o alta. Cuando la presión sistólica es ≥ 140 mmHg y la presión diastólica es ≥ 90 mmHg por tres días consecutivos, se puede diagnosticar a una persona como hipertensa (Gupta et al. 2018). Sin embargo, la American Heart Association, ha establecido recientemente un nuevo valor de referencia para la presión sanguínea alta, en ≥ 130 mmHg sistólica y ≥ 80 mmHg diastólica. La regulación de la presión sanguínea es un sistema complejo, donde interviene el sistema renina angiotensina aldosterona (RAAS), el sistema nervioso autónomo, riñones, sistema oxido nítrico y el mecanismo de balance de fluidos juegan un papel importante en la regulación de la presión sanguínea (Elkhtab et al. 2017). La enzima convertidora de angiotensina (ECA) del RAAS, cataliza la conversión de angiotensina I a angiotensina II (vasoconstrictor), permitiendo un incremento en la presión sanguínea. La inhibición de la ECA produce un descenso de la presión sanguínea (Sompinit et al. 2020). Los inhibidores de la ECA, como captopril, lisinapril, llevan a cabo una inhibición del tipo competitiva al igual que los péptidos y han demostrado una reducción de la presión sanguínea. No obstante, estas drogas pueden causar efectos secundarios indeseables, como: angioedema, hipotensión, dolor de cabeza, tos seca, entre otros. Esta es la principal razón para investigar nuevos tratamientos y evitar estos efectos secundarios (Martin y Deussen 2019). Para entrar en contexto los péptidos son como eslabones que forman a las proteínas. Estos péptidos pueden tener alguna actividad biológica como la antihipertensiva y pueden provenir de alimentos que contienen proteína. Sin embargo, es necesario liberar estos péptidos de la fuente original para que puedan ejercer su actividad. Hay diferentes formas de liberar estos péptidos, como mencionaremos mas adelante.

ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA

La ECA también llamada carboxi-dipeptidil-metalopeptidasa (EC: 3.4.15.1) se trata de una proteína integral de membrana, es una enzima dependiente de Zn^{2+} el cual es básico para su actividad (Guang et al. 2012). Se conocen dos isoformas de la ECA en humanos, la somática (sECA) de 150-180kDa, y la germinal o testicular (tECA) de 90-110kDa, esto se debe a que la sECA está constituida por dos dominios homólogos (dominio N y C), mientras que tECA solo tiene un dominio casi idéntico al dominio C de sECA. Los dominios C de ambas isoformas tienen una secuencia de aminoácidos muy similar, sin embargo, tECA contiene un extra de 36 aminoácidos en el extremo N-terminal (Figura 1) (Fan et al. 2019).

ANTIHIPERTENSIVOS ¿AHORA PÉPTIDOS?

Hector Atonal Sánchez¹, Silvia Luna Suárez^{1,*}

¹Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada - Instituto Politécnico Nacional, carretera estatal Santa Inés Tecuexcomac - Tepetitla km 1.5, Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, México, C.P. 90700

* Autor para correspondencia: silvials2004@yahoo.com.mx, sluna@ipn.mx

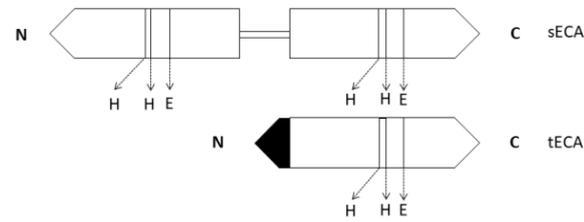


Figura 1. Representación esquemática de las isoformas de la ECA

MECANISMO DE INHIBICIÓN DE LA ECA

El hígado produce la proteína angiotensinógeno, la cual es hidrolizada por la enzima renina, produciendo así angiotensina I (Ang I), cuando ésta entra en contacto con la ECA en el dominio C de sECA o tECA, por medio del ion de Zn²⁺ unido al sitio activo donde están dos histidinas (His383 e His387) y donde también participa un glutamato (Glu411), se libera un dipéptido del extremo C terminal y se origina la angiotensina II (Ang II) el cual es un vasoconstrictor y también inactiva la actividad de la bradiquinina, causando así un desequilibrio en la presión arterial como se ve en la (Figura 2), (Guang et al. 2012). Esto significa que la inhibición de la ECA conduciría a la reducción de la síntesis de Ang II, y de la inactivación de la bradiquinina. Los medicamentos ya existentes como captopril, se basan en el hecho de inhibir competitivamente la actividad de la ECA.

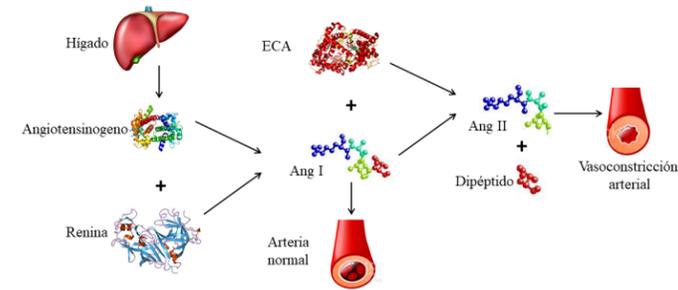


Figura 2. Representación esquemática del mecanismo de regulación de la presión arterial.

LIBERACIÓN DE LOS PÉPTIDOS ANTIHIPERTENSIVOS DE FUENTES PROTEICAS

Teóricamente podemos extraer o liberar péptidos de cualquier fuente proteica, sin embargo, para que estos péptidos tengan una función de interés como la antihipertensiva, deben ser proteínas con secuencias particulares de aminoácidos. Es decir, cada secuencia de aminoácidos y longitud del péptido pueden tener funciones diferentes, sin embargo, de manera natural en fuentes como los alimentos ricos en proteína, contienen proteínas cuyas secuencias de aminoácidos poseen actividad de interés. Para poder aprovechar los beneficios de estos péptidos es necesario liberarlos de su fuente original por alguno de los métodos descritos a continuación, pero esto no garantiza que tengan la función que esperamos. Tras la ingesta de estos, algunos aminoácidos son más lábiles que otros ante condiciones gástricas, es decir su estructura y por ende su actividad se ve alterada, y aquellos que logran resistir no son totalmente aprovechados, pues solo los péptidos más cortos de dos a tres aminoácidos pueden pasar por la vía endocítica. Además, existe una limitante más, y es que, para liberar péptidos específicos, se necesitan condiciones específicas, para poner en contexto, es necesario unas tijeras que reconozcan una secuencia en particular de aminoácidos en la secuencia misma de la proteína, esta característica sin duda solo la podemos esperar de una enzima. Sin embargo, se pueden obtener péptidos por diferentes métodos. La obtención de péptidos por hidrólisis enzimática usando enzimas como bromelina, tripsina, papaína, pepsina, tiene resultados muy favorables; pero controlar las condiciones requeridas por la enzima podría ser un poco difícil, ya que se deben controlar el pH, temperatura, entre otros factores, además resulta costoso la adquisición de las enzimas. Liberar péptidos por el método químico, es por su naturaleza el más económico y sencillo de realizar, se realiza en presencia de ácido o una base fuerte, con algunas desventajas claras, ya que no se pueden obtener péptidos homogéneos, es decir mayoritariamente todos los péptidos pueden ser diferentes entre si. Se deben tomar las medidas de precaución necesarias, ya que puede ser peligroso. El uso de microorganismos como las BALs en diferentes procesos tiene ventajas sobre los dos métodos anteriores y se pueden considerar como una combinación de ambos, en el sentido de que se pueden obtener péptidos homogéneos, controlar los parámetros para su crecimiento puede ser más asequible y también puede ser mas baratos que comprar las enzimas mismas, ya que la cepa deseada es capaz de sintetizarlas además se puede conservar y cultivarla cuando sea necesario. La obtención de péptidos se muestra en el Diagrama 1.

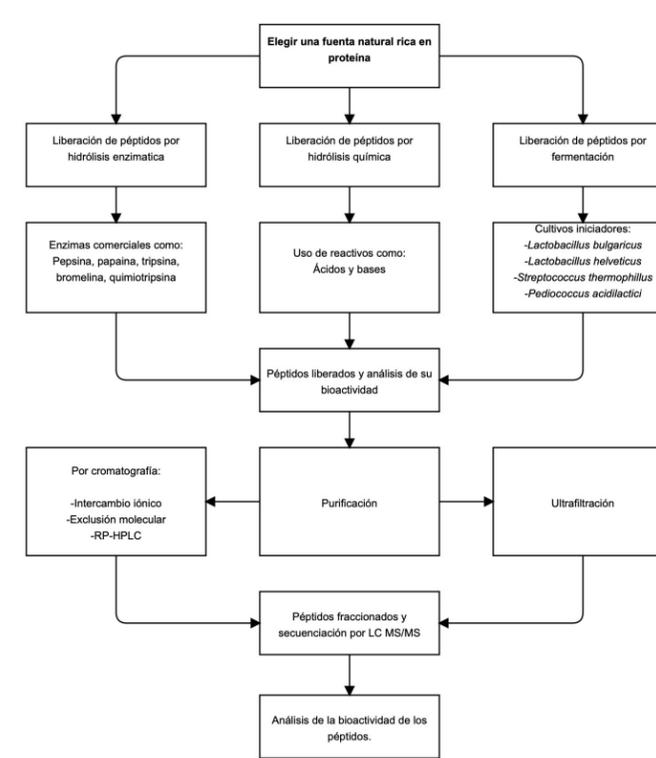


Diagrama 1. Diagrama de flujo para la obtención, liberación, purificación y caracterización de péptidos bioactivos.

FUENTES DE OBTENCIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS

Como ya se ha mencionado existen un número incontable de fuentes que contienen un porcentaje considerable de proteína. Algunas fuentes tienen una cantidad mayor de proteína que otras. También debemos considerar la accesibilidad de esta, y la naturaleza misma de la secuencia de aminoácidos que contienen. Podemos agrupar estas fuentes alimenticias como provenientes de vegetales o animales (Kaur et al. 2021).

La elección de la fuente es importante en la liberación de péptidos antihipertensivos, es decir se debe considerar la trazabilidad del producto, en otras palabras, tener un control de la materia prima, que incluye la disponibilidad, que siempre sea la misma, el costo, etc. De esta forma se puede garantizar el producto final esperado. Actualmente se ha buscado optimizar el rendimiento de la materia prima en muchos sectores, y aprovechar no solamente las bondades que esta nos da, si no también lo que hasta hace un tiempo eran desechos, es decir aquellos componentes que no forman parte de la actividad principal hoy pueden tener un nuevo uso. Por ejemplo, el aprovechamiento de los residuos de la producción de vino como los sedimentos, que se estima son el 6% de la producción de vinos. De acuerdo con la organización internacional del vino en 2020, se produjeron

258 millones de hectolitros de vino. Esto significa unos impresionantes 15.48 millones de hectolitros de sedimento. Los sedimentos de vino son una mezcla compleja de células de levadura, ácidos orgánicos, carbohidratos insolubles, proteínas, sales, compuestos fenólicos, etanol, entre otros, donde las proteínas representan un 25% en peso, es decir, impresionantes 3.87 millones de toneladas (Fernández et al. 2021). Esto hace que sea una fuente muy atractiva para lograr obtener péptidos como PAGELHP, TVTNPARIA, los cuales son interesantes por tener aminoácidos como P, V, L, que han sido reportados como antihipertensivos (Bravo et al. 2022). En la tabla 1, se muestra la clasificación de aminoácidos, y sus códigos de tres y una letra.

Tabla 1. Clasificación de los aminoácidos

Por grupo	Código una letra	Código de tres letras	Nombre completo
No polares Alifáticos	A	Ala	Alanina
	G	Gly	Glicina
	L	Leu	Leucina
	V	Val	Valina
	M	Met	Metionina
Aromáticos	I	Ile	Isoleucina
	Y	Tyr	Tirosina
	F	Phe	Fenilalanina
Carga positiva	W	Trp	Triptófano
	R	Arg	Arginina
	H	His	Histidina
Sin carga	K	Lys	Lisina
	P	Pro	Prolina
	N	Asn	Asparagina
	Q	Gln	Glutamina
	S	Ser	Serina
	T	Thr	Treonina
Carga negativa	C	Cys	Cisteína
	E	Glu	Glutamato
	D	Asp	Aspartato

Otro residuo potencial al que se ha podido obtener un beneficio adicional son las proteínas derivadas de la patas de pollo, ya que en algunos casos esto no se había aprovechado, Bravo et al. 2019 ha demostrado que es una gran fuente para obtener hidrolizados con propiedades antihipertensivas, y con ayuda de complejos enzimáticos como (Protamex®) han podido liberarlos, estos péptidos los fraccionó de acuerdo a su tamaño molecular y su hidrofobicidad por ultrafiltración y por RP-HPLC respectivamente. Posteriormente se llevó a cabo la secuenciación de los péptidos que tuvieron mayor actividad inhibitoria frente a la ECA, obteniendo IC50 menores a 100µM, estos fueron probados en un modelo murino. Los péptidos que tuvieron mayor actividad fueron AVFQHNCQE y QVGPLIGRYCG 44.8 y 11µM respectivamente. Otro ejemplo es el caso de los hidrolizados de la proteína de jengibre y cúrcuma, donde Sompinit et al. 2020 usó pepsina y tripsina para su liberación y su secuenciación posterior mediante cromatografía líquida con espectrometría de masas. Además de encontrar propiedades antihipertensivas, también exhibieron propiedades antioxidantes. El péptido más interesante fue VTYM cuyo IC50 fue de 16.4µmol/L, mientras que los péptidos con mayor actividad inhibitoria de la cúrcuma fueron CGVGAA, DVDP, quienes tuvieron un IC50 de 18.3 y 19.0 µmol. También se pueden obtener péptidos con propiedades antihipertensivas de fuentes marinas como (Lee et al. 2014) que obtuvo a partir de la piel de salmón (*Oncorhynchus keta*) con ayuda de enzimas comerciales como: papaína, quimiotripsina y pepsina en condiciones controladas. Se monitoreó la actividad inhibitoria, se purificaron los diferentes péptidos y encontraron que el péptido que mejor actividad mostró fue GLPLNLP cuyo peso molecular fue de 770Da con un IC50 de 18.7µM.

Por otro lado, Las propiedades nutricionales de la leche son ya conocidas y sabemos que es un alimento rico en proteína, por ello es propicio aprovechar esta bondad, como Elkhtab et al. 2017 pudo liberar péptidos con potencial antihipertensivo por medio de una fermentación con bacterias obtenidas y aisladas de su cultivo Kombucha (medio hecho de té verde e inóculo Kombucha), donde midió la actividad inhibitoria, purificó e identificó los péptidos por medio espectrometría de masas. 3 péptidos, VAPFPEVFGK, LVYPPFGPLH y FVAPEPFVFGKEK demostraron tener la mayor actividad con un IC50 de 0.03, 0.03 y 0.75 µM, respectivamente. Por otra parte, los alimentos cárnicos porcinos son ampliamente conocidos y distribuidos, (Kong et al. 2020) llevaron a cabo una fermentación con bacterias (*Lactobacillus plantarum* CD101 y *Staphylococcus simulans* NJ201) en medio MRS y TSA a temperaturas entre los 37 y 30°C por 24h. Posteriormente evaluaron la actividad del hidrolizado y purificaron los péptidos menores de 3kDa. El hidrolizado que obtuvieron con estas 2 cepas bajo estas condiciones demostró tener un IC50 250µg/mL. En la tabla 2 observamos algunos ejemplos de péptidos obtenidos a

partir de diferentes fuentes, así como su capacidad inhibitoria frente a la ECA.

Tabla 2.- Ejemplos de péptidos obtenidos de diferentes fuentes y su capacidad inhibitoria frente a la ECA.

Modelo	Origen	Tipo de liberación	Péptido	*IC ₅₀	Referencia
<i>In vitro</i>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Alcalase®	Hidrolizado <1kDa	3.6µg/mL	(Ketnawa et al. 2019)
<i>In vitro</i>	Jengibre	Pepsina y tripsina	VTYM	16µmol/L	(Sompinit et al. 2020)
<i>In vitro</i>	Leche	Fermentación con <i>L. lactis</i>	DDQNP	0.034µg/mL	(Rodríguez-Figueroa et al. 2012)
<i>In vitro</i>	<i>Mytilus edulis</i>	Corolase®	Hidrolizados	790µg/mL	(CunhaNeves et al. 2022)
<i>In vitro</i>	<i>Camellia oleifera</i>	Tripsina, proteasa alkanina, papaína	Hidrolizados <1kDa	678µg/mL	(Yao et al. 2019)
<i>In vitro</i>	Pata de pollo	Protamex®	AVFQHNCQE, QVGPLIGRYCG	100µM	(Bravo et al. 2019)
<i>In vitro</i>	Leche	Fermentación con inóculo Kombucha	VAPFPEVFGK, LVYPPFGPLH y FVAPEPFVFGKEK	0.03, 0.03 y 0.75µM respectivamente	(Elkhtab et al. 2017)
<i>In vitro</i>	Cárnicos porcinos	Fermentación con <i>L. plantarum</i> y <i>S. simulans</i>	Hidrolizados <3kDa	250µg/mL	(Kong et al. 2020)

*Cantidad necesaria para inhibir el 50% de la actividad máxima de la ECA.

CONCLUSIONES

Las moléculas bioactivas actualmente están teniendo un gran auge, pues son consideradas una gran alternativa para tratar o controlar diversos padecimientos. La posibilidad de aprovechar recursos que por naturaleza podrían ser considerados desechos, resulta benéfico para quienes los producen y para quienes los aprovechan económicamente hablando. El uso de microorganismos como las BALs, y los complejos enzimáticos para la liberación de péptidos es recomendable por la presencia de enzimas que ayudan a liberación de estos y puede hacerse la producción a gran escala y controlada. Los péptidos son provenientes de fuentes naturales y podrían aportar más de un beneficio, ya que se ha probado que algunos péptidos presentan diferentes actividades además de antihipertensivos. Por su puesto los péptidos antihipertensivos han demostrado inhibir la actividad de la ECA y por ende controlar la presión alta y lo mejor es que no se han reportado efectos secundarios.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Investigación y Posgrado-IPN, y al CONACYT por el apoyo a los proyectos [20210150] y [256478].

REFERENCIAS

Bravo I, Capdevila A, López R, Torres C, Mulero M, Alcaide M, Muguerza B (2022) Identification of novel antihypertensive peptides from wine lees hydrolysate. *Food Chemistry* 366(March 2021).

Bravo I, Capdevila A, Margalef M, Arola A, Muguerza B (2019) Novel Antihypertensive Peptides Derived from Chicken Foot Proteins. *Molecular Nutrition and Food Research* 63: 1–8.

Cunha A, Harnedy A, Fitz J (2022) In vitro angiotensin-converting enzyme and dipeptidyl peptidase-IV inhibitory, and antioxidant activity of blue mussel (*Mytilus edulis*) byssus collagen hydrolysates. *European Food Research and Technology* 248: 1721–1732.

Elkhtab E, Alfay M, Shenana M, Mohamed A, Yousef E (2017) New potentially antihypertensive peptides liberated in milk during fermentation with selected lactic acid bacteria and kombucha cultures. *Journal of Dairy Science* 100: 9508–9520.

Fan H, Liao W, Wu J (2019) Molecular interactions, bioavailability, and cellular mechanisms of angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides. *Journal of Food Biochemistry* 43: 1–8.

Guang C, Phillips D, Jiang B, Milani F (2012) Three key proteases - Angiotensin-I-converting enzyme (ACE), ACE2 and renin - Within and beyond the renin-angiotensin system. *Archives of Cardiovascular Diseases* 105: 373–385.

Gupta R, Gupta P, Prakash H, Agrawal A, Sharma K, Deedwania C (2018) 25-Year trends in hypertension prevalence, awareness, treatment, and control in an Indian urban population: Jaipur Heart Watch. *Indian Heart Journal* 70: 802–807.

Kaur A, Kehinde A, Sharma P, Sharma D, Kaur S (2021) Recently isolated food-derived antihypertensive hydrolysates and peptides: A review. *Food Chemistry* 346: 128719.

Ketnawa S, Suwal S, Huang Y, Liceaga M (2019) Selective separation and characterisation of dual ACE and DPP-IV inhibitory peptides from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) protein hydrolysates. *International Journal of Food Science and Technology* 54: 1062–1073.

Kong W, Feng M, Sun J (2020) Effects of *Lactobacillus plantarum* CD101 and *Staphylococcus simulans* NJ201 on proteolytic changes and bioactivities (antioxidant and antihypertensive activities) in fermented pork sausage. *Lwt* 133: 109985.

Lee K, Jeon K, Byun G (2014) Antihypertensive effect of novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from chum salmon (*Oncorhynchus keta*) skin in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Functional Foods* 7: 381–389.

López R, Margalef M, Torres C, Ávila J, Aragonès G, Muguerza B, Bravo I (2021) Enzyme-assisted extraction to obtain phenolic-enriched wine lees with enhanced bioactivity in hypertensive rats. *Antioxidants* 10: 1–18.

Martin M, Deussen A (2019) Effects of natural peptides from food proteins on angiotensin converting enzyme activity and hypertension. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 59: 1264–1283.

Rodríguez C, González F, Torres J, Garcia S, Vallejo B (2012) Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides produced in fermented milk by specific wild *Lactococcus lactis* strains. *Journal of Dairy Science* 95: 5536–5543.

Sompinit K, Lersiripong S, Reamtong O, Pattarayingsakul W, Patikarnmonthon N, Panbangred W (2020) In vitro study on novel bioactive peptides with antioxidant and antihypertensive properties from edible rhizomes. *Lwt* 134: 110227.

Wu N, Xu W, Liu K, Xia Y, Shuangquan (2019) Angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides from *Lactobacillus delbrueckii* QS306 fermented milk. *Journal of Dairy Science* 102:7 5913–5921.

Yao L, He W, Wu G, Chen J, Hu W, Yu J (2019) Purification of Angiotensin-I-Converting enzyme inhibitory peptides derived from *Camellia oleifera* Abel seed meal hydrolysate. *Journal of Food Quality* 2019.

RESUMEN

Los compuestos curcuminoides son una familia de 3 sustancias fitoquímicas (Curcumina, Demetoxicurcumina y Bisdemetoxicurcumina) presentes en la raíz de la *Cúrcuma longa*, estas presentan un par de anillos fenólicos con grupos metoxilo e hidroxilo los cuales les confieren características colorimétricas y antioxidantes. Actualmente este complejo se emplea como ingrediente alimenticio e incluso como colorante natural de tonalidades amarillas-anaranjadas como sustituto de la tartrazina y el amarillo 6. Sin embargo, a raíz del estudio de la curcumina, también conocida como ácido turmérico, su uso comienza a extenderse al área de la salud como coadyuvante en el tratamiento de distintas enfermedades. En la presente revisión se describe la actividad farmacológica de los compuestos curcuminoides.

Palabras clave: *Cúrcuma*, curcumina, farmacología, antioxidante.

ABSTRACT

Curcuminoid compounds are a family of 3 phytochemical substances (Curcumin, Demethoxycurcumin and Bisdemethoxycurcumin) present in the root of *Curcuma longa*, these have a pair of phenolic rings with methoxy and hydroxyl groups which give them colorimetric and antioxidant characteristics. Currently this complex is used as a food ingredient and even as a natural colorant of yellow-orange tones as a substitute for tartrazine and yellow 6. However, as a result of the study of curcumin, also known as turmeric acid, its use begins to spread to the area of health as an adjuvant in the treatment of different diseases. In this review, the pharmacological activity of curcuminoid compounds is described.

Keywords: Turmeric, curcumin, pharmacology, antioxidant.

COMPUESTOS CURCUMINOIDES UNA POSIBLE SOLUCIÓN NATURAL PARA TRATAR EL CÁNCER

Sánchez-Arenas José Carlos, Tapia López Lilia, García Meza María Guadalupe, Ocaranza-Sánchez Erik.
Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional (CIBA-IPN), Tlaxcala,
90700, México
jsancheza2006@alumno.ipn.mx, eocaranza@ipn.mx

I. INTRODUCCIÓN

La *Cúrcuma longa* es una planta que pertenece a la familia Zingiberaceae y es venerada por muchas culturas debido a que se le atribuye un sinnúmero de beneficios a la salud. El nombre de cúrcuma deriva del árabe antiguo de la planta Kurkum, que significa azafrán (FOOD-INFO, 2015).

Es una planta herbácea que alcanza casi 1 metro de altura, de hojas largas de color verde que miden entre 38 y 45 cm de anchura y presenta flores de color blanco-amarillo (Figura 1).



Figura 1 Flor de *Cúrcuma longa*

Su raíz es ramificada con piel de color café anaranjado, cilíndrico y muy aromático debido a los aceites esenciales que presenta ver Figura 2, en el centro, el color es de tonalidades naranjas a amarillas debido a los compuestos curcuminoides que presenta (Castillo & Clapé, 2011). Actualmente su uso en la cocina internacional se ha difundido y su consumo como condimento se ha internacionalizado. Específicamente en México su consumo se ha incrementado significativamente.

El principal componente en la cúrcuma es la curcumina (77%) (Perez, 2014), también conocida como ácido



Figura 2 Raíz de *Cúrcuma longa*

turmérico ((E,E)-1,7-bis(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona) (Figura 3). Este compuesto fue aislado por primera vez en 1815, tiene un punto de fusión de 183 °C, es soluble en alcohol y ácido acético glacial e insoluble en agua y éter. Recientemente, diferentes estudios han demostrado que tiene propiedades antioxidantes similares a la vitamina C y E.

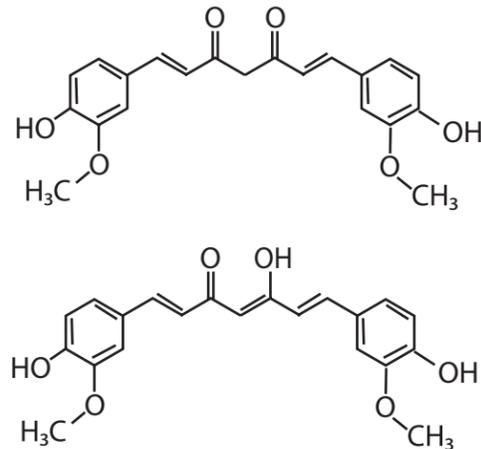


Figura 3 Molécula de curcumina

La demetoxicurcumina representa el 17% del total de los compuestos curcuminoides. Esta molécula pierde un grupo metoxilo del anillo aromático, ver Figura 4, presenta características similares a la molécula de curcumina, y se ha demostrado que tiene mayor resistencia a la degradación alcalina (Delgado, 2002).

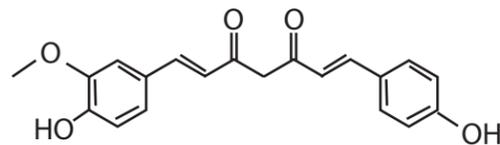


Figura 4 Molécula de demetoxicurcumina

Por su parte la bisdimetoxicurcumina es el tercer integrante de esta familia, representa el 5% del total de curcuminoides, ver Figura 5, (Jiang, Ghosh, & Charcosset, 2021), esta molécula pierde sus dos grupos metoxilo y son sustituidos por hidrógenos.

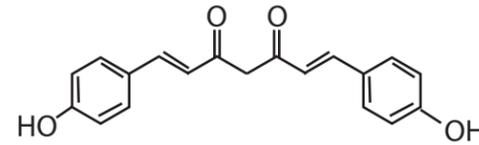


Figura 4 Molécula de demetoxicurcumina

II. ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA

Como se describió anteriormente las moléculas que conforman los compuestos curcuminoides comparten características similares entre ellas el par de anillos fenólicos, los cuales les confieren actividad farmacológica y antioxidante (Alvis & et al., 2011).

Estudios han demostrado que la capacidad citoprotectora, hepatoprotectora e inmunomoduladora es mediada por la fuerte capacidad antioxidante, de conjugación y de protección del ADN de los linfocitos contra el daño peroxidativo (Ramsewak & DeWitt, 2000).

El principal mecanismo de acción antioxidante que tienen estos fitoquímicos es favorecer la expresión de enzimas relacionadas con procesos redox, como la glutatión-sintasa (GTS) o el citocromo P450 oxidasa (CYP-450), capaces de neutralizar las especies reactivas de oxígeno (Gryniewicz & Ślifierki, 2012). Además, estos compuestos tienen propiedades antiinflamatorias al inhibir la síntesis de prostaglandinas.

Se ha demostrado que la demetoxicurcumina tiene un fuerte efecto inhibitorio en la enzima acetilcolinesterasa en la corteza frontal y en hipocampo, enzima encargada de la disminución de los impulsos nerviosos, por lo que su inhibición tiene un efecto favorable en la actividad neuronal y de la memoria siendo un posible tratamiento a las personas que sufren Alzheimer. (Chen & et al., 2018)

Con respecto a su aplicación en control de diabetes, se ha demostrado que la curcumina y sus análogos tienen un mecanismo de acción similar al de la tiazolidinediona, un fármaco antidiabético que se une a moléculas PPAR γ , los cuales son receptores que ayudan a disminuir la resistencia a la insulina (Nishiyama & et al., 2005). Además, que por sí sola la molécula presenta características hipoglucemiantes al atenuar los niveles de TNF- α el cual es una molécula proinflamatoria relacionada con la obesidad y el desarrollo de la diabetes tipo II (Mohamed & et al., 2011).

Su acción farmacológica también abarca al hígado, ya que se ha demostrado que los extractos de curcuminoides

tienen efectos hepatoprotectores atribuidas a su efecto antioxidante y al regular los genes Nrf2, lo que aumenta la concentración de glutatión en el tejido hepático el cual es otra molécula con actividad antioxidante sintetizada por el organismo evitando el daño tisular, la disminución de la bilirrubina total en las actividades de las transaminasas y el aumento de las proteínas séricas (Haroon & et al., 2019)

Desde el punto de vista microbiano, se han hecho estudios in vitro con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) donde se demostró la inhibición del gen HIV-LTR el cual participa en los procesos de replicación del virus VIH (Sahdeo & Tyagi, 2015). Para hongos, se ha demostrado que los curcuminoides poseen actividad proteolítica en las células fúngicas de hongos patógenos como *Pythium aphanidermatum*, *Trichoderma viride* y *Fusarium sp* (Nagarathnam & Rengasamy, 2010).

También se ha demostrado su actividad antibacteriana, siendo más selectiva a bacterias Gram positivas que a Gram negativas, especies como *Streptococcus pyogenes*, *S. aureus*, *cinetobacter lwoffii*, *Enterococcus. Faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa* muestran nulos crecimientos en presencia de estos fitoquímicos. Se ha propuesto diferentes mecanismos de acción que van desde evitar la adhesión en tejidos, dañar las membranas bacterianas, incrementar la actividad de antibióticos y estimular la apoptosis celular (Sharifl & et al., 2020)

III. EFECTOS SOBRE LAS CÉLULAS CANCERÍGENAS

El cáncer es una de las enfermedades más comunes a nivel mundial, tan solo en el año 2020 se registraron aproximadamente 19 millones de nuevos casos, siendo el cáncer de seno y colon los más frecuentes (OMS, 2021).

Esta enfermedad se origina por la proliferación descontrolada de las células logrando afectar cualquier órgano o tejido, como el pulmón o la sangre. Su origen puede ser genético o inducido por factores ambientales como la radiación o el estilo de vida.

Existen alrededor de 100 tipos de cáncer que por lo general se nombran dependiendo del tejido dañado. Entre los más comunes encontramos el carcinoma, el cual se forma en las células epiteliales, el sarcoma que afecta huesos y tejidos blandos, la leucemia que ataca la médula ósea y modifica la replicación de los glóbulos blancos en sangre y los linfomas cuyo blanco son los linfocitos, células encargadas de la respuesta inmune (NIH, 2015).

Se ha demostrado que los compuestos curcuminoides inducen la apoptosis in vitro de varias líneas de células tumorales como las del cáncer de mama, de pulmón, del melanoma humano, de líneas celulares de leucemia y de

células cancerígenas de próstata, además se han realizado estudios en modelos experimentales, donde se ha demostrado su capacidad para inhibir las metástasis intrahepáticas (Bengmark & Mesa, 2009). Los mecanismos que tienen estos compuestos se fundamentan en la activación/inhibición de vías de señalización que ocurren dentro de las células, tal es el caso de la vía PI3K / AKT la cual se encarga de funciones como la proliferación, el crecimiento y la apoptosis celular donde los curcuminoides suprimen esta vía, provocando una inhibición de la proliferación celular e inducción de la apoptosis. (Yan & et al., 2009).

Otra vía de señalización importante es la mediada por JAK / STAT la cual tiene efectos sobre la supervivencia, la proliferación y la invasión de las células tumorales. La curcumina puede inhibir la proliferación, migración e invasión celular, además de promover la apoptosis mediante la regulación y expresión de miR-99, gen que inhibe los fenotipos agresivos tumorales, modificando la vía de señalización JAK / STAT (Li, Sun, & Et al, 2018).

Un de los efectos más importantes que pueden tener los compuestos curcuminoides, se centran en la regulación del denominado gen guardián del genoma el "p53", el cual se considera como un gen supresor de tumores con una extensa variedad de mecanismos celulares, incluida la reparación del ADN, la apoptosis y la detención del ciclo celular. En más del 50% de todos los casos de pacientes con cáncer este gen se ha visto modificado por alguna mutación (Wang & et al., 2021), por lo cual lo hace blanco de estudio para el desarrollo de nuevos fármacos.

Los compuestos curcuminoides en especial la curcumina tienen un efecto antiproliferativo y actúa como un agente proapoptótico al activar el gen p53 y regular diferentes proteínas apoptóticas (Talib & et al., 2018).

IV. CONCLUSIONES

Los compuestos curcuminoides al igual que el ácido turmérico, son compuestos con posibles aplicaciones en el campo de la salud, Derivado de sus efectos positivos ya estudiados en la prevención y tratamiento de varias enfermedades como el cáncer.

La rentabilidad y su capacidad de tener varias aplicaciones farmacológicas los convierten en un agente ideal para el desarrollo de más fármacos o complementos alimenticios funcionales que contengan estos compuestos.

V. BIBLIOGRAFÍA

Alvis, A., & et al. (2011). Evaluación de la Actividad y el Potencial Antioxidante de Extractos Hidro-Alcohólicos de Cúrcuma (*Curcuma longa*). Información Tecnológica, 11-18.

Bengmark, & Mesa. (2009). Plant-derived health - the effects of turmeric and curcuminoids. *Nutrición Hospitalaria*.

Castillo, A., & Clapé, O. (2011). Avances en la caracterización farmacotoxicológica de la planta medicinal. *MEDISAN*, 16 97.

Chen, & et al. (2018). Use of curcumin in diagnosis, prevention, and treatment of Alzheimer's disease. *Neural Regen Res*, 742-752.

Delgado, V. F. (2002). Colorantes naturales para usos alimenticios y nutraceuticos. NW: CRC PRESS.

FOOD-INFO. (2015). The multilingual food information site. Obtenido de FOOD-INFO: <http://www.food-info.net/>

Gryniewicz, & Jilifski. (2012). Curcumin and curcuminoids in quest for medicinal status. *Acta Biochim Pol*.

Haroon, & et al. (2019). Mechanistic insights of hepatoprotective effects of curcumin: Therapeutic updates and future prospects. *Food and Chemical Toxicology*, 182-191.

Jiang, T., Ghosh, R., & Charcosset, C. (2021). Extraction, purification and applications of curcumin from plant materials-A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 419-430.

Li, Sun, & Et al. (2018). Curcumin inhibits proliferation, migration, invasion and promotes apoptosis of retinoblastoma cell lines through modulation of miR-99a and JAK/STAT pathway. *BMC Cancer*.

Mohamed, & et al. (2011). The antihyperglycemic effect of curcumin in high fat diet fed rats. Role of TNF- α and free fatty acids. *Food and Chemical Toxicology*, 1129-1140.

Nagarathnam, & Rengasamy. (2010). Purification and properties of cysteine protease from rhizomes of *Curcuma longa* (Linn.). *J Sci Food Agric*, 97-105.

NIH. (09 de Febrero de 2015). NIH. Obtenido de INSTITUTO NACIONAL DEL CÁNCER: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es>

Nishiyama, & et al. (2005). Curcuminoids and Sesquiterpenoids in Turmeric (*Curcuma longa* L.) Suppress an Increase in Blood Glucose Level in Type 2 Diabetic KK-Ay Mice. *Agric. Food Chem*, 959-963.

OMS (2021). International Agency for Research on Cancer. Obtenido de <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-fact-sheets.pdf>

Perez, U. E. (2014). Cúrcuma I (*Curcuma longa* L.). *Reduca (Biología)*. Serie Botánica, 84-99.

Ramsewak, & DeWitt. (2000). Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of curcumins I-III from *Curcuma longa*. *Phytomedicine*.

Sahdeo, & Tyagi. (2015). Curcumin and its analogues: a potential natural compound against HIV infection and AIDS. *Food & Funct*, 3412-3419.

Sharifl, & et al. (2020). Anti-microbial activity of curcumin nanoformulations: New trends and future perspectives. Wiley.

Talib, & et al. (2018). Role of curcumin in regulating p53 in breast cancer: an overview of the mechanism of action. *Breast Cancer (Dove Med Press)*, 207-217.

Wang, & et al. (2021). Curcumin Regulates Cancer Progression: Focus on ncRNAs and Molecular Signaling Pathways. *Frontiers in Oncology*.

Yan, & et al. (2009). MicroRNA-1/206 targets c-Met and inhibits rhabdomyosarcoma development. *J Biol Chem*.



RESUMEN

La zanahoria morada (*Daucus carota sativus* var. *Atrorubens*), popularmente conocida como zanahoria negra es una raíz proveniente de Oriente, más específicamente de Afganistán, esta se puede consumir en distintos platillos. La principal característica de la zanahoria negra es su contenido de antocianinas, estas son las que le dan la tonalidad púrpura intensa; además que confieren beneficios a la salud como aumentar agudeza visual y cognitiva, previenen el estrés oxidativo por su poder antioxidante, disminuyen la probabilidad de tener cáncer, etc. Por sus características las antocianinas de zanahoria negra han llamado la atención para su uso como reemplazo de colorantes artificiales en alimentos y bebidas pues da una gran gama de colores entre rojos y azules y presentan una estabilidad alta en un rango de pH amplio y pueden producir productos de alto valor agregado.

Palabras clave: Zanahoria negra, antocianinas, colorante natural

ABSTRACT

The purple carrot (*Daucus carota sativus* var. *Atrorubens*), popularly known as black carrot, is a root from the East, more specifically from Afghanistan, it can be consumed in different dishes. The main characteristic of the black carrot is its content of anthocyanins, these are what give it the intense purple hue; In addition, they confer health benefits such as increasing visual and cognitive acuity, preventing oxidative stress due to their antioxidant power, reducing the probability of having cancer, etc. Due to their characteristics, black carrot anthocyanins have attracted attention for their use as a replacement for artificial colors in foods and beverages, since they give a wide range of colors between red and blue and have high stability in a wide pH range and can produce products high added value.

Keywords: Black carrot, anthocyanins, natural coloring

BENEFICIOS Y PROPIEDADES DE LA ZANAHORIA, PERO ¿MORADA?

De Gante-Villegas Samantha, García Meza María Guadalupe, Tapia López Lilia, Ocaranza-Sánchez Erik
 Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional (CIBA-IPN), Tlaxcala,
 90700, México
 sdegantev2000@alumno.ipn.mx, eocaranza@ipn.mx

I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, la zanahoria es una raíz de consumo importante. La raíz se puede consumir de distintas formas desde cruda, hervida, procesada, en jugo, ensalada y conservas.

La zanahoria (*Daucus carota*), es una especie originaria de Asia Central, particularmente de Afganistán. Los primeros indicios de su domesticación datan en Irán y Afganistán 3000 años a.C. Sin embargo, fue a partir del siglo XVI que se expandió por toda Europa y al resto del mundo (Vergara, Zamora, Álvarez, Kehr, & Pino, 2019).

La zanahoria, es una raíz que en la actualidad normalmente la podemos encontrar de color naranja, sin embargo, existen diversas variedades de color como blancas, amarillas, rojas y moradas o negras. En el Antiguo Egipto, la variante más popular que cultivaban era la variante negra, la cual no solo se usaba como alimento sino también como medicina (Leyva L. , 2020).

La zanahoria morada (*Daucus carota sativus* var. *Atrorubens*), popularmente se le conoce como zanahoria negra es parte del grupo oriental de zanahorias, que proceden de las regiones de Cachemira-Afganistán-Turquestán (Fernán, 2021); pertenece a la familia Umbelliferae (Tabla 1), estas contienen beneficios muy similares a los aportados por distintos frutos rojos como arándanos, ciruelas, uvas o granadas, y esto es debido al colorante natural que contienen dentro de su tejido vegetal conocido como antocianinas que tiene un alto poder antioxidante.

Tabla 1 Clasificación Taxonómica de la zanahoria negra

Nombre común	Zanahoria negra o morada
Nombre Científico	<i>Daucus carota sativus</i> var. <i>Atrorubens</i>
Clase	Magnoliopsida
Familia	Umbelliferae/Apiaceae
Género	Daucus
Especie	Carota
Tipo	Raíz / hortaliza
Características de la raíz	Grueso, de tamaño mediano y punta redondeada o cónica (dependiendo de la variedad).
Color de su piel y carne	Púrpura intensa, m uy o scuro, p ero en algunas variedades esta intensidad se pierde casi por completo en la parte central de la raíz.

(Ávila, 2015, EcolInventos, 2020, Ruiz, 2013)

La zanahoria negra es una planta que se puede clasificar de 2 formas según el tiempo que tarde en desarrollarse anual o bianual (Ávila, 2015), siendo el segundo el más común; la planta se adapta a climas templados, pero para germinar es mejor el clima frío (15 - 25 °C). Se caracteriza por tener dos etapas de crecimiento: etapa vegetativa y etapa reproductiva. En la primera etapa la planta produce un tallo muy comprimido al ras de suelo y una roseta de hojas, acumulando reservas carbonadas en su raíz (Alessandro, 2013), la etapa reproductiva ocurre a bajas temperaturas y es aquí donde hay una elongación del tallo y floración; los colores de las flores de zanahoria cultivadas suelen ser blancos y las hojas de zanahoria son hojas compuestas (Feng, et.al. 2019), sus

semillas llegan alcanzar una longitud entre 1.5-1.6 cm.

Con respecto al cultivo de zanahoria negra el riego es un punto crítico para considerar, este cultivo tiene 3 momentos importantes. El inicial requiere riego corto y frecuente. El punto intermedio que comprende la etapa de elongación de la raíz donde se debe disminuir el riego tanto en tiempo como en aplicación y la última etapa donde se debe aumentar el riego para que exista un engrosamiento de la raíz. El tiempo de cosecha abarca entre 17-21 semanas después de la siembra, esta puede verse afectada por fecha de siembra y zona de cultivo. Es necesario verificar cantidad de color y tamaño del diámetro de la raíz el cual comprende entre 4-5 cm (Vergara, Zamora, Álvarez, Kehr, & Pino, 2019), con el fin de obtener mejores resultados.

Una característica de la zanahoria negra es que su exterior si bien es de una tonalidad púrpura intensa, casi negra, el centro de la raíz suele ser amarillo o naranja; por ello existen en el mundo algunas variedades más populares como: Purple Haze, Índigo, Granate, Dragón Púrpura, Púrpura cósmica, Caballero oscuro, Pusa Asita Black, Sol morado y Púrpura holandés (Leyva L. , 2020, Taskiran, s.f.), donde el centro no tiene o es mínimo el color amarillo o naranja.

En base a la investigación realizada por Ryszard et al. (2010), en distintas muestras tanto en forma fresca como después de un proceso de secado, la composición química de la zanahoria negra está representada en la Tabla 2.

Tabla 2 Características de la composición química de la zanahoria negra.

Discriminante	Contenido medio en fresco zanahoria	Contenido medio en seco importar
Azúcares reductores [g en 100 g]	4.89 ± 0,06	43.08 ± 0.56
Azúcares totales [g en 100 g]	7.95 ± 0,04	70.04 ± 0,37
Vitamina C [mg en 100 g] Acidez total	1,68 ± 0,04	14.80 ± 0,31
[g en 100 g] Carotenoides totales	0,19 ± 0,01	1,67 ± 0,12
[mg en 100 g]	1,93 ± 0,10	17,00 ± 0,93
acc. a Morison	0,57 ± 0,03	5,02 ± 0,25
Pectina [g en 100 g] acc. a Carre-Haynes	1,03 ± 0,06	9,08 ± 0,50
Compuestos fenólicos totales [mg en 100 g]	248.07 ± 4.21	2185,72 ± 37.13
Antocianinas [mg en 100 g]	44.25 ± 3,90	389,91 ± 34,38
Materia seca [g en 100 g]	11.35 ± 0,03	-

(Ryszard, Beata, Sylwester, & Dorota, 2010).

Con respecto al sabor de la zanahoria negra, este no difiere mucho de otras zanahorias disponibles en el mercado.

II. COMPUESTO FUNCIONAL EN LA ZANAHORIA NEGRA: ANTOCIANINAS

Como ya se mencionó, la principal característica o diferencia de la zanahoria negra con respecto a otras zanahorias es su contenido de antocianinas, por las cuales se ha destacado en diversas investigaciones por sus múltiples beneficios y aportes de color al ser incorporadas a distintas matrices alimentarias dando así productos funcionales y llamativos para el consumidor.

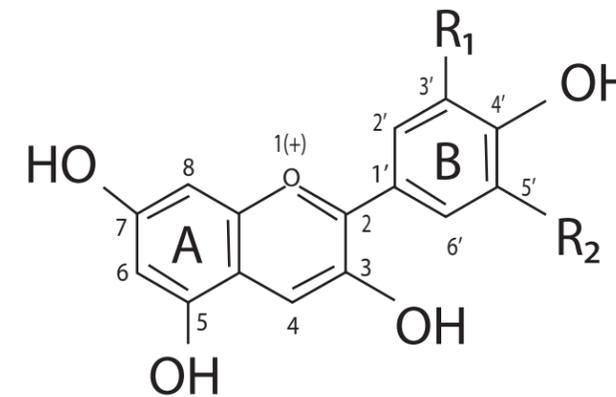
Las antocianinas (del griego *anthos*, flor y *kyanos*, azul), están consideradas como una subclase de los flavonoides; son un grupo de pigmentos de color rojo, hidrosolubles, ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Fennema, 1993). Estas son responsables de un amplio número de colores visibles al ojo humano como azul, púrpura y rojo (Rosales, 2018) que están contenidos en diversas estructuras vegetales como flores, frutos, vegetales y cereales.

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, su estructura básica es el catión 2-fenilbenzopirilio (ion flavilio), que contiene 2 anillos aromáticos, un anillo benzopirilo (A) y un anillo fenólico (B) unidos por una cadena de 3 Carbonos (Garzón, 2008; Leyva, 2009); todas las antocianinas están hidroxiladas en las posiciones C-3, C-5 y C-7, sin embargo, la existencia de diferentes antocianinas se deben normalmente por hidroxilación y/o metilación en el anillo B (Aguilera , Reza, Chew, & Meza, 2011), en las posiciones C-3' (R1) y C-5' (R2) (Figura 1).

En la naturaleza las antocianidinas se encuentra glicosiladas; o sea unidas a algún azúcar mediante un enlace β-glicosídico con lo cual se les denomina antocianinas (Rocha, 2012). Se conocen aproximadamente 20 antocianidinas, las más importantes son pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, las primeras son más comunes en frutas y vegetales, y el resto en flores; la combinación de estas con diferentes azúcares puede generar aproximadamente 300 antocianinas (Badui, 2006). El azúcar normalmente se une en las posiciones C-3 (anillo C), C-5 y C-7 (anillo A) (Rosales, 2018); los azúcares más encontrados son: glucosa, ramnosa, galactosa, xilosa y arabinosa y, ocasionalmente, gentiobiosa, rutinosa y soforosa. Otra posible variación en la estructura es la acilación de los residuos de azúcares de la molécula con ácidos orgánicos (Garzón, 2008).

Por la deslocalización de los electrones dentro de la estructura, el catión flavilio absorbe a mayores longitudes de onda de 520 nm hasta 546 nm. En el caso de la metilación se observa un efecto batocrómico, es decir, desplazamiento de la absorción máxima, por tanto, la petunidina y malvinidina absorben a 543 y 542 nm (Badui, 2006).

En las plantas, las antocianinas fungen como protectores



Aglicona	Substitución		λ_{max} (nm)
	R1	R2	Espectro visible
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH3	OCH3	510 (azul-rojo)

Figura 1 Estructura y sustituyentes de las antocianinas (Durst y Wrolstad, 2001 citado por Garzón, 2008).

contra la luz intensa formando pantallas que absorben la luz y eliminando especies reactivas de oxígeno cuando sufren estrés lumínico (Hughes, Neufeld, & Burkey, 2005).

III. CONSUMO

La zanahoria negra se puede consumir en diferentes variantes de platillos como cualquier otra zanahoria con la ventaja de que a su incorporación se obtienen colores llamativos e interesantes, dependiendo a la vez de la acidez del platillo, a si se pueden elaborar: sopas, cremas, guisos, ensaladas, postres, hornearlas, como refrigerio crudo o simplemente en jugo (Leyva L. , 2019), pero si existe la posibilidad de consumir una bebida típica de Turquía elaborada a partir de esta zanahoria negra sería el “Şalgam Suyu” que además incorpora trigo bulgur, sal y levadura.

Actualmente el uso de zanahoria negra como colorante natural se ha intensificado principalmente en productos lácteos, confites, snacks, bebidas y pastelería, sin embargo, preferentemente es usado en alimentos de acidez intermedia con el fin de asegurar que el catión flavilio sea el predominante y así obtener tonalidades rojizas más brillantes.

IV. BENEFICIOS

En recientes años el consumo de zanahoria negra ha llamado la atención debido a su cantidad de antocianinas contenidas y a otros componentes que están de la misma forma incluidos dentro de esta como fibra, vitamina A, carotenoides, compuestos fenólicos, etc., por ello se han realizado muchas investigaciones con respecto a los beneficios que pueden

aportar en materia de la salud humana.

Por ejemplo, las zanahorias negras pueden aportar vitamina A y carotenoides que ayudan a aumentar agudeza visual y mejorar el aspecto de la piel (González, 2019); son extremadamente ricas en fibra dietética que ayudará a estimular el movimiento peristáltico y mejorará la absorción de nutrientes en el intestino (Fernán, 2021).

Las antocianinas de zanahoria negra pueden reducir e inhibir proliferación de células cancerosas y tumores, ayudan al control de función cognitiva y motora, mejorar la memoria, previenen disminución de la función neural, también fungen como protectoras contra enfermedades cardiovasculares (Lila, 2004) que se relacionan con el estrés oxidativo, el cual se ve disminuido ya que ha demostrado que las antocianinas son potentes antioxidantes al aumentar superóxido dismutasa (SOD) y disminuyendo el malondialdehído sérico (MDA) (Khanna, Jaiswal, & Gupta, 2017); la Dr. Anneline Padayachee de la Universidad de Queensland, menciona que la combinación de la fibra y antocianinas de zanahoria negra ayudan a la protección contra cáncer de colon, porque la fibra no solo funge como un "limpiador", sino que además funciona como un transporte de polifenoles hasta el colon (Padayachee, y otros, 2012).

Se debe recalcar que el consumo de la zanahoria negra suele ser seguro, pero al igual que cualquier otra zanahoria esta variedad está contraindicada en personas alérgicas, pues de lo contrario pueden experimentar efectos secundarios como hinchazón, erupciones cutáneas y problemas estomacales (Leyva L., Zanahoria Morada, 2019).

V. APLICACIONES EN LOS ALIMENTOS

En la industria alimentaria el uso de colorantes permite que los productos elaborados mantengan colores propios de las sustancias frescas o, simplemente, aportan colores más atractivos al alimento (Cabello & Callo, 1996); es así que se ha iniciado una búsqueda con el fin de incorporar las antocianinas de zanahoria negra a los alimentos por sus beneficios posibles; como reemplazo de colorantes artificiales, que han demostrado tienen consecuencias negativas y por las cuales los consumidores actuales han tomado más conciencia en su consumo de estos al grado de evitar tanto alimentos como bebidas que contengan dichos colorantes artificiales (Gómez, 2016).

Las antocianinas presentes en la zanahoria negra están clasificadas según la FDA (Administración de Drogas y alimentos por sus siglas en inglés), como un colorante exento de certificación debido a su origen vegetal y se encuentra denominado como E-163 (Flavorix, 2012), estas antocianinas son estables en condiciones de pH ácido y es gracias a esto que pueden aplicarse a diversas matrices alimentarias como: jaleas, jugos, confites, mermeladas y productos lácteos en

forma de colorante natural; pero como se menciona el uso de estos pigmentos tiene como limitante el pH del alimento o bebida donde se aplique pues las antocianinas a pH altos (alcalinos), reducen su intensidad y aumentan la tonalidad azul, que además puede producir las formas hemiacetal y quinoidal azules o incoloras, menos estables y más fáciles de degradarse; otro factor que se debe considerar es la temperatura, es recomendable que para conservar el color proveniente de las antocianinas se incorpore un sistema de alta temperatura-corto tiempo, para evitar degradación (Badui, 2006).

VI. CONCLUSIONES

La inclusión de zanahoria negra en la dieta diaria aporta grandes beneficios a la salud y da una ventaja tecnológica y funcional en su aplicación en la industria de alimentos.

Aunque la ingesta de antocianinas a nivel mundial va incrementando debido a que los extractos y jugos de frutas y vegetales con alto contenido de estas es más accesible. Aun es necesario que su incorporación al mercado nacional sea normalizada al igual que a los hábitos nutricionales de la población mediante una propagación más efectiva, para poder beneficiarnos de todos los atributos que nos pueden aportar. Las antocianinas contenidas en la zanahoria negra aportan muchos beneficios a la salud y al incorporarse como ingrediente en diferentes alimentos y bebidas con acidez preferentemente intermedia, generando productos de alto valor agregado en la industria de alimentos, farmacéuticos y cosméticos.

Aún existen muchas limitaciones con respecto al uso industrial de antocianinas. Sin embargo, con el continuo desarrollo tecnológico e investigación se podrá comprender más respecto a su estabilidad, actividad biológica en función de su estructura e interacción con componentes nutricionales.

VII. BIBLIOGRAFIA

- Aguilera, M., Reza, M., Chew, R., & Meza, J. (2011). PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS ANTOCIANINAS. *Biotecnia*, 16-22.
- Alessandro, M. S. (2013). Características botánicas y tipos varietales. En J. C. Gaviola, *MANUAL DE PRODUCCIÓN DE ZANAHORIA* (págs. 27-46). Argentina: INTA.
- Ávila, E. (2015). Zanahoria. En *Manual Zanahoria* (págs. 10-17). Bogotá: Cámara de Comercio de Bogotá.
- Badui, S. (2006). *Química de los Alimentos*. Edo. de México: Pearson Educación de México, S.A. de C.V.
- Cabello, I., & Callo, N. (Diciembre de 1996). COLORANTES EN ALIMENTOS: NATURAL O SINTETICO? *Revista de Química*, X(2), 271.

EcolInventos. (30 de 7 de 2020). <https://ecoinventos.com/>. Obtenido de <https://ecoinventos.com/propiedades-beneficios-zanahorias-moradas/>

Feng, Q., Xi-Lin, H., Guang-Long, W., Zhi-Sheng, X., Guo-Fei, T., Tong, L., Ai-Sheng, X. (2019). Advances in research on the carrot, an important root vegetable in the Apiaceae family. *Horticulture Research*, 2-15.

Fennema, O. (1993). *Química de los alimentos*. Zaragoza, España: Acribia, S.

Fernán, Á. (1 de Julio de 2021). Obtenido de <https://www.ateneadigital.es/zanahorias-moradas-o-negras-propiedades-y-beneficios/>

Flavorix. (2012). <http://flavorix.com/>. Obtenido de <http://flavorix.com/producto/colorante-natural-antocianina-e-163/>

Garzón, G. (2008). LAS ANTOCIANINAS COMO COLORANTES NATURALES Y COMPUESTOS BIOACTIVOS: REVISIÓN. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 27-36.

Gómez, E. (2016). *ainia.es*. Obtenido de <https://www.ainia.es/tecnoalimentaria/consumidor/colorantes-naturales-tendencias-en-alimentacion-y-otros-productos-de-consumo/>

González, C. (12 de 09 de 2019). *mujer hoy*. Obtenido de <https://www.mujerhoy.com/vivir/bienestar/201909/12/zanahoria-negra-propiedades-beneficios-20190912120854.html>

Hughes, N., Neufeld, H., & Burkey, K. (2005). Functional role of anthocyanins in high-light winter leaves *www.newphytologist.org* 575 Research Blackwell Publishing, Ltd. Functional role of anthocyanins in high-light winter leaves. *New Phytologist*, 575-587.

Khanna, S., Jaiswal, K. S., & Gupta, B. (2017). Managing Rheumatoid Arthritis with Dietary Interventions. *Frontiers in nutrition*, 52.

Leyva, L. (30 de Marzo de 2020). Obtenido de www.tuberculos.org/: <https://www.tuberculos.org/zanahoria/#Cual-es-el-origen-de-la-zanahoria>

Leyva Luis. (10 de Noviembre de 2019). Obtenido de

<https://www.tuberculos.org/zanahoria/morada/>

Leyva, D. (Septiembre de 2009). DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS, FENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN LICORES Y FRUTO DE MORA. Tesis. Huajuapán de León, México: Universidad Tecnológica de la Mixteca. Obtenido de http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10876.pdf

Lila, M. A. (2004). Anthocyanins and Human Health: An In Vitro Investigative Approach. *Journal of biomedicine & biotechnology*, 306-313.

Padayachee, A., Netzel, G., Netzel, M., Day, L., Zabaras, D., Mikkelsen, D., & Gidley, M. (2012). Binding of polyphenols to plant cell wall analogues – Part I: Anthocyanins. *Food Chemistry*, 155-161.

Rocha. (2012). Obtenido de <https://es.calameo.com/https://es.calameo.com/read/001752202857207341572>

Rosales, V. (Febrero de 2018). Estabilidad gastrointestinal y bioactividad in vitro de antocianinas aisladas de zarzamora, fresa y cáscara de uva de vino en función de la presencia de iones divalentes de hierro, zinc, magnesio y calcio. Tesis. San Luis Potosí, México: Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Ruiz, M. (30 de 3 de 2013). Directo al paladar. Obtenido de <https://www.directoalpaladar.com/ingredientes-y-alimentos/la-zanahoria-morada-una-raiz-que-se-recupera-del-olvido#:~:text=Son%20ricas%20en%20vitamina%20A,que%20act%C3%BAan%20como%20poderosos%20antioxidantes.>

Ryszard, Z., Beata, P., Sylwester, C., & Dorota, O. (2010). CHARACTERISTICS OF THE BLACK CARROT (DAUCUS CAROTA SSP. SATIVUS VAR. ATRORUBENS). *POLISH JOURNAL OF NATURAL SCIENCES*, 438-443.

Taskiran, G. (s.f.). Obtenido de <https://es.ephesossoftware.com/https://es.ephesossoftware.com/articles/outdoors/are-there-black-carrots.html>

Vergara, C., Zamora, O., Álvarez, F., Kehr, E., & Pino, M. T. (27 de Mayo de 2019). Zanahoria morada: potencial materia prima para color y antioxidante en Chile. *Instituto de investigaciones agropecuarias*, 38, 1-8.





INVESTIGACIÓN +

POSGRADOS

- Maestría en Biotecnología Aplicada
- Maestría en Biotecnología Productiva
- Doctorado en Ciencias en Biotecnología
- Doctorado en Biotecnología Productiva



Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada
Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal
Tecuexcomac - Tepetitla K. 1.5, Tlaxcala, C.P. 90700, México
www.cibatlaxcala.ipn.mx