



ALIMENTOS, CIENCIA E INGENIERÍA

revista.fcial@uta.edu.ec



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

**VOLUMEN 28-1
JUNIO 2021**

ISSN 1390-2180

ALIMENTOS

CIENCIA E INGENIERÍA

Revista de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
Vol. 28-1 2021

EDITORIAL

La innovación en el campo de la ciencia de los alimentos y biotecnología crece a un ritmo tan rápido como la transformación y el suministro de alimentos. Los avances tecnológicos y la investigación deben abordar estos temas para mantener la gran base de datos disponibles para futuros estudios.

Los científicos y la industria han tenido enormes desafíos no solo al tener en cuenta a un consumidor que busca productos saludables, sino que además debe enfrentar la desconfianza de los consumidores y los obstáculos que ofrece el desarrollo de una nueva tecnología.

En este número de “Alimentos Ciencia e Ingeniería”, se reúne a expertos de todo el mundo que proporcionan una perspectiva única para algunas de las áreas ampliamente estudiadas de la ciencia de los alimentos y la biotecnología. Estamos ampliando y enriqueciendo aún más esta revista para fortalecer los vínculos entre la ciencia, tecnología y sociedad.

Dra. Mirari Arancibia Soria

*Decana de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología,
Universidad Técnica de Ambato, Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato,
Ecuador. Tel: +593 (3) 2 400 989. Correo electrónico: revista.fcial@uta.edu.
ec*

TABLA DE CONTENIDO

DESCRIPCIÓN

La revista ALIMENTOS CIENCIA E INGENIERÍA (ACI) es una publicación semestral de artículos técnicos de Tesis de Grado, Trabajos Estructurados de Maneira Independiente, Trabajos de Investigación realizados en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología (FCIAB) de la Universidad Técnica de Ambato (UTA), así como contribuciones de otras Universidades e Instituciones con las cuales la Facultad mantiene convenios de cooperación mediante el intercambio científico y cultural con el propósito de contribuir en la búsqueda de respuestas adecuadas a las necesidades teórico-prácticas en materia de investigación, creación e innovación tecnológica.

AUDIENCIA

La revista ACI cubre una amplia temática enmarcada en los ámbitos de la Ingeniería de Alimentos y la Biotecnología, especialmente en su aspecto aplicado, orientándose a una audiencia compuesta por científicos del área de la química, bioquímica, microbiología y tecnología alimentaria, así como relacionados con la nutrición, empendimiento e innovación.

INDEXACIÓN

Latindex (en Catálogo desde Diciembre 2014)

DIRECTORIO

Dr. Galo Naranjo López,

Rector, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Dra. Mary Elizabeth Cruz Lascano,

Vicerrectora Académica, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Dra. Elsa de los Ángeles Hernández Chérrez,

Vicerrectora de Investigación, Innovación y Vinculación, Universidad Técnica de Ambato(Ecuador)

Ing. Edison Fernando Viera Alulema,

Vicerrector Administrativo, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Dra. Mirari Yosune Arancibia Soria,

Decana FCIAB, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Ing. Alex Fabián Valencia Silva,

Subdecano FCIAB, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Ing. John Paúl Reyes Vásquez,

Director DIDE, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

COMITÉ EDITORIAL

Editor

Dr. Christian Franco Crespo, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Revisores estilo

Dr. Esteban Fuentes Pérez, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Dr. Irvin Tubón Usca, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Revisores internos

Dra. Liliana Cerda Mejía, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)
Dr. William Calero Cáceres, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)
Dr. Mario García Solís, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Revisores Externos

Dra. María Fernanda la Torre Barragán, UNIANDES (Ecuador)
Dr. Alberto Alejandro Aguirre Bravo, Universidad SEK (Ecuador)
Dra. Verónica Alejandra García Ibarra, Universidad Santiago de Compostela (España)

ISSN

1390-2180 (Edición impresa)
2737-6338 (Edición electrónica)

TIRAJE

50 ejemplares impresos en papel

PERIODICIDAD

Semestral (dos números al año)

AÑO DE INICIO DE PUBLICACIÓN

1992 (34 Volúmenes editados hasta la fecha)

REVISTA ELECTRÓNICA

Accesible a través de:

- Sitio web FCIAL: http://fcial.uta.edu.ec/fcial3/index.htm#xl_xr_page_revistaaci
- Plataforma OJS: <http://revistas.uta.edu.ec/revista/index.php/aci/index>

CONVOCATORIA PRÓXIMOS NÚMEROS

Fechas límite (deadlines) para entrega de manuscritos:

- Para publicación en JUNIO 2021:
Recepción de manuscritos hasta: 15 Marzo 2021
- Para publicación en DICIEMBRE 2021:
Recepción de manuscritos hasta: 15 OCTUBRE 2021.

Dirección postal:

Secretaría de la Decanatura de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato, Av. Los Chasquis y Río Payamino, casilla 18-01-0334, Ambato (Ecuador).
Dirección electrónica (Editor): revista.fcial@uta.edu.ec
Teléfono: +593 (03) 2400 987 Ext. 103.

CONTENIDOS

Biotecnología del kéfir: una revisión sobre las aplicaciones y sus perspectivas futuras.....	7
Contaminación alimentaria por hidrocarburos aromáticos policíclicos: impacto en la salud pública y legislación en México.....	35
Estudio de extracción de polifenoles de Thalassia testudinum.....	49
Evaluación fisicoquímica y microbiológica de la extracción de harina de oca por el método tacho abierto.....	58
Formulación y caracterización fisicoquímica y sensorial de un queso semimaduro saborizado tipo andino carchense.....	67
Principios activos de origen biológico para favorecer la inocuidad en frutas y hortalizas.....	85
Tecnologías para el desarrollo de biopolímeros, como una alternativa en la sustitución del plástico (PET).....	94

Biotecnología del kéfir: una revisión sobre las aplicaciones y sus perspectivas futuras

Mauro Cadme¹ Alma Koch¹
mecadme@espe.edu.ec, arkoch@espe.edu.ec
Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE¹

Recibido: 06 de febrero de 2021

Aceptado: 05 de junio de 2021

Resumen

El kéfir ha sido ampliamente utilizado a lo largo de la historia de la humanidad y tiene siglos de legado. Actualmente, sus aplicaciones están directamente relacionadas con la salud del ser humano y además se han desarrollado polímeros cuyas aplicaciones continúan en investigación. Este artículo de revisión pretende realizar un viaje entre sus aplicaciones y las perspectivas futuras.

En los últimos decenios, las demandas de los consumidores en el ámbito de la producción de alimentos han cambiado considerablemente. Los consumidores creen cada vez más que los alimentos contribuyen directamente a su salud (Mollet & Rowland, 2002). Hoy en día, los alimentos no sólo están destinados a satisfacer el hambre y a proporcionar los nutrientes necesarios, sino también a prevenir las enfermedades relacionadas con la nutrición y a mejorar el bienestar físico y mental (Menrad, 2003; Roberfroid, 2000a). A este respecto, los alimentos funcionales desempeñan un papel destacado; su demanda creciente puede explicarse por el costo cada vez mayor de la atención médica, el aumento de la esperanza de vida y el deseo de las personas mayores de mejorar la calidad de sus últimos años (Kotilainen et al., 2006; Roberfroid, 2000a, 2000b).

La gran aceptación de los consumidores, los elevados gastos en salud, la necesidad de mejorar la calidad de vida, retrasar el proceso de envejecimiento, el crecimiento industrial y el desarrollo de nuevos productos hacen del kéfir un producto de alto interés.

Keywords: Bacterias de Ácido Láctico (LAB), fermentación, actividad antioxidante, recombinación.

Abstract

Kefir has been widely used throughout human history, involving centuries of heritage. Nowadays, the applications of this drink are directly related to human health, besides, polymers have been developed and their applications are still being researched. This review article aims to make a journey between the applications that have been given to this drink and the future prospects.

In recent decades, consumer demands in the food production have changed considerably. Consumers increasingly believe that food contributes directly to their health (Mollet & Rowland, 2002). Today, food is not only intended to satisfy hunger and provide the necessary nutrients for humans, but also to prevent nutrition-related diseases and improve the physical and mental well-being of them (Menrad, 2003; Roberfroid, 2000a). In this regard, functional foods play an important role. The growing demand for such foods can be explained by the increasing cost of health care, the steady increase in life expectancy, and the desire of older people to improve the quality of their last years (Kotilainen et al., 2006; Roberfroid, 2000a, 2000b).

The great consumer acceptance, high health costs, the need to improve the quality of life, delay the aging process, industrial growth and the development of new products make kefir a very promising product.

Keywords: Lactic Acid Bacteria (LAB), fermentation, antioxidative activity, recombination.

1. Introducción

Los alimentos funcionales son productos enriquecidos con componentes especiales que poseen efectos fisiológicos ventajosos (Hardy, 2000; Kwak & Jukes, 2001; Stanton et al., 2005). Los alimentos funcionales pueden mejorar las condiciones generales del cuerpo, disminuir el riesgo de algunas enfermedades e incluso usarse como tratamiento (Açik et al., 2020; Ahmed et al., 2013; Vinderola, Duarte, Than-gavel, Perdigon, et al., 2005).

El uso de los probióticos y prebióticos es conocido por la humanidad desde hace siglos y la búsqueda de sus beneficios para la salud está aumentando gracias a las investigaciones centradas en diversos productos alimenticios. Los investigadores tienen un creciente interés en los probióticos de los productos lácteos fermentados (Garrote et al., 2010; Prado et al., 2015). Las investigaciones recientes se concentran en las interacciones entre el huésped y la microbiota, los mecanismos de acción y de desintoxicación que pueden influir en el sistema inmunológico del ser humano o animal (Zajšek & Goršek, 2010).

El kéfir forma parte de los alimentos funcionales de interés actual, su estudio se enfoca en los beneficios en el cuerpo humano así como en la industria (Kim et al., 2019). Al ser el kéfir un tema de actualidad, se desarrolla una investigación profunda de los usos tradicionales, así como de los modernos, mediante biotecnología e ingeniería genética.

1. Kéfir: historia en la humanidad

El kéfir es una antigua bebida de leche fermentada originaria del Cáucaso (Margulis et al., 1997). Se utiliza am-

pliamente para la nutrición humana debido a sus propiedades saludables. Tradicionalmente, la bebida se produce mediante la fermentación de la leche con granos de kéfir, formados por una mezcla de microorganismos (Aryana & Olson, 2017). La mayoría pertenecen al grupo de las bacterias del ácido láctico, pero también contiene levaduras y bacterias del ácido acético (Garrote et al., 2010; Lopitz-Otsoa et al., 2006). Dependiendo de su edad, la bebida resultante es típicamente ácida, de sabor fuerte y parcialmente viscosa (Kabak & Dobson, 2011).

El kéfir es una bebida estimulante y gaseosa tradicionalmente producida a través de la fermentación de diferentes tipos de leche como la de oveja, vaca y cabra, entre otras. Sin embargo, actualmente se han propuesto bebidas alternativas al kéfir, sustituyendo a la leche y aplicando otras fuentes de carbohidratos, como jugos de frutas y melaza (Harta et al., 2004).

El kéfir, tanto de leche como de agua, es obtenido a partir de los granos de kéfir, que tienen una forma similar a la de la coliflor. Son elásticos, irregulares, gelatinosos, de color marfil o blanco y de tamaño variable, entre 0-3 a 3-5 cm de diámetro (Garrote et al., 2010; Gaware et al., 2011). En general, el grano de kéfir se compone de 4,4% de grasa, 12,1% de ceniza, 45,7% de mucopolisacáridos, 34,3% de proteína total (27% insoluble, 1,6% soluble y 5,6% de aminoácidos libres), vitaminas B y K, triptófano, Ca, P y Mg (Marshall & Cole, 1985). Los granos de kéfir pueden conservarse liofilizados, secos o húmedos; conservando sus propiedades nutricionales (Garrote et al., 2010).

Microorganismos del kéfir

La distribución del kéfir es global y, como tal, existen diferencias entre cada grano de kéfir. En la tabla 1 se muestra los microorganismos prevalentes de acuerdo a la región o país. Los análisis moleculares y el estudio filogenético (Dobson et al., 2011; Gondaliya et al., 2021), han facilitado el trabajo en la identificación de los microorganismos presentes y la relación genética entre ellos.

Producción

Hay tres formas principales de producir kéfir: (I) el proceso artesanal, (II) el proceso comercial por el método Ruso y (III) el proceso comercial utilizando cultivos puros (Farnworth, 2005; Otlis & Cagindi, 2003; Rattray & O'Connell, 2011), como se muestra en la Fig.1. Además de leche vaca, se pueden utilizar otros sustratos. Estos incluyen: zumos de fruta, soluciones de azúcar o melaza, leche de otras especies animales, leche de coco y leche de soja, entre otros (Caiza, 2019; Harta et al., 2004; Hsieh et al., 2012; Matos et al., 2020).

El método tradicional para elaborar la bebida fermentada se produce añadiendo directamente granos de kéfir al sustrato. La leche cruda se hierve y se enfría a 20-25°C y se inocula con 2-10% de granos de kéfir, respecto a la masa de leche. Después de un período de fermentación, de 18 a 24 h a 20-25°C, los granos se separan del fermentado por filtración con un tamiz, pueden secarse a temperatura ambiente y mantenerse a temperatura fría para ser utilizados en la siguiente inoculación (O'Brien et al., 2016; Sarkar, 2008).

En el proceso industrial del kéfir, el primer paso es homogeneizar la leche, seguido de pasteurización a 72°C por 15 s. Luego se enfría a 18-24°C y se inocula con granos de

kéfir del 2-8% en tanques de fermentación. El tiempo de fermentación varía de 18 a 24 h. Se separa el inóculo del líquido y se distribuye en botellas. Después de madurar a 12-14°C durante 24 h y se almacena a 4°C (Kotova et al., 2016; Wszolek et al., 2007).

El uso de cultivos comerciales puede normalizar la producción comercial de kéfir, si la selección de especies y cepas de levaduras y bacterias se lleva a cabo con precisión y cuidado, permitiendo así la producción de una bebida "tipo kéfir" con un sabor aceptable y buenas propiedades de conservación (Simova et al., 2002; Sulistyaningtyas et al., 2019). Sin embargo, es posible que la bebida no presente las mismas propiedades terapéuticas y probióticas presentes en el kéfir tradicional (Rattray & O'Connell, 2011).

Métodos de Caracterización

- Químicos

Para la caracterización química del kéfir comúnmente se utiliza: análisis de acidez (pH y % de ácido láctico), el contenido total de materia seca, grasa, proteínas y cenizas (Laureys & De Vuyst, 2014; Magalhães et al., 2010).

- Bioquímicos

La producción de metabolitos en la fermentación del sustrato por parte de los granos de kéfir comúnmente se estudia mediante el análisis de fermentación de azúcares (Garrote et al., 2001).

- Moleculares

Con el avance del entendimiento de las técnicas moleculares, cada vez es más fácil la caracterización de los microorganismos presentes en el kéfir. Actualmente se utiliza: pirosecuenciación de 16S RNA, pirosecuenciación del genoma completo

(Dobson et al., 2011; Korsak et al., 2015; Nalbantoglu et al., 2014; Zamberi, Mohamad, et al., 2016), análisis de huella genómica (GTG)5-REP-PCR (Gao & Zhang, 2018), análisis mediante DGGE-PCR (H. C. Chen et al., 2008; Garofalo et al., 2015; Kotova et al., 2016). El uso de técnicas moleculares brinda un resultado preciso de la composición microbiana en la bebida.

- Filogenéticos

Conocer la biología evolutiva de los microorganismos presentes en el kéfir facilita el estudio de las relaciones entre la microbiota presente, y así identificar los microorganismos que proporcionan los beneficios a la bebida (Burcu & Alper, 2013). La principal herramienta empleada para este fin es la construcción de árboles filogenéticos basados en las secuencias del gen 16S rRNA (Burcu & Alper, 2013; Gondaliya et al., 2021; Mogheth & El Gendy, 2017).

Proceso de fermentación

En el inicio de la fermentación, el contenido de sustrato corresponde a cerca del 80% del volumen total. Se compone de aproximadamente 90% de sacarosa, 6% de azúcares reductores y 1,5% de minerales, como K, Ca, P, Mg, Na, Fe, Mn, Zn y Cu (Guerra & Mujica, 2010). El etanol es el principal bioproducto del proceso de fermentación. Su concentración aumenta de forma lineal alcanzando valores superiores al 10% del volumen total (Satir & Guzel-Seydim, 2016). Además, se encuentra ácido láctico, ácido acético, manitol, glicerol, ésteres y otros ácidos orgánicos (Laureys & De Vuyst, 2014). También es una fuente importante de Ca, Mg, P y principalmente Zn (Oliveira et al., 2019). Durante la fermentación del kéfir existe

una simbiosis entre bacterias ácido lácticas y levaduras. La hidrólisis de la sacarosa por la invertasa de la levadura resulta en un aumento de los niveles de glucosa y fructosa, haciendo disponible la fuente de carbono para las LAB y favoreciendo su crecimiento (Magalhães et al., 2010).

Producción de metabolitos

En diferentes estudios de los metabolitos producidos por el kéfir, se han encontrado aminoácidos, péptidos y análogos de los péptidos, hidratos de carbono y conjugados de hidratos de carbono, flavonoides y glucósidos de flavonoides, isoflavonas y glucósidos de isoflavonoides, glicerofosfolípidos y glucósidos de terpeno (Azi et al., 2020; Laureys et al., 2019).

Dentro de los metabolitos de mayor importancia presentes en el kéfir está el Kefiran: Exopolisacárido (EPS) del kéfir (Tan et al., 2020), del cual se hablará con mayor detalle más adelante.

2. Kéfir: Beneficios en la salud

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante del kéfir está estrechamente relacionada con la mitigación de las especies reactivas de oxígeno y la presencia de enzimas antioxidantes como se ilustra en la Fig. 2. Esta actividad se ha estudiado mediante los métodos de eliminación de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), inhibición de la auto oxidación del ascorbato, ensayo de citotoxicidad, poder reductor, eliminación superóxido y de la inhibición de la peroxidación de los lípidos (Alsayadi et al., 2013; Dume & Sánchez, 2019; J. R. Liu et al., 2005; Tang et al., 2018).

Los efectos antioxidantes han sido analizados en diferentes sustratos como el agua

azucarada (Alsayadi et al., 2013), las leches de vaca y cabra (J. R. Liu et al., 2005; Yilmaz-Ersan et al., 2016), leche de soya (Kesenkaş et al., 2011) y extracto de arroz (leche de arroz) (Sirirat & Jelena, 2010). Además, se realizaron ensayos utilizando cultivos *Lb. plantarum* (Tang et al., 2018).

Se ha determinado que los efectos antioxidantes se deben a la presencia de enzimas antioxidantes intracelulares y sustancias no enzimáticas (Lin & Yen, 1999). Esta actividad se atribuye a la capacidad de donación de protones del kéfir, su poder reductor y la actividad similar a la Superóxido Dismutasa (Kesenkaş et al., 2011; J. R. Liu et al., 2005). Adicionalmente, se sugiere que la acción antioxidante se incrementa por la presencia de macromoléculas en el sustrato, ya sean proteínas lácteas (J. R. Liu et al., 2005; Smet et al., 2008; Yilmaz-Ersan et al., 2016) o compuestos fenólicos (Kesenkaş et al., 2011; Sirirat & Jelena, 2010).

Al adicionar extractos de plantas, la actividad antioxidante aumenta significativamente; se ha utilizado extractos de romero en leche de burra (Perna et al., 2019), extracto de lentejas en leche de vaca (Gunenc et al., 2017) y extractos de canela o jengibre en leche de cabra. Se observa un aumento del 12,4% de la actividad antioxidante cuando se agrega una solución de canela (Setiyoningrum et al., 2019).

La eliminación de radicales libres aumenta de inmediato después de añadir los granos de kéfir al sustrato. Sin embargo, a mayor tiempo de fermentación, mayor acción (Tang et al., 2018; Yilmaz-Ersan et al., 2016).

Actividad Antimicrobiana

La actividad antimicrobiana se ha probado en

enteritidis (Jeong et al., 2017), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas fluorescens* (Sirirat & Jelena, 2010) *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexneri*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis* (Santos et al., 2003) *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Cronobacter sakazakii* (Kim et al., 2016). Incluso se ha evaluado la actividad antibiótica en cepas resistentes como *S. aureus* resistente a metilicina (Marques et al., 2020).

Para evaluar la antibiosis del kéfir, se utiliza el método de la difusión de discos (Santos et al., 2003; Sirirat & Jelena, 2010; Ulusoy et al., 2007), mediante medios enriquecidos con soluciones de kéfir (Kim et al., 2016; Marques et al., 2020; Sulmiyati et al., 2019) y haciendo uso de EPS disuelto en el medio de cultivo (Jeong et al., 2017).

La capacidad antifúngica se ha estudiado en *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. stellatoidea*, *C. krusei*, *Cryptococcus neoformans*, *Rhodotorula glutinis* y *Torulopsis glabrata* (Cevikbas et al., 1994) y *Aspergillus flavus* (Gamba et al., 2016).

La actividad antifúngica se la analiza mediante el crecimiento de las cepas de levaduras en tubos con medio enriquecido y solución de kéfir y se evalúa su presencia o ausencia de crecimiento (Cevikbas et al., 1994). Un proceso alternativo es el uso de cajas Petri con medio enriquecido con soluciones de kéfir (Gamba et al., 2016).

Se ha encontrado que la familia *Lactobacillaceae* es en parte responsable de la actividad antimicrobiana

(Marques et al., 2020) cuyo efecto se debe a la producción de bacteriocinas (Atanassova et al., 1999), además de la inhibición competitiva de la adhesión de enteropatógenos a las células epiteliales (Santos et al., 2003). Se sugiere que el efecto bactericida, al igual que el fungicida del kéfir, en conjunto con lo antes mencionado, se debe a la presencia de ácidos orgánicos, etanol y diacetilo (Gamba et al., 2016; Kim et al., 2016; Sirirat & Jelena, 2010).

Actualmente, Hamida et al. (2021) plantean que el kéfir como bebida de suplemento diario puede contrarrestar las infecciones virales debido a la presencia de LAB. Se ha probado la efectividad de cepas aisladas contra: Herpes simplex virus (Cavicchioli et al., 2018), Rotaviruses (Olaya et al., 2016), Enteroviruses (Sunmola et al., 2019) y Noroviruses (Aboubakr et al., 2014).

Un posible mecanismo de acción del kéfir contra la infección viral combina la estimulación en la producción de citoquinas, así como el interferón gamma (IFN- γ), la interleucina (IL)-2 y la IL-12; con la inhibición de la respuesta inflamatoria al suprimir la producción de citoquinas, IL-6, la IL-1 y el factor de necrosis tumoral (TNF)- α (Hamida et al., 2021). Se muestra en la Fig.3 la acción antimicrobiana y antiviral del kéfir.

Actividad Anticancerígena

La relación del kéfir y el cáncer ha abarcado diferentes estudios enfocados en la actividad antiinflamatoria (Moreira et al., 2008), antitumoral (Liu et al., 2002), inhibición del crecimiento de tumores (de Moreno de LeBlanc et al., 2006) y acción protectora de tejidos (El Golli-Bennour et al., 2019; Nagira et al., 1999). Para efectuar dichos estudios, se han utilizado líneas celulares

(Cevikbas et al., 1994; Hatmal et al., 2018; Wei-sheng Hong et al., 2009), modelos animales (Moreira et al., 2008; Vinderola, Duarte, Thangavel, Perdígón, et al., 2005) y ensayos en humanos (Topuz et al., 2008).

Se descubrió que el kéfir inhibe la proliferación de las células cancerosas mediante la detención del ciclo celular y la inducción de la apoptosis a través de la regulación al alza de Bax y a la baja de Bcl-2 (Badr El-Din et al., 2020; Gao et al., 2013). Aparentemente, el principal polisacárido del kéfir, el kefiran, es el responsable de las propiedades antitumorales, debido a su capacidad para proteger las proteínas del daño oxidativo de los sistemas 2,2'-azobis(2-aminopropano) dihidrocloruro (AAPH) y Cu²⁺/H₂O₂ (Chen et al., 2015). Además, el kéfir promueve la secreción de citoquinas que evitan la proliferación de células cancerosas (Wei-sheng Hong et al., 2009; Tellez et al., 2010), por las levaduras presentes (Smith et al., 2014). Las propiedades anticancerígenas son mayores a tiempos de cultivo menores, estos resultados son coherentes con la producción inicial de metabolitos bioactivos citotóxicos (Hatmal et al., 2018). Los mecanismos de inducción de estos efectos se muestran en la Fig. 4.

El efecto anticancerígeno del kéfir de leche puede dirigirse a todo el cuerpo, ya que su consumo regular influye tanto en el tracto gastrointestinal (Can et al., 2009; Khoury et al., 2014; Topuz et al., 2008) como en las mamas (de Moreno de LeBlanc et al., 2006; Zamberi, et al., 2016), los pulmones (Tung et al., 2020; Vinderola et al., 2005) y piel (Nagira et al., 1999). Este efecto beneficioso puede ser el resultado de la mejora de la microbiota intestinal y del sistema inmunitario asociado

al mayor consumo de compuestos bioactivos producidos por el kéfir (Lim et al., 2017; Rafie et al., 2015).

Enfermedades metabólicas

Se ha estudiado al kéfir como suplemento que permite una mejoría en la obesidad (Lim et al., 2017; Tung et al., 2020). Se ha demostrado que la administración de LAB, aisladas del grano de kéfir puede acelerar la pérdida de peso, mejorar las características de la salud en condiciones de obesidad y la esteatosis hepática en obesos preexistentes (Kim et al., 2015). Se muestra aceleración de la pérdida de peso, la modulación metabólica y el metabolismo lipídico hepático mediante la intervención de LAB en combinación con la dieta (Chen et al., 2018). Se ha demostrado la capacidad del kéfir de inhibir la diferenciación de los adipocitos (Ho et al., 2013) mediante la disminución de la expresión en los genes relacionados a la adipogénesis (Choi et al., 2017) proceso por el cual la grasa se acumula en las células.

Estudios demuestran que el consumo diario de kéfir y de sus productos puede dar lugar a una hipocolesterolemia significativa (Huang et al., 2013). El efecto en la baja del colesterol se atribuye a los microorganismos y compuestos biogénicos derivados de la bebida (Rocha-Gomes et al., 2018; Xiao et al., 2003). Se sugiere, que uno de los efectos del kéfir en el tracto gastrointestinal implica la vía del metabolismo endógeno del colesterol, asegurando su asimilación y metabolización por los microorganismos, inhibiendo la absorción del colesterol en el intestino delgado (St-Onge et al., 2000; Vujičić et al., 1992; Wang et al., 2009; Yusuf et al., 2020). Además, hay datos que sugieren que el kéfir puede

oponerse a la hipercolesterolemia mediante 1) la inhibición de la enzima HMG-CoA reductasa, enzima clave de la síntesis del colesterol (Prado et al., 2015; Wang et al., 2009) y 2) la desconjugación de las sales biliares, aumentando la demanda de colesterol para la síntesis de novo (Wang et al., 2009; Yusuf et al., 2020).

El efecto protector del kéfir contra el hígado graso se ha estudiado en modelos animales. Se demuestra que el consumo de kéfir atenúa el aumento de la masa corporal y los contenidos séricos de glutamato oxaloacetato transaminasa (GOT) y glutamato piruvato transaminasa (GPT) (Chen et al., 2016). Este efecto se produce a través de la inhibición de la vía de la lipogénesis hepática en lugar de la promoción de la utilización de los lípidos (Chen et al., 2014; Kim et al., 2017).

Se han evaluado los efectos antidiabéticos del kéfir en modelos murinos (Ghazi Mahdi AL-Shemmari et al., 2018; Tiss et al., 2020) y en pruebas con humanos (Alihosseini et al., 2017; Ostadrahimi et al., 2015). Los resultados en las pruebas en pacientes muestran una disminución no significativa de azúcar en suero y de hemoglobina glicosilada (HbA1C) (Ostadrahimi et al., 2015), una disminución no significativa de la insulina en suero y una disminución significativa de la resistencia a insulina evaluada por modelo de homeostasis (HOMA-IR) (Alihosseini et al., 2017). En las pruebas en modelos murinos los resultados indican una disminución de la glucosa en suero (Ghazi Mahdi AL-Shemmari et al., 2018), explicada por la actividad de las LAB en la bebida (Honda et al., 2012). Tiss et al. (2020) mediante la administración de kéfir a base de leche de soya, demostraron la

reducción de la actividad de la α -amilasa en el intestino y páncreas, consecuentemente disminuyó el azúcar en sangre.

Otros efectos en la salud humana

Los efectos contra la hipertensión de la leche fermentada con granos de kéfir y sus microorganismos derivados o compuestos biogénicos se han demostrado en modelos experimentales de hipertensión arterial (Amorim et al., 2019; Kanbak et al., 2014; Yap et al., 2016). Este efecto está asociado a 35 péptidos con potencial actividad hipotensiva debido a la inhibición de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ACE) (Amorim et al., 2019).

Se ha evidenciado la actividad antialérgica del kéfir ya que, *Lactobacillus kefirifaciens* y *Lb. kefir*, estimulan la producción de IFN- γ e IL-12 *in vitro* tanto en macrófagos peritoneales como en esplenocitos (Davras et al., 2018; Fujiwara et al., 2004; Hong et al., 2010). Se sabe que la IL-12 desempeña un papel fundamental al inducir una respuesta inmunitaria dominante Th1 y potenciar la inmunidad celular (Shida et al., 1998). El IFN- γ , secretado por las células Th1, es un antagonista del IL-4 e inhibe la producción de IgE presente ante alérgenos (Davras et al., 2018).

El kéfir ha sido estudiado para determinar su acción en el sistema óseo. Las investigaciones se han desarrollado en modelos murinos y se ha concluido que tiene un beneficio en enfermedades óseas (Chen et al., 2014; Tu et al., 2020). Los resultados indican el aumento de la densidad mineral ósea trabecular (DMO), el volumen óseo (VB/TV), el grosor trabecular (Tb. Th), el número trabecular (Tb. N) y las propiedades biomecánicas del fémur distal. Estos beneficios pueden deberse al incremento de la

absorción de calcio a través del canal de calcio TRPV6 (Tu et al., 2015).

3. Aplicaciones biotecnológicas

Elaboración de alimentos fermentados

El kéfir se ha utilizado como cultivo iniciador en la producción de vinagre de manzana (Viana et al., 2017), masa madre para la producción de pan (Harta et al., 2004; Limbad et al., 2020; Plessas et al., 2005), bebidas de fruta fermentadas (Corona et al., 2016; Koh et al., 2018; Matos et al., 2020; Nogueira et al., 2016; Zongo et al., 2020) y harina fermentada (de Souza et al., 2020). El EPS del kéfir (Costa et al., 2010; Rehman et al., 2018) y kéfir liofilizado (Katechaki et al., 2008; Mei et al., 2014) han sido empleados en la elaboración de diferentes tipos de queso.

Al evaluar la calidad del pan, se consiguió una buena fermentación, mejor sabor y frescura durante más tiempo (Harta et al., 2004; Limbad et al., 2020). La vida útil del pan se duplicó, explicado por el aumento del pH y la posible presencia de bacteriocinas (Plessas et al., 2007); sin embargo, se recomienda estudios microbiológicos para determinar las propiedades antimicrobianas del pan.

En la producción de queso mozzarella haciendo uso del EPS, se observa una mejor masticación y dureza, mientras un impacto leve en la resiliencia, la cohesión y la elasticidad. Al mismo tiempo, mejoró la elasticidad, la capacidad de fundirse y la pérdida de grasa en comparación con el proceso tradicional (Rehman et al., 2018). Estas propiedades se las atribuye al EPS, reportadas de forma similar en la elaboración de queso cheddar (Costa et al., 2010). Cuando se utiliza el kéfir liofilizado para la elaboración de queso duro, se

observa una mejoría significativa de las características de aroma, sabor y textura y un aumento del grado de apertura en comparación el método convencional (Katechaki et al., 2008). En el queso Camembert se observa aumento de la vida útil y la seguridad microbiana, mejor textura y perfil sensorial (Mei et al., 2014), explicado todo por la presencia de LAB (Leroy & De Vuyst, 2004).

Con el fin de mejorar la calidad en los productos alimenticios, la fermentación juega un papel importante ya que proporciona metabolitos con propiedades funcionales (Stanton et al., 2005). Para este fin, se ha elaborado harina fermentada de la raíz de *Marranta arundinacea* usando los granos de kéfir. El proceso permitió reducir la concentración de carbohidratos, produciendo ácidos orgánicos y promoviendo un aumento de los compuestos fenólicos. También se comprobó que la capacidad antioxidante es elevada, lo que indica un aumento de su valor nutricional (de Souza et al., 2020).

Producción de vino

La fermentación alcohólica y maloláctica de zumo de manzana y uva usando kéfir como cultivo iniciador ha sido estudiada por Anastasios Nikolaou y su equipo de trabajo. Se demuestra que el cultivo de kéfir es adecuado para la fermentación alcohólica y maloláctica simultánea de vino en un amplio rango de temperaturas. Se indica aceptación durante la evaluación sensorial preliminar y niveles bajos de alcoholes diferentes al etanol, implicando productos de alta calidad. Sin embargo, proponen investigaciones relacionadas con el mantenimiento de la viabilidad de las células cuando se interrumpe la producción de vino, con el fin de ajustarse a las necesidades industriales y

comerciales (Nikolaou et al., 2017, 2019; Nikolaou et al., 2020a; Nikolaou et al., 2020b; Nikolaou et al., 2020c). En la Fig.5 se resumen las aplicaciones del kéfir.

Mejorando el rendimiento del kéfir

En el proceso de mejorar las características del kéfir, se ha ensayado cambiar el pH del sustrato (Arévalo & Quispe, 2008; Laureys et al., 2019), modificar la temperatura (Putri et al., 2020), la presión (Ribeiro et al., 2020), la concentración inicial del inóculo (Apar et al., 2017), evaluar la presencia de CO₂ (Kök-Taş et al., 2013), usar fermentación secundaria (Yıldız-Akgül et al., 2018) e incluso, añadir extractos de plantas en búsqueda de mayores beneficios (Aiello et al., 2020).

Al evaluar el efecto del pH en la producción del kéfir, se observa que los cambios en el pH óptimo (4,4) generan un decremento en el crecimiento de la biomasa (Arévalo & Quispe, 2008). Cuando existe amortiguación del pH se presentan altas concentraciones de carbohidratos totales residuales y bajas concentraciones de metabolitos. Además, se evidencia altas proporciones de LAB con respecto a las levaduras, lo que refleja altas proporciones de ácido láctico y ácido acético con respecto al etanol (Laureys et al., 2019). Estas condiciones que permiten una proliferación de las LAB pueden ser usadas cuando se requiera de sus características.

En la producción de EPS, se ha demostrado que la adición de 10% de CO₂ genera un aumento significativo del producto; además se reportó un crecimiento favorable de *Bifidobacterium spp* y *Lactobacillus acidophilus* (Kök-Taş et al., 2013).

En busca de un aumento de los beneficios del kéfir, se probó el uso de una segunda fermentación del mismo utilizando microorganismos termófilos, mesófilos, levaduras y cultivos probióticos. En términos generales, el uso de la fermentación secundaria, adicionalmente a los granos de kéfir, produjo mejores resultados que el método tradicional (sólo con granos de kéfir) en términos de propiedades microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales (Yıldız-Akgül et al., 2018).

La temperatura juega un papel importante en el proceso de fermentación del kéfir para la producción de metabolitos (Putri et al., 2020); se demostró que la temperatura óptima para el crecimiento de la biomasa del kéfir es de 27°C (Apar et al., 2017; Barão et al., 2019). En el estudio de Apar et al. (2017) se evidencia que la concentración de inóculo de kéfir que mejores resultados provee es el 5% w/w con respecto al sustrato en la temperatura mencionada.

Aiello et al. (2020) en su trabajo recopilan los beneficios de las plantas sobre el kéfir. El valor agregado brindado permite un aumento en la actividad antioxidante (Chen et al., 2018; Gunenc et al., 2017; Perna et al., 2019; Setiyoningrum et al., 2019), así como en la evaluación sensorial (Kabakci et al., 2020; Nogueira et al., 2016).

Se ha buscado mejorar la producción de los granos de kéfir utilizando fermentadores de dos etapas. Los resultados, indican un aumento de más de cinco veces el volumen de producción al compararla con la fermentación de una sola etapa, estos datos implican una mejoría tanto tecnológica como económica (Goršek & Tramšek, 2008).

Modificación genética para mejorar las características del kéfir

No se han encontrado investigaciones donde se modifique las características del kéfir mediante tecnología genética. Sin embargo, se han realizado cambios genéticos en microorganismos que se encuentran en el kéfir. A continuación, se muestran estudios con mejoras de interés para el kéfir, con perspectivas a utilizar estas cepas modificadas para incrementar los beneficios en la producción y consumo.

Lactobacillus casei, bacteria del ácido láctico presente en el kéfir, ha sido modificada mediante tecnología de plásmidos. Se usó el vector pVE3874 para expresar el gen *sodA* de *Lactococcus lactis*. Como resultado *Lb. casei* adquirió una actividad eficiente de superóxido dismutasa de manganeso (MnSOD) por lo que esta cepa se administró a ratones como tratamiento de la colitis (Watterlot et al., 2010).

Haciendo uso de la tecnología de enzimas de restricción *SmaI/EcoRV* y *BamHI/Xho*, el gen *OmpAI* fue insertado en el genoma de *Lb. casei*; la cepa modificada se utilizó para inmunizar peces contra *Aeromonas veronii* y los resultados indicaron mayor actividad de lisozima, ácido fosfatasa y superóxido dismutasa (Zhang et al., 2018).

Mediante el plásmido pCYT, el gen HSP65-6P277 fue insertado en *L. lactis*. La cepa fue administrada en ratones para demostrar la disminución de la incidencia de diabetes mellitus tipo 1. Se obtuvieron resultados positivos en el tratamiento, explicados por el alza de la respuesta inmune tipo Th-2 (Ma et al., 2014)

En *Kluyveromyces marxianus*, levadura no convencional, se ha utilizado la ingeniería genética para mejorar la expresión de las enzimas lignocelulolíticas, optimizando

el promotor de la inulinasa y la secuencia de señal de K. marxianus mediante mutagénesis. Se logró una mayor expresión secretora de diferentes enzimas lignocelulolíticas (Zhou et al., 2018). Se utilizó un enfoque similar para secretar un anticuerpo de cadena única (scFv), mediante la construcción de cepas portadoras utilizando combinaciones de promotores (PMDH1 y PACO1) y péptidos señal de secreción (KmINUss y Sc α -MFss) (Nambu-Nishida et al., 2018).

Con la tecnología de CRISPRi se modularon el ciclo del ácido tricarbóxico y la cadena de transporte de electrones. La eliminación simultánea de los genes ACO2b, SDH2, RIP1 y MSS51, dio como resultado un aumento de 3,8 veces en la productividad de acetato de etilo sobre la capacidad natural (Löbs et al., 2018).

Saccharomyces cerevisiae, levadura de alto interés industrial, ha sido modificada genéticamente para mejorar sus características. Mediante el uso de tecnología de plásmidos (pUG6), se sobreexpresó la catalasa citosólica (CTT1) sustituyendo el promotor nativo por el fuerte promotor constitutivo TPI1. El aumento de la actividad de la catalasa se confirmó y posteriormente se correlacionó con la disminución de los niveles de especies reactivas de oxígeno (Abbott et al., 2009). Al usar PCR de fusión, el gen Haa1 fue sobreexpresado en *S. cerevisiae* con la finalidad de mejorar la tolerancia al ácido acético; los resultados demuestran una mayor capacidad para reducir la concentración intracelular del ácido (Tanaka et al., 2012). En conjunto con el plásmido AUR101 y el promotor HSP12, se introdujo el gen mutante de la xilosa isomerasa (LpXI(T63I)) en *S. cerevisiae* con la

finalidad de aumentar la producción de etanol a partir de xilosa. Los resultados muestran un consumo eficiente del azúcar para la producción de alcohol (Kobayashi et al., 2018).

Se han identificado correlaciones entre determinados microorganismos del kéfir y los niveles de diferentes compuestos volátiles, así como la presencia de genes necesarios para su producción (Walsh et al., 2016). Se sugieren investigaciones en la sobreexpresión, modificación o recombinación de estos genes para mejorar las características sensoriales de la bebida.

1. Kefiran: Exopolisacárido (EPS) del kéfir

El kefiran, un polisacárido extracelular abundante en grupos hidroxilos, es obtenido a partir de *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lb. kefirgranum*, *Lb. parakefir*, *Lb. kefir*, *Lactococcus lactis*, y *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Jeong et al., 2017; Micheli et al., 1999). El biopolímero es comestible, soluble en agua, con cantidades aproximadamente iguales de D-glucosa y D-galactosa en una secuencia de cadena, cuya estructura se observa en la Fig. 6. Este biopolímero ha atraído atención, debido a sus características únicas (Moradi & Kalanpour, 2019), como el comportamiento reológico, biodegradabilidad, biocompatibilidad, efecto emulsionante, efecto estabilizador, resistencia a la hidrólisis, propiedades de barrera física y mecánica, y la permeabilidad al vapor de agua (Barukčić et al., 2017; Chen et al., 2015; Fels et al., 2018; Luang-In et al., 2018; Micheli et al., 1999; Wang et al., 2008).

En busca de mejorar la producción y características del kefiran, se ha utilizado diferentes tecnologías como: ensayos a varias

temperaturas, agregados al medio y concentración de suero como sustrato. Se obtuvo el mayor aumento de la biomasa de kefiran al usar leche orgánica como medio de cultivo y los parámetros de incubación: 24 h a 25°C, con una velocidad de agitación de 125 rpm y fuentes minerales y vitaminas en el medio convencional (Pais et al., 2018; Pop et al., 2014). Con el mismo interés de elevar la producción del EPS, se probó la aplicación de estrés osmótico. Los resultados indican que al someter la producción de kefiran a un estrés de 550 mOsmol.kg-1 y 1.0 g.L-1 de Triton X-100 al tiempo 0, se obtiene un rendimiento mayor al 72.9%, con respecto a la producción normal (Dailin et al., 2020). El aumento se explica por la acumulación de solutos en el citoplasma de las células bacterianas, asegurando así una mayor presión interna de solutos y un flujo continuo de moléculas de agua hacia el interior celular (Le Marrec, 2011).

Para mejorar las características del kefiran se desarrollaron películas bio-nanocompuestas a base de EPS con diferentes cantidades de montmorillonita (MMT) y nanopartículas de TiO₂. Los resultados mostraron un aumento de las propiedades físicas y mecánicas, proporcionando una estructura compacta al añadir MMT. Mientras que, al agregar TiO₂ como nanopartícula metálica, cambiaron los atributos de color y aumentó la transparencia de los nanocompuestos (Zolfi et al., 2014).

Empaques

El actual problema mundial de contaminación con plásticos ha generado una demanda de empaques que lo mitiguen. El kefiran, además de poseer una excelente resistencia y unas características comparables

a las de los materiales de envasado tradicionales, tiene otras ventajas, como ser compostable, biodegradable y/o comestible (Radhouani et al., 2018). Estas propiedades lo hacen amigable con el medio ambiente y más sostenible a largo plazo.

Zolfi et al. (2014) demostraron que utilizando tecnología de nanopartículas se genera una barrera eficiente contra el oxígeno; además, gracias a la capacidad física y mecánica, se vuelve impermeable al agua. En otro estudio, se mezcló kefiran con almidón de maíz, las moléculas de ambos se interrelacionan favorablemente mediante la formación de fuertes enlaces de hidrógeno entre ellas, sirviendo de protección contra la difusión del agua (Motedayen et al., 2013), solventando el desafío de impermeabilidad de los materiales en la industria de empaques.

Otro reto al que se enfrenta el kefiran, en su prospección como empaque, es la acumulación de microorganismos; sin embargo, Rodrigues et al. (2005) demostraron su eficiencia como agente antimicrobiano. Esto pone de manifiesto el potencial del kefiran en la industria de empaques, enfocándose en beneficiar a las futuras industrias alimentarias en términos de mantenimiento de la seguridad e inocuidad de los alimentos.

Aplicaciones biomédicas

Los atributos del kefiran han despertado el interés en la comunidad médica, por lo que se ha estudiado la capacidad del EPS como vehículo de probióticos. Los resultados experimentales muestran la capacidad del kefiran de preservar la viabilidad de los probióticos con una pequeña pérdida tras 35 días de almacenamiento a 20°C, reduciendo la susceptibilidad de los microorganismos probióticos libres

a las condiciones ácidas. Asimismo, el estudio sugiere el uso del kefiran como vehículo de administración de fármacos en enfermedades gastrointestinales (Piermaria et al., 2015).

En conjunto con la acción probiótica del kéfir, el kefiran puede ser utilizado para el tratamiento de heridas cutáneas. Se ha demostrado la acción de *Lactobacillus brevis* en la inflamación inducida a ratas además de acelerar el proceso de cicatrización (Nasrabadi & Ebrahimi, 2011). Se sugiere la investigación del kefiran como vendaje activo para el tratamiento de heridas en la piel.

Conclusión

En este trabajo se ha recopilado investigaciones actuales sobre el kéfir y sus aplicaciones a nivel mundial. Además, se proponen investigaciones para incrementar los beneficios del kéfir. El potencial total del consorcio microbiano todavía está por descubrirse. Aunque la fortaleza de la bebida son los beneficios en la salud, tiene aplicaciones que aún están por ser investigadas. Se propone la modificación genética de los microorganismos para mejorar las características sensoriales de la bebida e impulsar los beneficios en la salud del consumidor, industria y medio ambiente.

Agradecimientos

Las figuras utilizadas en el artículo fueron realizadas con BioRender.com

Referencias bibliográficas

Abbott, D. A., Suir, E., Duong, G. H., De Hulster, E., Pronk, J. T., & Van Maris, A. J. A. (2009). Catalase overexpression reduces lactic acid-induced oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(8), 2320–2325. <https://doi.org/10.1128/AEM.00009-09>

Aboubakr, H. A., El-Banna, A. A., Youssef, M. M., Al-Sohaimy, S. A. A., & Goyal, S. M. (2014). Antiviral Effects of *Lactococcus lactis* on Feline Calicivirus, A Human Norovirus Surrogate. *Food and Environmental Virology*, 6(4), 282–289. <https://doi.org/10.1007/s12560-014-9164-2>

Açik, M., Çakiroğlu, F. P., Altan, M., & Baybo, T. (2020). Alternative source of probiotics for lactose intolerance and vegan individuals: sugary kefir. *Food Science and Technology, AHEAD*. <https://doi.org/10.1590/fst.27919>

Ahmed, Z., Wang, Y., Ahmad, A., Khan, S. T., Nisa, M., Ahmad, H., & Afreen, A. (2013). Kefir and Health: A Contemporary Perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(5), 422–434. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.540360>

Aiello, F., Restuccia, D., Spizzirri, U. G., Carullo, G., Leporini, M., & Loizzo, M. R. (2020). Improving kefir bioactive properties by functional enrichment with plant and agro-food waste extracts. *Fermentation*, 6(3). <https://doi.org/10.3390/FERMENTATION6030083>

Alihosseini, N., Moahboob, S. A., Farrin, N., Mobasser, M., Taghizadeh, A., & Ostadrahimi, A. R. (2017). Effect of probiotic fermented milk (KEFIR) on serum level of insulin and homocysteine in type 2 diabetes patients. *Acta Endocrinologica*, 13(4), 431–436. <https://doi.org/10.4183/aeb.2017.431>

Alsayadi, M., Al jawfi, Y., Belarbi, M., & Sabri, F. (2013). ANTIOXIDANT POTENCY OF WATER KEFIR. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 6(2), 2444–2447.

Amorim, F. G., Coitinho, L. B., Dias, A. T., Friques, A. G. F., Monteiro, B. L., Rezende, L. C. D. de, Pereira, T. de M. C., Campagnaro, B. P., De Pauw, E., Vasquez, E. C., & Quinton, L. (2019). Identification of new bioactive peptides from Kefir milk through proteopeptidomics: Bioprospection of antihypertensive molecules. *Food Chemistry*, 282, 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.010>

- Apar, D. K., Demirhan, E., Özel, B., & Özbek, B. (2017). Kefir Grain Biomass Production: Influence of Different Culturing Conditions and Examination of Growth Kinetic Models. *Journal of Food Process Engineering*, 40(1), e12332. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12332>
- Arévalo, F. H., & Quispe, A. (2008). Control y regulación del pH en una fermentación láctica utilizando carbonato de calcio como regulador y microbiota de granos de Kefir como agente biológico. *Ciencia y Desarrollo*, 9, 5. <https://doi.org/10.21503/cyd.v9i0.1175>
- Aryana, K. J., & Olson, D. W. (2017). A 100-Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9987–10013. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12981>
- Atanassova, M., Dousset, X., Montcheva, P., Ivanova, I., & Haertle, T. (1999). Microbiological study of kefir grains. Isolation and identification of high activity bacteriocin producing strains. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 13(1), 55–60. <https://doi.org/10.1080/13102818.1999.10819019>
- Azhar, M. A., & Munaim, M. S. A. (2019). Isolation and Molecular Identification of Potential Probiotic Yeast Strains Found in Malaysian Kefir Drinks Samples. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*, 8(4), 128–131. <https://doi.org/10.18178/ijpmbs.8.4.128-131>
- Azi, F., Tu, C., Meng, L., Zhiyu, L., Cherinet, M. T., Ahmadullah, Z., & Dong, M. (2020). Metabolite dynamics and phytochemistry of a soy whey-based beverage bio-transformed by water kefir consortium. *Food Chemistry*, 342, 128225. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128225>
- Badr El-Din, N. K., Shabana, S. M., Abdulmajeed, B. A., & Ghoneum, M. (2020). A novel kefir product (Pft) inhibits ehrlich ascites carcinoma in mice via induction of apoptosis and immunomodulation. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-02901-y>
- Barão, C. E., Klososki, S. J., Pinheiro, K. H., Marcolino, V. A., Junior, O. V., da Cruz, A. G., da Silva, T. T., & Pimentel, T. C. (2019). Growth kinetics of kefir biomass: Influence of the incubation temperature in milk. *Chemical Engineering Transactions*, 75, 499–504. <https://doi.org/10.3303/CET1975084>
- Barukčić, I., Gracin, L., Jambrak, A. R., & Božanić, R. (2017). Comparison of chemical, rheological and sensory properties of kefir produced by kefir grains and commercial kefir starter. *Mljekarstvo*, 67(3), 169–176. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2017.0301>
- Burcu, U. nsal U. N., & Alper, A. (2013). Phylogenetic identification of bacteria within kefir by both culture-dependent and culture-independent methods. *African Journal of Microbiology Research*, 7(36), 4533–4538. <https://doi.org/10.5897/ajmr2013.6064>
- Caiza, L. (2019). Elaboración de una Bebida Fermentada a partir de Lactosuero y Leche de Chocho (lupinus mutabilis sweet) utilizando al Kéfir de Agua como Fermento. Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC).
- Can, G., Topuz, E., Derin, D., Durna, Z., & Aydiner, A. (2009). Effect of kefir on the quality of life of patients being treated for colorectal cancer. In *Oncology Nursing Forum* (Vol. 36, Issue 6, p. 643). *Oncol Nurs Forum*. <https://doi.org/10.1188/09.ONF.E335-E342>
- Cavicchioli, V. Q., Carvalho, O. V. de, Paiva, J. C. de, Todorov, S. D., Silva Júnior, A., & Nero, L. A. (2018). Inhibition of herpes simplex virus 1 (HSV-1) and poliovirus (PV-1) by bacteriocins from lactococcus lactis subsp. lactis and enterococcus durans strains isolated from goat milk. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 51(1), 33–37. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.04.020>
- Cevikbas, A., Yemni, E., Ezzedenn, F. W., Yardimici, T., Cevikbas, U., & Stohs, S. J. (1994). Antitumoural antibacterial and antifungal activities of kefir and kefir grain. *Phytotherapy Research*, 8(2), 78–82. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650080205>

- Chen, H. C., Wang, S. Y., & Chen, M. J. (2008). Microbiological study of lactic acid bacteria in kefir grains by culture-dependent and culture-independent methods. *Food Microbiology*, 25(3), 492–501. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.01.003>
- Chen, H. L., Tsai, T. C., Tsai, Y. C., Liao, J. W., Yen, C. C., & Chen, C. M. (2016). Kefir peptides prevent high-fructose corn syrup-induced non-alcoholic fatty liver disease in a murine model by modulation of inflammation and the JAK2 signaling pathway. *Nutrition and Diabetes*, 6(12), 237. <https://doi.org/10.1038/nutd.2016.49>
- Chen, H. L., Tung, Y. T., Chuang, C. H., Tu, M. Y., Tsai, T. C., Chang, S. Y., & Chen, C. M. (2014). Kefir improves bone mass and microarchitecture in an ovariectomized rat model of postmenopausal osteoporosis. *Osteoporosis International*, 26(2), 589–599. <https://doi.org/10.1007/s00198-014-2908-x>
- Chen, H. L., Tung, Y. T., Tsai, C. L., Lai, C. W., Lai, Z. L., Tsai, H. C., Lin, Y. L., Wang, C. H., & Chen, C. M. (2014). Kefir improves fatty liver syndrome by inhibiting the lipogenesis pathway in leptin-deficient ob/ob knockout mice. *International Journal of Obesity*, 38(9), 1172–1179. <https://doi.org/10.1038/ijo.2013.236>
- Chen, W., Chen, R., Chen, W., Chen, H., & Zhang, G. (2018). Comparative Evaluation of the Antioxidant Capacities, Organic Acids, and Volatiles of Papaya Juices Fermented by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Food Quality*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/9490435>
- Chen, Y. T., Yang, N. S., Lin, Y. C., Ho, S. T., Li, K. Y., Lin, J. S., Liu, J. R., & Chen, M. J. (2018). A combination of *Lactobacillus Mali* APS1 and dieting improved the efficacy of obesity treatment via manipulating gut microbiome in mice. *Scientific Reports*, 8(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23844-y>
- Chen, Z., Shi, J., Yang, X., Nan, B., Liu, Y., & Wang, Z. (2015). Chemical and physical characteristics and antioxidant activities of the exopolysaccharide produced by Tibetan kefir grains during milk fermentation. *International Dairy Journal*, 43, 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.10.004>
- Choi, J. W., Kang, H. W., Lim, W. C., Kim, M. K., Lee, I. Y., & Cho, H. Y. (2017). Kefir prevented excess fat accumulation in diet-induced obese mice. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 81(5), 958–965. <https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1258984>
- Corona, O., Randazzo, W., Miceli, A., Guarcello, R., Francesca, N., Erten, H., Moschetti, G., & Settanni, L. (2016). Characterization of kefir-like beverages produced from vegetable juices. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 572–581. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.014>
- Costa, N. E., Hannon, J. A., Guinee, T. P., Auty, M. A. E., McSweeney, P. L. H., & Beresford, T. P. (2010). Effect of exopolysaccharide produced by isogenic strains of *Lactococcus lactis* on half-fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 93(8), 3469–3486. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-3008>
- Dailin, D. J., Elsayed, E. A., Malek, R. A., Hanapi, S. Z., Selvamani, S., Ramli, S., Sukmawati, D., Sayyed, R. Z., & El Enshasy, H. A. (2020). Efficient kefir production by *Lactobacillus kefirifaciens* ATCC 43761 in submerged cultivation: Influence of osmotic stress and nonionic surfactants, and potential bioactivities. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(12), 8513–8523. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.09.030>
- Davras, F., Zeynep, B. G.-S., & Tas, T. K. (2018). Immunological effects of Kefir produced from Kefir grains versus starter cultures when fed to mice. *Functional Foods in Health and Disease*, 8(8), 412–423. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v8i8.533>

- de Souza, B. L., Magalhães-Guedes, K. T., Lemos, P. V. F., Maciel, L. F., Dias, D. R., Druzian, J. I., & Schwan, R. F. (2020). Development of arrowroot flour fermented by kefir grains. *Journal of Food Science*, 85(11), 3722–3730. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15472>
- Diosma, G., Romanin, D. E., Rey-Burusco, M. F., Londero, A., & Garrote, G. L. (2014). Yeasts from kefir grains: Isolation, identification, and probiotic characterization. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(1), 43–53. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1419-9>
- Dobson, A., O’Sullivan, O., Cotter, P. D., Ross, P., & Hill, C. (2011). High-throughput sequence-based analysis of the bacterial composition of kefir and an associated kefir grain. *FEMS Microbiology Letters*, 320(1), 56–62. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02290.x>
- Dume, S., & Sánchez, E. (2019). Evaluación de la capacidad antioxidante de kéfir con leche UHT descremada a diferentes tiempos de fermentación [Universidad de Guayaquil]. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2004.3.66178>
- El Golli-Bennour, E., Timoumi, R., Annaibi, E., Mokni, M., Omezzine, A., Bacha, H., & Abid-Essefi, S. (2019). Protective effects of kefir against deltamethrin-induced hepatotoxicity in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(18), 18856–18865. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05253-4>
- Farnworth, E. R. (2005). Kefir - a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 2(1), 1–17. <https://doi.org/10.1616/1476-2137.13938>
- Fels, L., Jakob, F., Vogel, R. F., & Wefers, D. (2018). Structural characterization of the exopolysaccharides from water kefir. *Carbohydrate Polymers*, 189, 296–303. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.02.037>
- Fujiwara, D., Inoue, S., Wakabayashi, H., & Fujii, T. (2004). The Anti-Allergic Effects of Lactic Acid Bacteria Are Strain Dependent and Mediated by Effects on both Th1/Th2 Cytokine Expression and Balance. *International Archives of Allergy and Immunology*, 135(3), 205–215. <https://doi.org/10.1159/000081305>
- Gamba, R. R., Caro, C. A., Martínez, O. L., Moretti, A. F., Giannuzzi, L., De Antoni, G. L., & León Peláez, A. (2016). Antifungal effect of kefir fermented milk and shelf life improvement of corn arepas. *International Journal of Food Microbiology*, 235, 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.038>
- Gao, J., Gu, F., Abdella, N. H., Ruan, H., & He, G. (2012). Investigation on Culturable Microflora in Tibetan Kefir Grains from Different Areas of China. *Journal of Food Science*, 77(8). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02805.x>
- Gao, J., Gu, F., Ruan, H., Chen, Q., He, J., & He, G. (2013). Induction of apoptosis of gastric cancer cells SGC7901 in vitro by a cell-free fraction of Tibetan kefir. *International Dairy Journal*, 30(1), 14–18. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.11.011>
- Gao, W., & Zhang, L. (2018). Genotypic diversity of bacteria and yeasts isolated from Tibetan kefir. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(6), 1535–1540. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13735>
- Garofalo, C., Osimani, A., Milanović, V., Aquilanti, L., De Filippis, F., Stellato, G., Di Mauro, S., Turchetti, B., Buzzini, P., Ercolini, D., & Clementi, F. (2015). Bacteria and yeast microbiota in milk kefir grains from different Italian regions. *Food Microbiology*, 49(1), 123–133. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.01.017>
- Garrote, G. L., Abraham, A. G., & De Antoni, G. L. (2001). Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. *Journal of Dairy Research*, 68(4), 639–652. <https://doi.org/10.1017/S0022029901005210>
- Garrote, G. L., Abraham, A. G., & De Antoni, G. L. (2010). Microbial Interactions in Kefir: A Natural Probiotic Drink. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications*, 1980, 327–340.

- https://doi.org/10.1002/9780813820866.ch18
- Gaware, V., Kotade, K., Dolas, R., Dhamak, K., Somwanshi, S., Nikam, V., Khadse, A., Kashid, V., & Gaware, V. M. (2011). The magic of kefir: a review. *Pharmacologyonline*, 1, 376–386.
- Ghazi Mahdi AL-Shemmari, I., Abdel mahdi Kassim Altaee, R., & Hameed Hassan, A. (2018). Evaluation of antidiabetic and antihyperlipidimic activity of Kefir in alloxan induced diabetes mellitus rat (Vol. 2). <http://www.sjomr.org>
- Golowcycz, M. A., Gugliada, M. J., Hollmann, A., Delfederico, L., Garrote, G. L., Abraham, A. G., Semorile, L., & De Antoni, G. (2008). Characterization of homofermentative lactobacilli isolated from kefir grains: Potential use as probiotic. *Journal of Dairy Research*, 75(2), 211–217. <https://doi.org/10.1017/S0022029908003117>
- Gondaliya, S. M., Professor, A., & Ramani, V. M. (2021). Determination of Probiotic Properties of *L. fermentum* MT308789 and *L.oris* MT308790 Isolated from Mother Breast Milk. *Int. J. Life Sci. Pharma Res*, 11(1), 63–72. <https://doi.org/10.22376/ijpbs/lpr.2021.11.1.L63-72>
- Goršek, A., & Tramšek, M. (2008). Kefir grains production-An approach for volume optimization of two-stage bioreactor system. *Biochemical Engineering Journal*, 42(2), 153–158. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.06.009>
- Guerra, M. J., & Mujica, M. V. (2010). Physical and chemical properties of granulated cane sugar “panelas.” *Food Science and Technology*, 30(1), 250–257. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612010005000012>
- Gunenc, A., Yeung, M. H., Lavergne, C., Bertinato, J., & Hosseinian, F. (2017). Enhancements of antioxidant activity and mineral solubility of germinated wrinkled lentils during fermentation in kefir. *Journal of Functional Foods*, 32, 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.02.016>
- Gut, A. M., Vasiljevic, T., Yeager, T., & Donkor, O. N. (2019). Characterization of yeasts isolated from traditional kefir grains for potential probiotic properties. *Journal of Functional Foods*, 58, 56–66. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.046>
- Hamida, R. S., Shami, A., Ali, M. A., Almo-hawes, Z. N., Mohammed, A. E., & Bin-Meferij, M. M. (2021). Kefir: A protective dietary supplementation against viral infection. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 133). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110974>
- Hardy, G. (2000). Nutraceuticals and functional foods: introduction and meaning. *Nutrition*, 16(7–8), 688–689. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(00\)00332-4](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(00)00332-4)
- Harta, O., Iconomopoulou, M., Bekatorou, A., Nigam, P., Kontominas, M., & Koutinas, A. A. (2004). Effect of various carbohydrate substrates on the production of kefir grains for use as a novel baking starter. *Food Chemistry*, 88(2), 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.12.043>
- Hatmal, M. M., Nuirat, A., Zihlif, M. A., & Taha, M. O. (2018). Exploring the influence of culture conditions on kefir’s anticancer properties. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3771–3777. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13539>
- Ho, J. N., Choi, J. W., Lim, W. C., Kim, M. K., Lee, I. Y., & Cho, H. Y. (2013). Kefir inhibits 3T3-L1 adipocyte differentiation through down-regulation of adipogenic transcription factor expression. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(3), 485–490. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5792>
- Honda, K., Moto, M., Uchida, N., He, F., & Hashizume, N. (2012). Anti-diabetic effects of lactic acid bacteria in normal and type 2 diabetic mice. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 51(2), 96–101. <https://doi.org/10.3164/jcbtn.11-07>
- Hong, W, Chen, Y., & Chen, M. (2010). The Antiallergic Effect of Kefir Lactobacilli. *Journal of Food Science*, 75(8), H244–H253. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01787.x>
- Hong, Wei-sheng, Chen, H., Chen, Y., & Chen, M. (2009). Effects of kefir supernatant

- and lactic acid bacteria isolated from kefir grain on cytokine production by macrophage. *International Dairy Journal*, 19(4), 244–251. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.10.010>
- Hsieh, H. H., Wang, S. Y., Chen, T. L., Huang, Y. L., & Chen, M. J. (2012). Effects of cow's and goat's milk as fermentation media on the microbial ecology of sugary kefir grains. *International Journal of Food Microbiology*, 157(1), 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.014>
- Huang, Y., Wu, F., Wang, X., Sui, Y., Yang, L., & Wang, J. (2013). Characterization of *Lactobacillus plantarum* Lp27 isolated from Tibetan kefir grains: A potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 2816–2825. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6371>
- Jeong, D., Kim, D. H., Kang, I. B., Kim, H., Song, K. Y., Kim, H. S., & Seo, K. H. (2017). Characterization and antibacterial activity of a novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefirifaciens* DN1 isolated from kefir. *Food Control*, 78, 436–442. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.033>
- Kabak, B., & Dobson, A. D. W. (2011). An introduction to the traditional fermented foods and beverages of Turkey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(3), 248–260. <https://doi.org/10.1080/10408390903569640>
- Kabakcı, S., Türkyılmaz, M., & Özkan, M. (2020). Changes in the quality of kefir fortified with anthocyanin-rich juices during storage. *Food Chemistry*, 326. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126977>
- Kanbak, G., Uzuner, K., Kuşat Ol, K., Oğlakçı, A., Kartkaya, K., & Şentürk, H. (2014). Effect of kefir and low-dose aspirin on arterial blood pressure measurements and renal apoptosis in unihypertensive rats with 4 weeks salt diet. *Clinical and Experimental Hypertension*, 36(1), 1–8. <https://doi.org/10.3109/10641963.2013.783046>
- Kabak, B., & Dobson, A. D. W. (2011). An introduction to the traditional fermented foods and beverages of Turkey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(3), 248–260. <https://doi.org/10.1080/10408390903569640>
- Kabakcı, S., Türkyılmaz, M., & Özkan, M. (2020). Changes in the quality of kefir fortified with anthocyanin-rich juices during storage. *Food Chemistry*, 326. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126977>
- Kabakcı, S., Türkyılmaz, M., & Özkan, M. (2020). Changes in the quality of kefir fortified with anthocyanin-rich juices during storage. *Food Chemistry*, 326. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126977>
- Kanbak, G., Uzuner, K., Kuşat Ol, K., Oğlakçı, A., Kartkaya, K., & Şentürk, H. (2014). Effect of kefir and low-dose aspirin on arterial blood pressure measurements and renal apoptosis in unihypertensive rats with 4 weeks salt diet. *Clinical and Experimental Hypertension*, 36(1), 1–8. <https://doi.org/10.3109/10641963.2013.783046>
- Kanbak, G., Uzuner, K., Kuşat Ol, K., Oğlakçı, A., Kartkaya, K., & Şentürk, H. (2014). Effect of kefir and low-dose aspirin on arterial blood pressure measurements and renal apoptosis in unihypertensive rats with 4 weeks salt diet. *Clinical and Experimental Hypertension*, 36(1), 1–8. <https://doi.org/10.3109/10641963.2013.783046>
- Katechaki, E., Panas, P., Rapti, K., Kandilogiannakis, L., & Koutinas, A. A. (2008). Production of hard-type cheese using free or immobilized freeze-dried kefir cells as a starter culture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(13), 5316–5323. <https://doi.org/10.1021/jf703585y>
- Kesenkaş, H., Dinkçi, N., Seçkin, K., Kinik, Ö., Gönc, S., İnek, F., Soya, V., Karışimlarından, S., Kefirlerin, Ü., Özellikleri, A., Bilgisi, E., Makalesi, A., Gıda, T., & Yazar, S. (2011). Antioxidant Properties of Kefir Produced from Different Cow and Soy Milk Mixtures. *JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES*, 17(3), 253–259. www.agri.ankara.edu.tr/dergi
- Kesmen, Z., & Kacmaz, N. (2011). Determination of Lactic Microflora of Kefir Grains and Kefir Beverage by Using Culture-Dependent and Culture-Independent Methods. *Journal of Food Science*, 76(5). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02191.x>
- Khoury, N., El-Hayek, S., Tarras, O., El-Sabban, M., El-Sibai, M., & Rizk, S. (2014). Kefir exhibits anti-proliferative and pro-apoptotic effects on colon adenocarcinoma cells with no significant effects on cell migration and invasion. *International Journal of Oncology*, 45(5), 2117–2127. <https://doi.org/10.3892/ijo.2014.2635>

- Kim, D. H., Chon, J. W., Kim, H., & Seo, K. H. (2015). Modulation of intestinal microbiota in mice by kefir administration. *Food Science and Biotechnology*, 24(4), 1397–1403. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0179-8>
- Kim, D. H., Jeong, D., Kim, H., Kang, I. B., Chon, J. W., Song, K. Y., & Seo, K. H. (2016). Antimicrobial activity of kefir against various food pathogens and spoilage bacteria. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(6), 787–790. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.6.787>
- Kim, D. H., Jeong, D., Kim, H., & Seo, K. H. (2019). Modern perspectives on the health benefits of kefir in next generation sequencing era: Improvement of the host gut microbiota. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(11), 1782–1793. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1428168>
- Kim, D. H., Kim, H., Jeong, D., Kang, I. B., Chon, J. W., Kim, H. S., Song, K. Y., & Seo, K. H. (2017). Kefir alleviates obesity and hepatic steatosis in high-fat diet-fed mice by modulation of gut microbiota and mycobacteria: targeted and untargeted community analysis with correlation of biomarkers. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 44, 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.02.014>
- Kobayashi, Y., Sahara, T., Ohgiya, S., Kamagata, Y., & Fujimori, K. E. (2018). Systematic optimization of gene expression of pentose phosphate pathway enhances ethanol production from a glucose/xylose mixed medium in a recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. *AMB Express*, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0670-8>
- Koh, W. Y., Utra, U., Rosma, A., Effarizah, M. E., Rosli, W. I. W., & Park, Y. H. (2018). Development of a novel fermented pumpkin-based beverage inoculated with water kefir grains: a response surface methodology approach. *Food Science and Biotechnology*, 27(2), 525–535. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0245-5>
- Kök-Taş, T., Seydim, A. C., Özer, B., & Guzel-Seydim, Z. B. (2013). Effects of different fermentation parameters on quality characteristics of kefir. *Journal of Dairy Science*, 96(2), 780–789. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5753>
- Kolakowski, P., & Ozimkiewicz, M. (2012). Restoration of kefir grains subjected to different treatments. *International Journal of Dairy Technology*, 65(1), 140–145. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00746.x>
- Korsak, N., Taminiau, B., Leclercq, M., Nezer, C., Crevecoeur, S., Ferauche, C., Detry, E., Delcenserie, V., & Daube, G. (2015). Short communication: Evaluation of the microbiota of kefir samples using metagenetic analysis targeting the 16S and 26S ribosomal DNA fragments. *Journal of Dairy Science*, 98(6), 3684–3689. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9065>
- Kotilainen, L., Rajalahti, R., Ragasa, C., & Pehu, E. (2006). Health enhancing foods: Opportunities for strengthening the sector in developing countries. *Agriculture and Rural Development*, 1–95. <http://www.worldbank.org/rural>
- Kotova, I. B., Cherdyntseva, T. A., & Netrusov, A. I. (2016). Russian kefir grains microbial composition and its changes during production process. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 932, pp. 93–121). Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/5584_2016_2
- Kwak, N. S., & Jukes, D. J. (2001). Functional foods. Part 1: The development of a regulatory concept. *Food Control*, 12(2), 99–107. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(00\)00028-1](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(00)00028-1)
- Laureys, D., Aerts, M., Vandamme, P., & De Vuyst, L. (2019). The Buffer Capacity and Calcium Concentration of Water Influence the Microbial Species Diversity, Grain Growth, and Metabolite Production During Water Kefir Fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2876. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02876>
- Laureys, D., & De Vuyst, L. (2014). Microbial species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of water Kefir fermentation.

- Applied and Environmental Microbiology, 80(8), 2564–2572. <https://doi.org/10.1128/AEM.03978-13>
- Le Marrec, C. (2011). Responses of Lactic Acid Bacteria to Osmotic Stress. In *Stress Responses of Lactic Acid Bacteria* (pp. 67–90). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-0-387-92771-8_4
- Leite, A. M. de O., Miguel, M. A. L., Peixoto, R. S., Rosado, A. S., Silva, J. T., & Paschoalin, V. M. F. (2013). Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: A natural probiotic beverage. In *Brazilian Journal of Microbiology* (Vol. 44, Issue 2, pp. 341–349). Sociedade Brasileira de Microbiologia. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000200001>
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15(2), 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>
- Lim, J., Kale, M., Kim, D. H., Kim, H. S., Chon, J. W., Seo, K. H., Lee, H. G., Yokoyama, W., & Kim, H. (2017). Antiobesity Effect of Exopolysaccharides Isolated from Kefir Grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(46), 10011–10019. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03764>
- Limbad, M., Gutierrez Maddox, N., Hamid, N., & Kantono, K. (2020). Sensory and Physicochemical Characterization of Sourdough Bread Prepared with a Coconut Water Kefir Starter. *Foods*, 9(9), 1165. <https://doi.org/10.3390/foods9091165>
- Lin, M. Y., & Yen, C. L. (1999). Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1460–1466. <https://doi.org/10.1021/jf9811491>
- Liu, J. R., Lin, Y. Y., Chen, M. J., Chen, L. J., & Lin, C. W. (2005). Antioxidative activities of kefir. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18(4), 567–573. <https://doi.org/10.5713/ajas.2005.567>
- Liu, J., Wang, S., Lin, Y., & Lin, C. (2002). Antitumor Activity of Milk Kefir and Soy Milk Kefir in Tumor-Bearing Mice. *Nutrition and Cancer*, 44(2), 182–187. <https://doi.org/10.1207/S15327914NC4402>
- Löbs, A. K., Schwartz, C., Thorwall, S., & Wheeldon, I. (2018). Highly Multiplexed CRISPRi Repression of Respiratory Functions Enhances Mitochondrial Localized Ethyl Acetate Biosynthesis in *Kluyveromyces marxianus*. *ACS Synthetic Biology*, 7(11), 2647–2655. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.8b00331>
- Lopitz-Otsoa, F., Rementeria, A., Elguezal, N., & Garaizar, J. (2006). Kefir: A symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. In *Revista Iberoamericana de Micología* (Vol. 23, Issue 2, pp. 67–74). Asociacion Espanola de Micologia. [https://doi.org/10.1016/s1130-1406\(06\)70016-x](https://doi.org/10.1016/s1130-1406(06)70016-x)
- Luang-In, V., Saengha, W., Yotchaisarn, M., & Udomwong, P. (2018). Microbial Strains and Bioactive Exopolysaccharide Producers from Thai Water Kefir. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.4014/mb1.1804.04019>
- Ma, Y., Liu, J., Hou, J., Dong, Y., Lu, Y., Jin, L., Cao, R., Li, T., & Wu, J. (2014). Oral administration of recombinant *Lactococcus lactis* expressing HSP65 and tandemly repeated P277 reduces the incidence of type I diabetes in non-obese diabetic mice. *PLoS ONE*, 9(8), e105701. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105701>
- Magalhães, K. T., de Melo Pereira, G. V., Campos, C. R., Dragone, G., & Schwan, R. F. (2011). Brazilian kefir: Structure, microbial communities and chemical composition. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(2), 693–702. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000200034>
- Magalhães, K. T., de Pereira, G. V. M., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2010). Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(7), 1241–1250. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0294-x>

- Mainville, I., Robert, N., Lee, B., & Farnworth, E. R. (2006). Polyphasic characterization of the lactic acid bacteria in kefir. *Systematic and Applied Microbiology*, 29(1), 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2005.07.001>
- Margulis, L., Sagan, D., & Margulis, L. (1997). From Kefir to Death. In *Slanted Truths* (pp. 83–90). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2284-2_7
- Marques, V. D., Franzolin, M. R., Sanabani, S. S., Vigerelli, H., Piazza, R. M. F., Pimenta, D. C., Venâncio, T., Neves, I. V., de Sousa Silva, H. G., dos Santos Courrol, D., Mendonça-Previato, L., Previato, J. O., Jorge, S. A. C., & de Oliveira Domingos, M. (2020). A new class of antimicrobial molecules derived from kefir, effective against *Pseudomonas aeruginosa* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains. *Scientific Reports*, 10(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73651-7>
- Marsh, A. J., O’Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2013). Sequencing-Based Analysis of the Bacterial and Fungal Composition of Kefir Grains and Milks from Multiple Sources. *PLoS ONE*, 8(7), e69371. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069371>
- Marshall, V. M., & Cole, W. M. (1985). Methods for Making Kefir and Fermented Milks Based on Kefir. *Journal of Dairy Research*, 52(3), 451–456. <https://doi.org/10.1017/S0022029900024353>
- Matos, R. S., Ramos, G. Q., da Fonseca Filho, H. D., & Tãlu, Ş. (2020). Advanced micromorphology study of microbial films grown on Kefir loaded with Açai extract. *Micron*, 137. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2020.102912>
- Mei, J., Guo, Q., Wu, Y., & Li, Y. (2014). Microbial Diversity of a Camembert-Type Cheese Using Freeze-Dried Tibetan Kefir Coculture as Starter Culture by Culture-Dependent and Culture-Independent Methods. *PLoS ONE*, 9(10), e111648. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111648>
- Menrad, K., K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56(Nr.2-3), 181–188.
- Micheli, L., Uccelletti, D., Palleschi, C., & Crescenzi, V. (1999). Isolation and characterisation of a ropy *Lactobacillus* strain producing the exopolysaccharide kefiran. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53(1), 69–74. <https://doi.org/10.1007/s002530051616>
- Mogheth, S. A. El, & El Gendy, A. O. (2017). Exploring the Antimicrobial and Hepatoprotective Effects of Kefir; A Probiotic Fermented Milk. *Journal of Probiotics & Health*, 05(02). <https://doi.org/10.4172/2329-8901.1000173>
- Mollet, B., & Rowland, I. (2002). Functional foods: At the frontier between food and pharma. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(5), 483–485. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00375-0](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00375-0)
- Monar, M., Dávalos, I., Zapata, S., Caviedes, M., & Ramírez-Cárdenas, L. (2014). Caracterización química y microbiológica del kéfir de agua artesanal de origen ecuatoriano. *ACI Avances En Ciencias e Ingenierías*, 6(1). <https://doi.org/10.18272/aci.v6i1.160>
- Moradi, Z., & Kalanpour, N. (2019). Kefiran, a branched polysaccharide: Preparation, properties and applications: A review. In *Carbohydrate Polymers* (Vol. 223). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115100>
- Moreira, M. E. C., Santos, M. H. D., Zolini, G. P. P., Wouters, A. T. B., Carvalho, J. C. T., & Schneedorf, J. M. (2008). Anti-inflammatory and cicatrizing activities of a carbohydrate fraction isolated from sugary kefir. *Journal of Medicinal Food*, 11(2), 356–361. <https://doi.org/10.1089/jmf.2007.329>
- Motedayen, A. A., Khodaiyan, F., & Salehi, E. A. (2013). Development and characterisation of composite films made of kefir and starch. *Food Chemistry*, 136(3–4), 1231–1238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.073>

- Nagira, T., Narisawa, J., Kusumoto, K., Teruya, K., Katakura, Y., Barnes, D., Tokumaru, S., & Shirahata, S. (1999). Protection of Human Melanoma Cells from UV Damage by a Fermented Milk, Kefir. *Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects*, 10, 369–373. https://doi.org/10.1007/0-306-46865-4_64
- Nalbantoglu, U., Cakar, A., Dogan, H., Abaci, N., Ustek, D., Sayood, K., & Can, H. (2014). Metagenomic analysis of the microbial community in kefir grains. *Food Microbiology*, 41, 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.01.014>
- Nambu-Nishida, Y., Nishida, K., Hasunuma, T., & Kondo, A. (2018). Genetic and physiological basis for antibody production by *Kluyveromyces marxianus*. *AMB Express*, 8(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0588-1>
- Nasrabadi, H., & Ebrahimi, T. (2011). Comparison of the effects of *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus plantarum* on cutaneous wound healing in rats. *African Journal of Microbiology Research*, 5(24), 4226–4233. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.956>
- Nikolaou, A., Galanis, A., Kanellaki, M., Tassou, C., Akrida-Demertzi, K., & Kourkoutas, Y. (2017). Assessment of free and immobilized kefir culture in simultaneous alcoholic and malolactic cider fermentations. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.10.034>
- Nikolaou, A., Kandylis, P., Kanellaki, M., & Kourkoutas, Y. (2020). Winemaking using immobilized kefir cells on natural zeolites. *LWT*, 133, 110043. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110043>
- Nikolaou, A., Nelios, G., Kanellaki, M., & Kourkoutas, Y. (2020). Freeze-dried immobilized kefir culture in cider-making. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(8), 3319–3327. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10363>
- Nikolaou, A., Sgouros, G., Mitropoulou, G., Santarmaki, V., & Kourkoutas, Y. (2020). Freeze-Dried Immobilized Kefir Culture in Low Alcohol Winemaking. *Foods*, 9(2), 115. <https://doi.org/10.3390/foods9020115>
- Nikolaou, A., Tsakiris, A., Kanellaki, M., Bezirtzoglou, E., Akrida-Demertzi, K., & Kourkoutas, Y. (2019). Wine production using free and immobilized kefir culture on natural supports. *Food Chemistry*, 272, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.015>
- Nogueira, L. K., Aguiar-Oliveira, E., Kamimura, E. S., & Maldonado, R. R. (2016). Milk and açai berry pulp improve sensorial acceptability of kefir-fermented milk beverage. *Acta Amazonica*, 46(4), 417–424. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201600173>
- O'Brien, K. V., Aryana, K. J., Prinyawiwatkul, W., Ordonez, K. M. C., & Boenke, C. A. (2016). Short communication: The effects of frozen storage on the survival of probiotic microorganisms found in traditionally and commercially manufactured kefir. *Journal of Dairy Science*, 99(9), 7043–7048. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10284>
- Olaya, N. N., Ulloa, J. C., Velez, F. A., Fernandez, K. P., Salas, S. P., & Gutierrez, M. F. (2016). In vitro antiviral activity of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium adolescentis* against rotavirus infection monitored by NSP4 protein production. *Journal of Applied Microbiology*, 120(4), 1041–1051. <https://doi.org/10.1111/jam.13069>
- Oliveira, A. P. de, Santos, G. A. dos, Nomura, C. S., & Naozuka, J. (2019). Elemental chemical composition of products derived from kefir fermented milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 78, 86–90. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.02.005>
- Ostadrhimi, A., Taghizadeh, A., Mobasseri, M., Farrin, N., Payahoo, L., Beyramalipoor Gheshlaghi, Z., & Vahedjabbari, M. (2015). Effect of probiotic fermented milk (Kefir) on glycemic control and lipid profile in type 2 diabetic patients: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Iranian Journal of Public Health*, 44(2), 228–237. <http://ijph.tums.ac.ir>

- Otles, S., & Cagindi, O. (2003). Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2(2), 54–59. <https://doi.org/10.3923/pjn.2003.54.59>
- Pais, J., Nuñez, J., Rivera-Intriago, L., Trujillo, L., Alvarado, P., & Cuaran, M. (2018). Response Surface Methodology to Optimize a Bioprocess for Kefiran Production. *Prensa Med Argent*, 104(2), 5–21. <https://doi.org/10.4172/0032-745X.1000285>
- Perna, A., Simonetti, A., & Gambacorta, E. (2019). Phenolic content and antioxidant activity of donkey milk kefir fortified with sulla honey and rosemary essential oil during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, 72(1), 74–81. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12561>
- Piermaria, J., Diosma, G., Aquino, C., Garrrote, G., & Abraham, A. (2015). Edible kefir films as vehicle for probiotic microorganisms. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 32, 193–199. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.09.009>
- Plessas, S., Pherson, L., Bekatorou, A., Nigam, P., & Koutinas, A. A. (2005). Bread making using kefir grains as baker's yeast. *Food Chemistry*, 93(4), 585–589. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.034>
- Plessas, Stavros, Trantallidi, M., Bekatorou, A., Kanellaki, M., Nigam, P., & Koutinas, A. A. (2007). Immobilization of kefir and *Lactobacillus casei* on brewery spent grains for use in sourdough wheat bread making. *Food Chemistry*, 105(1), 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.065>
- Pop, C., Apostu, S., Salanță, L., Rotar, A. M., Sindic, M., Mabon, N., & Socaciu, C. (2014). Influence of Different Growth Conditions on the Kefir Grains Production, used in the Kefiran Synthesis. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 71(2). <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:10802>
- Prado, M. R., Blandón, L. M., Vandenberghe, L. P. S., Rodrigues, C., Castro, G. R., Thomaz-Soccol, V., & Soccol, C. R. (2015). Milk kefir: Composition, microbial cultures, biological activities, and related products. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 6, Issue OCT, p. 1177). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01177>
- Putri, Y. D., Setiani, N. A., & Warya, S. (2020). The Effect of Temperature, Incubation and Storage Time on Lactic Acid Content, pH, and Viscosity of Goat Milk Kefir. *Current Research on Biosciences and Biotechnology*, 2(1), 101–104. <https://doi.org/10.5614/crbb.2020.2.1/hpmq5042>
- Radhouani, H., Gonçalves, C., Maia, F. R., Oliveira, J. M., & Reis, R. L. (2018). Kefiran biopolymer: Evaluation of its physicochemical and biological properties. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 33(5), 461–478. <https://doi.org/10.1177/0883911518793914>
- Rafie, N., Hamedani, S. G., Ghiasv, R., & Miraghajani, M. (2015). Kefir and cancer: A systematic review of literatures. In *Archives of Iranian Medicine* (Vol. 18, Issue 12, pp. 852–857). Academy of Medical Sciences of I.R. Iran. <https://doi.org/0151812/AIM.0011>
- Ratray, F. P., & O'Connell, M. J. (2011). Fermented Milks: Kefir. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 518–524). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00188-6>
- Rehman, R. U., Wang, Y., Wang, J., & Geng, W. (2018). Physicochemical analysis of Mozzarella cheese produced and developed by the novel EPS-producing strain *Lactobacillus kefirifaciens* ZW3. *International Journal of Dairy Technology*, 71, 90–98. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12445>
- Ribeiro, A. C., Lemos, Á. T., Lopes, R. P., Mota, M. J., Inácio, R. S., Gomes, A. M. P., Sousa, S., Delgadillo, I., & Saraiva, J. A. (2020). The combined effect of pressure and temperature on kefir production—A case study of food fermentation in unconventional conditions. *Foods*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/foods9081133>

- Roberfroid, M. B. (2000a). A European consensus of scientific concepts of functional foods. *Nutrition*, 16(7–8), 689–691. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(00\)00329-4](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(00)00329-4)
- Roberfroid, M. B. (2000b). Concepts and strategy of functional food science: The European perspective. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6 SUPPL.), 1660S-1664S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.6.1660s>
- Rocha-Gomes, A., Escobar, A., Soares, J. S., da Silva, A. A., Dessimoni-Pinto, N. A. V., & Riul, T. R. (2018). Chemical composition and hypocholesterolemic effect of milk kefir and water kefir in Wistar rats. *Revista de Nutricao*, 31(2), 137–145. <https://doi.org/10.1590/1678-98652018000200001>
- Rodrigues, K. L., Gaudino Caputo, L. R., Tavares Carvalho, J. C., Evangelista, J., & Schneedorf, J. M. (2005). Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25(5), 404–408. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2004.09.020>
- Santos, A., San Mauro, M., Sanchez, A., Torres, J. M., & Marquina, D. (2003). The antimicrobial properties of different strains of *Lactobacillus* spp. isolated from kefir. *Systematic and Applied Microbiology*, 26(3), 434–437. <https://doi.org/10.1078/072320203322497464>
- Sarkar, S. (2008). Biotechnological innovations in kefir production: A review. *British Food Journal*, 110(3), 283–295. <https://doi.org/10.1108/00070700810858691>
- Satir, G., & Guzel-Seydim, Z. B. (2016). How kefir fermentation can affect product composition? *Small Ruminant Research*, 134, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.10.022>
- Setiyoningrum, F., Priadi, G., & Afati, F. (2019). Supplementation of ginger and cinnamon extract into goat milk kefir. *AIP Conference Proceedings*, 2175. <https://doi.org/10.1063/1.5134633>
- Shida, K., Makino, K., Morishita, A., Takamizawa, K., Hachimura, S., Ametani, A., Sato, T., Kumagai, Y., Habu, S., & Kaminogawa, S. (1998). *Lactobacillus casei* Inhibits Antigen-Induced IgE Secretion through Regulation of Cytokine Production in Murine Splenocyte Cultures. *International Archives of Allergy and Immunology*, 115(4), 278–287. <https://doi.org/10.1159/000069458>
- Simova, E., Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, T., Frengova, G., & Spasov, Z. (2002). Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28(1), 1–6. <https://doi.org/10.1038/sj/jim/7000186>
- Sirirat, D., & Jelena, P. (2010). Bacterial inhibition and antioxidant activity of kefir produced from Thai jasmine rice milk. *Biotechnology*, 9(3), 332–337. <https://doi.org/10.3923/biotech.2010.332.337>
- Smet, K., Raes, K., De Block, J., Herman, L., Dewettinck, K., & Coudijzer, K. (2008). A change in antioxidative capacity as a measure of onset to oxidation in pasteurized milk. *International Dairy Journal*, 18(5), 520–530. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.11.012>
- Smith, I. M., Christensen, J. E., Arneborg, N., & Jespersen, L. (2014). Yeast Modulation of Human Dendritic Cell Cytokine Secretion: An In Vitro Study. *PLoS ONE*, 9(5), e96595. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096595>
- St-Onge, M. P., Farnworth, E. R., & Jones, P. J. H. (2000). Consumption of fermented and nonfermented dairy products: Effects on cholesterol concentrations and metabolism. In *American Journal of Clinical Nutrition* (Vol. 71, Issue 3, pp. 674–681). American Society for Nutrition. <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.3.674>
- Stanton, C., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Van Sinderen, D. (2005). Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current Opinion in Biotechnology*, 16(2), 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2005.02.008>
- Sulistyaningtyas, A. R., Lunggani, A. T., & Kusdiyantini, E. (2019). Kefir produced from red rice milk by *Lactobacillus bulgaricus* and can-

- didida kefir starter. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 292(1), 012038. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/292/1/012038>
- Sulmiyati, Said, N., Fahrodi, D. U., Malaka, R., & Maruddin, F. (2019). Assessment of the antibacterial activity of goat milk kefir on *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar typhimurium ATCC 14028 using a well diffusion method. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 247(1), 012051. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/247/1/012051>
- Sunmola, A. A., Ogbole, O. O., Faleye, T. O. C., Adetoye, A., Adeniji, J. A., & Ayeini, F. A. (2019). Antiviral potentials of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus amylovorus*, and *Enterococcus hirae* against selected Enterovirus. *Folia Microbiologica*, 64(2), 257–264. <https://doi.org/10.1007/s12223-018-0648-6>
- Tan, K. X., Chamundeswari, V. N., & Loo, S. C. J. (2020). Prospects of kefir as a food-derived biopolymer for agri-food and biomedical applications. In *RSC Advances* (Vol. 10, Issue 42, pp. 25339–25351). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/d0ra02810j>
- Tanaka, K., Ishii, Y., Ogawa, J., & Shima, J. (2012). Enhancement of acetic acid tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* by overexpression of the Haa1 gene, encoding a transcriptional activator. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(22), 8161–8163. <https://doi.org/10.1128/AEM.02356-12>
- Tang, W., Li, C., He, Z., Pan, F., Pan, S., & Wang, Y. (2018). Probiotic Properties and Cellular Antioxidant Activity of *Lactobacillus plantarum* MA2 Isolated from Tibetan Kefir Grains. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10(3), 523–533. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9349-8>
- Tellez, A., Corredig, M., Brovko, L. Y., & Griffiths, M. W. (2010). Characterization of immune-active peptides obtained from milk fermented by *Lactobacillus helveticus*. *Journal of Dairy Research*, 77(2), 129–136. <https://doi.org/10.1017/S002202990999046X>
- Tiss, M., Souiy, Z., Abdeljelil, N. ben, Njima, M., Achour, L., & Hamden, K. (2020). Fermented soy milk prepared using kefir grains prevents and ameliorates obesity, type 2 diabetes, hyperlipidemia and Liver-Kidney toxicities in HFFD-rats. *Journal of Functional Foods*, 67, 103869. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103869>
- Topuz, E., Derin, D., Can, G., Kürklü, E., Çınar, S., Aykan, F., Çevikbaş, A., Dişçi, R., Durna, Z., Şakar, B., Sağlam, S., Tanyeri, H., Deniz, G., Güner, Ü., Taş, F., Guney, N., & Aydiner, A. (2008). Effect of oral administration of kefir on serum proinflammatory cytokines on 5-FU induced oral mucositis in patients with colorectal cancer. *Investigational New Drugs*, 26(6), 567–572. <https://doi.org/10.1007/s10637-008-9171-y>
- Tu, M.-Y., Chen, H.-L., Tung, Y.-T., Kao, C.-C., Hu, F.-C., & Chen, C.-M. (2015). Short-Term Effects of Kefir-Fermented Milk Consumption on Bone Mineral Density and Bone Metabolism in a Randomized Clinical Trial of Osteoporotic Patients. *PLOS ONE*, 10(12), e0144231. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144231>
- Tu, M.-Y., Han, K.-Y., Chang, G. R.-L., Lai, G.-D., Chang, K.-Y., Chen, C.-F., Lai, J.-C., Lai, C.-Y., Chen, H.-L., & Chen, C.-M. (2020). Kefir Peptides Prevent Estrogen Deficiency-Induced Bone Loss and Modulate the Structure of the Gut Microbiota in Ovariectomized Mice. *Nutrients*, 12(11), 3432. <https://doi.org/10.3390/nu12113432>
- Tung, M. C., Lan, Y. W., Li, H. H., Chen, H. L., Chen, S. Y., Chen, Y. H., Lin, C. C., Tu, M. Y., & Chen, C. M. (2020). Kefir peptides alleviate high-fat diet-induced atherosclerosis by attenuating macrophage accumulation and oxidative stress in ApoE knockout mice. *Scientific Reports*, 10(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65782-8>
- Ulusoy, B. H., Çolak, H., Hampikyan, H., & Erkan, M. E. (2007). An in vitro study on the antibacterial effect of kefir against some food-borne pathogens. *Veterinary Medicine*, 37, 103–107.

- Vardjan, T., Mohar Lorbeg, P., Rogelj, I., & Čanžek Majhenič, A. (2013). Characterization and stability of lactobacilli and yeast microbiota in kefir grains. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 2729–2736. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5829>
- Viana, R. O., Magalhães-Guedes, K. T., Braga, R. A., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2017). Fermentation process for production of apple-based kefir vinegar: microbiological, chemical and sensory analysis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(3), 592–601. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.11.006>
- Vinderola, C., Duarte, J., Thangavel, D., Perdigón, G., Farnworth, E., & Matar, C. (2005). Distal mucosal site stimulation by kefir and duration of the immune response. *European Journal of Inflammation*, 3(2), 63–73. <https://doi.org/10.1177/1721727X0500300203>
- Vinderola, C., Duarte, J., Thangavel, D., Perdigón, G., Farnworth, E., & Matar, C. (2005). Immunomodulating capacity of kefir. *Journal of Dairy Research*, 72(2), 195–202. <https://doi.org/10.1017/S0022029905000828>
- Vujičić, I., Vulić, M., & Könyves, T. (1992). Assimilation of cholesterol in milk by kefir cultures. *Biotechnology Letters*, 14(9), 847–850. <https://doi.org/10.1007/BF01029151>
- Walsh, A. M., Crispie, F., Kilcawley, K., O’Sullivan, O., O’Sullivan, M. G., Claesson, M. J., & Cotter, P. D. (2016). Microbial Succession and Flavor Production in the Fermented Dairy Beverage Kefir. *MSystems*, 1(5). <https://doi.org/10.1128/msystems.00052-16>
- Wang, Y., Ahmed, Z., Feng, W., Li, C., & Song, S. (2008). Physicochemical properties of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefirifaciens* ZW3 isolated from Tibet kefir. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43(3), 283–288. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2008.06.011>
- Wang, Y., Xu, N., Xi, A., Ahmed, Z., Zhang, B., & Bai, X. (2009). Effects of *Lactobacillus plantarum* MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats fed on high-cholesterol diet. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84(2), 341–347. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2012-x>
- Watterlot, L., Rochat, T., Sokol, H., Cherbuy, C., Bouloufa, I., Lefèvre, F., Grata-doux, J. J., Honvo-Hueto, E., Chilmonczyk, S., Blugeon, S., Corthier, G., Langella, P., & Bermúdez-Humarán, L. G. (2010). Intra-gastric administration of a superoxide dismutase-producing recombinant *Lactobacillus casei* BL23 strain attenuates DSS colitis in mice. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1), 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.037>
- Witthuhn, R. C., Schoeman, T., & Britz, T. J. (2005). Characterisation of the microbial population at different stages of Kefir production and Kefir grain mass cultivation. *International Dairy Journal*, 15(4), 383–389. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.07.016>
- Wszolek, M., Kupiec-Teahan, B., Skov Gul-dager, H., & Tamime, A. Y. (2007). Production of Kefir, Koumiss and other Related Products. In *Fermented Milks* (pp. 174–216). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470995501.ch8>
- Xiao, J. Z., Kondo, S., Takahashi, N., Miyaji, K., Oshida, K., Hiramatsu, A., Iwatsuki, K., Kokubo, S., & Hosono, A. (2003). Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers. *Journal of Dairy Science*, 86(7), 2452–2461. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73839-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73839-9)
- Yap, W. B., Ahmad, F. M., Lim, Y. C., & Zainalabidin, S. (2016). *Lactobacillus casei* strain C1 attenuates vascular changes in spontaneously hypertensive rats. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 20(6), 621–628. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2016.20.6.621>
- Yilmaz-Ersan, L., Ozcan, T., Akpınar-Bayizit, A., & Sahin, S. (2016). The Antioxidative Capacity of Kefir Produced from Goat Milk. *International Journal of Chemical Engineering and*

- Applications, 7(1), 22–26. <https://doi.org/10.7763/ijcea.2016.v7.535>
- Yıldız-Akgül, F., Yetişemiyen, A., Şenel, E., & Yıldırım, Z. (2018). Kefir produced by secondary fermentation. *Mljekarstvo*, 68(3), 201–213. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2018.0305>
- Yusuf, D., Nuraida, L., Dewanti-Hariyadi, R., & Hunaefi, D. (2020). In Vitro Characterization of Lactic Acid Bacteria from Indonesian Kefir Grains as Probiotics with Cholesterol-Lowering Effect. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(5), 726–732. <https://doi.org/10.4014/jmb.1910.10028>
- Zajšek, K., & Goršek, A. (2010). Modelling of batch kefir fermentation kinetics for ethanol production by mixed natural microflora. *Food and Bioprocess Technology*, 88(1), 55–60. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2009.09.002>
- Zamperi, N. R., Abu, N., Mohamed, N. E., Nordin, N., Keong, Y. S., Beh, B. K., Zakaria, Z. A. B., Nik Abdul Rahman, N. M. A., & Alitheen, N. B. (2016). The Antimetastatic and Antiangiogenesis Effects of Kefir Water on Murine Breast Cancer Cells. *Integrative Cancer Therapies*, 15(4), NP53–NP66. <https://doi.org/10.1177/1534735416642862>
- Zamperi, N. R., Mohamad, N. E., Yeap, S. K., Ky, H., Beh, B. K., Liew, W. C., Tan, S. W., Ho, W. Y., Boo, S. Y., Chua, Y. H., & Alitheen, N. B. (2016). 16S Metagenomic Microbial Composition Analysis of Kefir Grain using MEGAN and BaseSpace. *Food Biotechnology*, 30(3), 219–230. <https://doi.org/10.1080/08905436.2016.1200987>
- Zhang, D. X., Kang, Y. H., Chen, L., Siddiqui, S. A., Wang, C. F., Qian, A. D., & Shan, X. F. (2018). Oral immunization with recombinant *Lactobacillus casei* expressing OmpAI confers protection against *Aeromonas veronii* challenge in common carp, *Cyprinus carpio*. *Fish and Shellfish Immunology*, 72, 552–563. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.10.043>
- Zhou, J., Zhu, P., Hu, X., Lu, H., & Yu, Y. (2018). Improved secretory expression of lignocellulolytic enzymes in *Kluyveromyces marxianus* by promoter and signal sequence engineering. *Biotechnology for Biofuels*, 11(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1232-7>
- Zolfi, M., Khodaiyan, F., Mousavi, M., & Hashemi, M. (2014). The improvement of characteristics of biodegradable films made from kefir whey protein by nanoparticle incorporation. *Carbohydrate Polymers*, 109, 118–125. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.03.018>
- Zongo, O., Cruvellier, N., Leray, F., Bideaux, C., Lesage, J., Zongo, C., Traoré, Y., Savadogo, A., & Guillouet, S. (2020). Physicochemical composition and fermentation kinetics of a novel Palm Sap-based Kefir Beverage from the fermentation of *Borassus aethiopum* Mart. fresh sap with kefir grains and ferments. *Scientific African*, 10, e00631. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00631>
- Zhou, J., Zhu, P., Hu, X., Lu, H., & Yu, Y. (2018). Improved secretory expression

**Contaminación alimentaria por hidrocarburos aromáticos policíclicos:
impacto en la salud pública y legislación en México**

Food contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons: impact on public health and legislation in Mexico

Héctor Reyes^{1*}; Julio Montes²; Alberto Cabrera³

^{1*}Laboratorio Estatal de Salud Pública de Sinaloa-Autor para correspondencia;

²Facultad de Ciencias Químico-Biológicas-UAS;

³Centro de Graduados e Investigación en Química-ITT

*Autor para correspondencia: Tel. +526 673928609; email: hetor1704@hotmail.com

Recibido: 27 de enero de 2021

Aceptado: 8 de junio de 2021

Resumen

Los compuestos formados durante el almacenamiento, procesado y preparación de los alimentos constituyen una de las principales fuentes exógenas de compuestos genotóxicos y carcinogénicos. En los alimentos calentados, los HAPs representan un grupo prioritario de contaminantes químicos con efectos adversos para la salud a largo plazo. El objetivo de este trabajo es poner de manifiesto la presencia de HAPs en alimentos y el riesgo para la salud que implica el no contar con un control sanitario en nuestro país. De acuerdo con los resultados observados, los niveles más altos de HAPs, se encontraron en pescados ahumados (1461.79 µg/kg), bebidas de té, café y cacao (1406.4 µg/kg), mejillones de granja (1314.45 µg/kg) y silvestres (905.66 µg/kg), pollo a la parrilla marinado (457.3 µg/kg) y pescado crudo (401 µg/kg). En todos los casos se exceden los valores permitidos por la Comisión Europea (CE). Esta revisión permitió conocer algunos métodos de cuantificación y cantidades de HAPs presentes en alimentos. En México no existe regulación sanitaria al respecto, por lo que resulta imperioso que por lo menos las entidades regulatorias en nuestro país se unan a la normativa establecida por la CE.

Palabras clave: Benzo[a]pireno, alimentos, carcinógeno, genotóxico

Abstract

Compounds formed during food storage, processing and preparation constitute one of the main exogenous sources of genotoxic and carcinogenic compounds. In heated foods, PAHs represent a priority group of chemical contaminants with long-term adverse health effects. The objective of this work is to highlight the presence of PAHs in food and the health risk that is implied by not having a sanitary control in our country. According to the observed results, the highest levels of PAHs were found in smoked fish (1461.79 $\mu\text{g} / \text{kg}$), tea, coffee and cocoa drinks (1406.4 $\mu\text{g} / \text{kg}$), farm mussels (1314.45 $\mu\text{g} / \text{kg}$) and wild (905.66 $\mu\text{g} / \text{kg}$), marinated grilled chicken (457.3 $\mu\text{g} / \text{kg}$) and raw fish (401 $\mu\text{g} / \text{kg}$). In all cases the values allowed by the European Commission (EC) are exceeded. This review allowed us to know some quantification methods and quantities of PAHs present in food. In Mexico there is no health regulation in this regard, so it is imperative that at least the regulatory entities in our country adhere to the regulations established by the CE.

Keywords: Benzo[a]pyrene, food, carcinogen, genotoxic.

1. Introducción

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) constituyen un amplio grupo de compuestos orgánicos formados por la fusión de dos o más anillos aromáticos (Tabla I). Los HAPs se forman por pirolisis de materia orgánica (petróleo, carbón, gasolina, basura, tabaco, carne y pescado) y en numerosos procesos industriales (Fetzer, 2007). La principal ruta de exposición es el consumo de alimentos contaminados con HAPs (97%), el tabaquismo contribuye significativamente. En muchos de ellos se ha demostrado que son carcinogénicos, genotóxicos y mutagénicos. La actividad cancerígena se ha puesto de manifiesto por varias vías (oral, inhalatoria y dérmica) produciendo tumores en diferentes órganos y tejidos (Verkade & Tso, 2001). En 1915 Yamagawa e Ichikawa dejaron bien establecido que el alquitrán inducía cáncer de piel al aplicarse de forma continua en las orejas de animales de laboratorio (Vives, Grimalt & Guitart, 2001).

1.1 Metabolismo

La tasa de absorción pulmonar depende del tipo de HAPs. Por vía digestiva se produce una absorción rápida en los roedores, pero los metabolitos vuelven al intestino mediante la excreción biliar. En estudios de absorción percutánea de mezclas de HAPs utilizadas en roedores se observó que llegaban rápidamente a los pulmones (Kazerouni, Sinha, Hsu, Greenberg, & Rothman, 2002).

El Benzo[a]pireno (BaP), uno de los indicadores de contaminación por HAPs, presenta varias rutas metabólicas, una de las más importantes es la de la monooxigenasa microsomal CITOCROMO P450 (Becerril, Acevedo, Llorente, & Castaño, 2004).

Los metabolitos de los HAPs y sus conjugados se excretan por la orina y las heces, pero los conjugados que se excretan por la bilis pueden hidrolizarse por acción de las enzimas de la microbiota intestinal y reabsorberse (Harvey & Boelsterli, 2003).

La ruta más aceptada para la activación del BaP incluye las isoformas CYP1A1 y CYP1B1, que actúa sobre la zona de alta densidad electrónica de la molécula, formando epóxidos, que pueden ser atacados por la enzima epóxido hidrolasa, para producir dioles, los cuales generan fenoles y dihidrodiol epóxidos, estos últimos se pueden convertir a tetroles, conjugarse con glutatión o causar una modificación covalente de macromoléculas celulares, dando lugar a respuestas mutagénicas y cancerígenas (Figura 1) (Quiñones, et al., 2006; Vasiluk, Pinto, Tsang, Gobas, Eickhof, & Moore, 2008; Tobón & Botero, 2013).

1.2 Genotoxicidad y carcinogenicidad

El BaP está catalogado dentro de las 10 sustancias más importantes con riesgo para la salud pública. Estudios indican que el BaP es genotóxico y carcinógeno (Tabla I) (Lijinsky, 1991; World Health Organization, 1998). Los HAPs en general producen tumores, tanto en el lugar de contacto como en otros lejanos (Harvey & Boelsterli, 2003).

1.3 Síntesis de BaP a partir del colesterol y de componentes del petróleo

La formación de BaP ocurre durante la combustión incompleta del aceite para cocinar y de los alimentos procesados (fuente antropogénica). Este compuesto pirorgánico, al igual que otros HAPs, están presentes en alimentos asados y fritos, carnes y pescados a la brasa y a la parrilla, alimentos ahumados, alimentos tostados, pan, café, cereales,

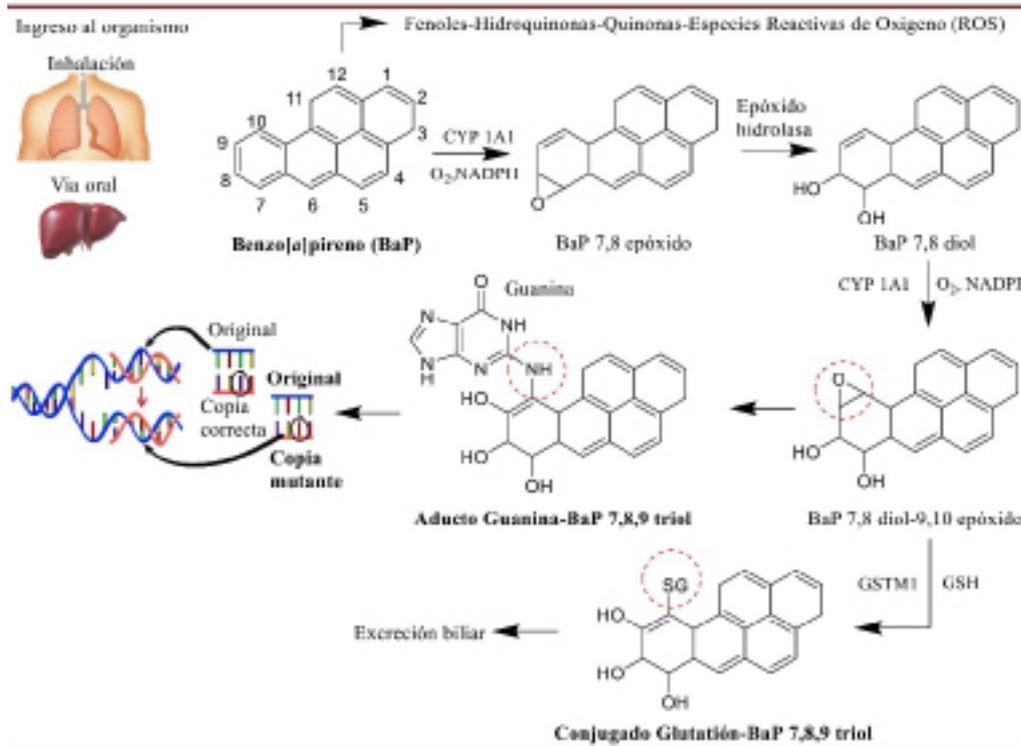


Figura 1. Metabolismo hepático del BaP y formación de aductos con guanina (Quiñones, et al., 2006).

vegetales entre otros (Caméan, Jos, Moreno, Pichardo & Repetto. 2006; Pérez-Morales, Morales & Haza, 2016).

HAP	Abreviatura	Estructura	Genotóxico	Carcinógeno
Benzo[a]pireno	BaP		+	+
Ciclopenta[c,d]pireno	CPP		+	+
Dibenzo[α,h]pireno	DBaHP		+	+
Dibenzo[α,i]pireno	DBaIP		+	+
Dibenzo[α,l]pireno	DBaLP		+	+
Indeno[1,2,3-cd]pireno	IP		+	+
Criseno	CHR		+	+
5-Metilcriseno	5-MCHR		+	+
Benzo[a]antraceno	BaA		+	+
Benzo[g,h,i]perileno	BghiP		+	-
Benzo[b]fluoranteno	BbFA		+	+
Benzo[j]fluoranteno	BjFA		+	+
Benzo[k]fluoranteno	BkFA		+	+

Tabla 1. Reporte de genotoxicidad y carcinogenicidad de HAPs (Safety, W. H. 1998).

La formación del BaP puede darse por la oxidación compleja de los ácidos grasos y carbohidratos. A altas temperaturas, los compuestos orgánicos se fragmentan fácilmente (pirólisis) y los radicales libres producidos se unen para formar compuestos aromáticos polinucleares estables (pirosíntesis). Uno de los mecanismos es a partir del colesterol mediante 4 etapas. La primera etapa inicia con la ruptura homolítica (formación de radicales libres) del enlace entre los carbonos 14 y 15 del anillo D y el rompimiento de la cadena alifática lateral entre los carbonos 17 y 20, posteriormente se realiza la ciclación para la formación de la estructura penta anular mediante la formación de tres nuevos enlaces con los carbonos 7, 14 y 15, respectivamente, con la pérdida de un grupo alquílico de cinco miembros de la cadena alifática lateral. La segunda etapa consiste en la deshidratación del alcohol para la formación de una nueva insaturación entre los carbonos 3 y 4 por pérdida del grupo hidroxilo en C-3 y el hidrógeno en C-4. En la tercera etapa se pierden los metilos 19 y 18 por deslocalización electrónica hacia el carbono 10 y pérdida del hidrógeno en C-14 respectivamente, formándose una nueva insaturación entre los carbonos 13 y 14. Finalmente en la etapa cuatro sucede la pérdida múltiple de hidrógenos para la formación de poliinsaturaciones de la estructura penta anular y la formación del benzopireno (Figura 2) (De la Cruz & Huamán, 2002).

Desde 1958 Badger y colaboradores sugirieron que el BaP y el Criseno se forman por reacciones a alta temperatura (combustión incompleta) a partir de hidrocarburos más simples, y que un compuesto C6-C4 como butilbenceno (componente del petróleo)

puede ser el intermediario principal. Al reaccionar dos de estas moléculas dan como resultado la formación de otro intermediario derivado del naftaleno que sufre una ciclodeshidrogenación inmediata para formar BaP. Esto se demostró por pirolisis de butilbenceno, de tetralina o de n-decano a 700 °C. La oxidación del BaP da benzo[a]pireno-4,5-diona, intermediario que luego se oxida aún más y posterior a una descarboxilación forma el Criseno, otro HAP carcinogénico y genotóxico (Figura 3) (Badger & Novotny, 1963).

1.4 Reportes de BaP y otros HAPs en alimentos crudos y procesados.

Kaseuroni et al. (2001). Este grupo demostró por cromatografía en capa fina y fluorescencia niveles altos de BaP, (hasta aproximadamente 4.0 µg/kg en carne cocida) en hamburguesas de carne de vacuno y pollo asados a la parrilla. Sin embargo, ciertos cereales y verduras (por ejemplo, col rizada y hojas de col rizada) tenían niveles de hasta 0.5 µg/kg.

Cavret et al. (2005). En trabajos previos cuantificaron BaP en leche y productos lácteos y reportaron concentraciones entre 1.5 y 7.5 µg/kg. Otro trabajo importante de este grupo fue definir, in vitro, el papel de la barrera mamaria en la transferencia de HAPs a la leche. Cultivaron células T MAC para medir la permeabilidad transepitelial de BaP marcado con 14C, pireno y fenantreno, que difieren en sus propiedades fisicoquímicas.

Los resultados mostraron que sólo el pireno y fenantreno, fueron capaces de cruzar las capas de células mamarias.

Van der Wielen et al. (2006). Cuantificaron BaP en 1350 muestras de aceites comestibles y suplementos alimenticios

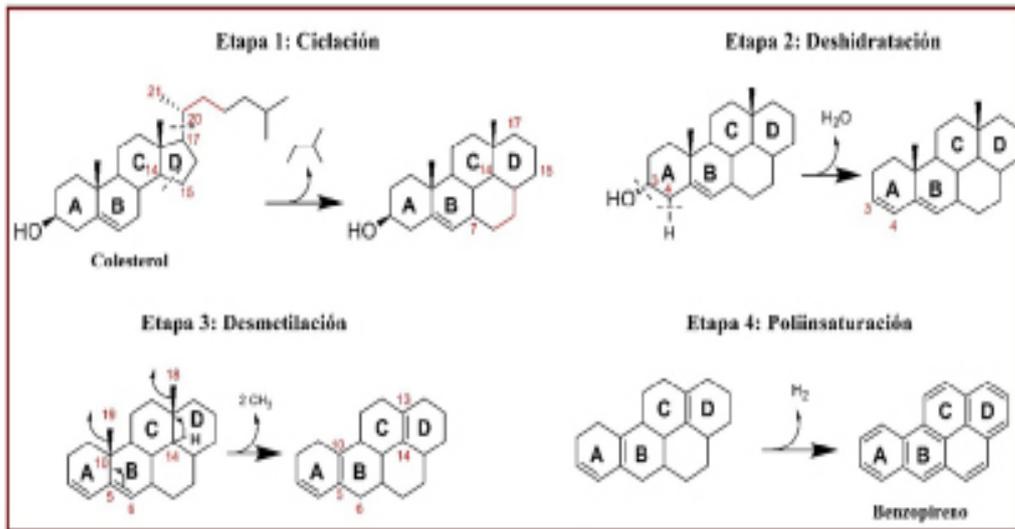


Figura 2. Formación del BaP a partir del colesterol.

HPLC-FLU. Alrededor del 20% de los aceites comestibles contenía más de 1.2 µg/kg de BaP. En el caso de los complementos alimenticios, más del 30% contenían niveles que oscilaban entre 1.2 µg/kg y 135 µg/kg.

Houessou et al. (2006). Ensayaron procedimientos para tratamiento de muestras para la determinación de HAPs en café molido. Identificaron 11 HAPs con límites de detección en el rango de 0.11 a 0.18 µg/kg. La aplicación a varios lotes de café Ará-

bico molido de Colombia mostró una equivalencia total de toxicidad en el rango de 0.16 a 0.87 µg/kg. La identificación de HAPs se realizó mediante HPLC-detección de diodos y CG-EM.

Sekeroglu et al. (2007). Analizaron la presencia de BaP en 38 muestras de aceites comestibles (aceite de oliva extra virgen, aceite de oliva refinado, aceite de oliva virgen, aceite de maíz, aceite de semilla de girasol, aceite de semilla de algodón, aceite de soya y aceite de avellana)

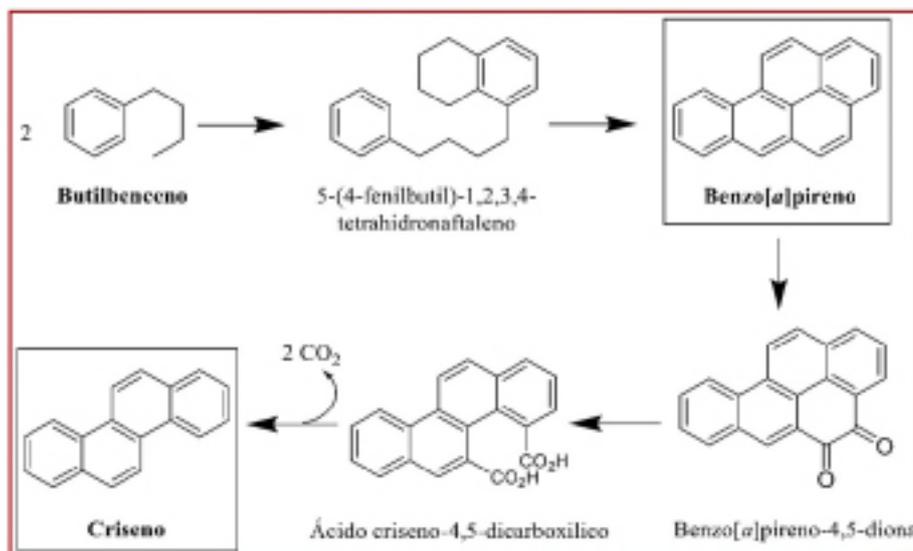


Figura 3. Formación de BaP y Criseno a partir del butilbenceno

por HPLC. Los niveles máximos de BaP para las 38 muestras variaron entre 4.82 µg/kg y 74.91 µg/kg.

Perugini et al. (2007). Determinaron HAPs por HPLC-FLU en bivalvos, cefalópodos, crustáceos y peces capturados en el mar Tirreno, Italia. Identificaron antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno y benzo[k]fluoranteno, en todos los organismos, mientras que BaP, dibenzo[a,h]antraceno, benzo[g,h,i]perileno, e indeno[1,2,3-cd]pireno sólo en mejillones mediterráneos. Los mejillones mostraron las concentraciones más altas de HAPs, estos valores varían de 44.67 a 207.12 µg/g de peso fresco. La merluza europea mostró los valores más bajos (6.06 µg/Kg de peso fresco). De los mejillones recolectados en invierno, el 71.43% superó los niveles máximos BaP en el Reglamento Europeo 208/2005/CE.

Wretling et al. (2010). Publicaron un estudio donde se analizaron 38 muestras de carne ahumada y productos cárnicos y 39 muestras de pescado ahumado para la cuantificación de BaP por HR-GC-EM. Nueve muestras de carne ahumada presentaron niveles de BaP, entre 6.6 µg/kg y 36.9 µg/kg, seis muestras de pescado ahumado presentaron niveles de BaP entre 8.4 µg/kg y 14.4 µg/kg.

Al-Rashdan et al. (2010). Evaluaron la concentración de 16 HAPs en 18 muestras de pan tostado en horno de gas. Las muestras fueron pan de harina de trigo blanco, pan de harina de trigo marrón, y pan de sándwich de harina de trigo blanco. El análisis se realizó por CG-EM. Los niveles de BaP en ocho muestras varían de 2.83 µg/kg a 16.54 µg/kg. Sin embargo, BaP no se detectó en la harina de trigo blanco y marrón original.

Los HAPs totales variaron en el intervalo de 1.06 a 44.24 µg/kg y 3.08 a 278.66 µg/kg para HAPs pesados y HAPs ligeros, respectivamente.

Lin et al. (2011). Encontraron niveles de BaP y HAPs totales de 8.7 y 54.7 µg/kg respectivamente por análisis de CG-EM del platillo pato de Pekín. Estos niveles superaron por mucho los encontrados en aves de corral a la parrilla en los países europeos.

Tanaka et al. (2012). Determinaron la presencia de HAPs por CG-EM en peces bajo tratamiento térmico. Los niveles de HAPs por exposición al aceite-niebla emitida al cocinar fueron 0.244 µg/kg, 91.7 µg/kg y 0.394 µg/kg en pescado a la parrilla, pescado a cocción directa y carne de vacuno asada a la parrilla respectivamente.

Essumang et al. (2012). Cuantificaron el BaP y otros HAPs mediante CG-EM en más de 100 muestras de pescado ahumado. El intervalo de HAPs totales en las sardinas ahumadas varió de 510.59 µg/kg a 1461.79 µg/kg con un valor medio de 716,84 µg/kg. Mientras que para el BaP el nivel medio fue de 73.78 µg/kg.

Jahurul et al. (2013). Determinaron en 42 tipos de productos cárnicos y pescado la presencia de fluoranteno, benzo[b]pireno y BaP por HPLC-FLU. Los niveles más altos detectados fueron para fluoranteno (219.74 µg/kg) y los niveles más bajos fueron para el BaP (24.33 µg/kg). En particular la carne asada presentó niveles de 66.28 µg/kg para la suma de los tres HAPs.

Zhao et al. (2014). Estudiaron los niveles de HAPs por HPLC-DAD en peces como carpa de cabeza grande y carpa plateada del lago Poyang. Las concentraciones de HAPs variaron de 105 µg/kg a 513 µg/kg

y de 53.9 µg/kg a 401 µg/kg en carpa de cabeza grande y carpa plateada, respectivamente. Los compuestos de bajo peso molecular fueron los predominantes.

Iwegbue et al. (2015). Determinaron las concentraciones de HAPs en algunas bebidas a base de té, café y cacao mediante GC-FID. Las concentraciones de varios HAPs, en estos productos oscilaron entre 5.21 µg/kg y 1406.4 µg/kg. Los perfiles de HAPs indican la dominancia de los HAPs de 3-4 anillos.

Zelinkova y Wenzl. (2015). Analizaron productos botánicos, de aceite, y de abeja, probados para BaP, benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno y criseno) por CG-EM. Se analizaron 94 muestras. BaP excedió el límite de cuantificación en 49 muestras. Los extractos de propóleos y otros productos de abeja mostraron niveles relativamente altos para los cuatro HAPs (media 188.2 µg/kg), mientras que para los suplementos de aceite de pescado fueron mayormente indetectables.

Mercogliano et al. (2016). Evaluaron los niveles de 14 HAPs por HPLC-UV en 69 muestras de *Mytilus galloprovincialis* silvestres y de granja, recolectadas en el mar Tirreno. En muestras de mejillón silvestre y de granja recolectadas en las Bahías de Napoli y Pozzuoli. Los niveles totales de HAPs fueron de 4.47 a 905.66 µg/kg en mejillones silvestres y de 0.71 a 1314.45 µg/kg en mejillones de granja. El BaP superó los niveles permitidos por la CE en 15 muestras (71.42%) de mejillones silvestres y en 25 muestras (65.79%) de mejillones de granja.

Zachara et al. (2017). Determinaron por HPLC-FLD, el nivel de HAPs en carne ahumada y productos pesqueros comerciales. El contenido de BaP más elevado y la

suma de HAPs (Σ 4HAPs) fue 36.51 µg/kg y 73.01 µg/kg, respectivamente, se encontraron en espadines ahumados conservados en aceite.

Wongmaneepratip y Vangnai. (2017). Estudiaron por HPLC-DAD, la formación de HAPs en pollo a la parrilla, utilizando adobos con aceite de palma y aceite de girasol.

Los niveles de HAPs fueron de 190.1 µg/kg a 457.6 µg/kg y 376.6 µg/kg, respectivamente.

Lestingi et al. (2017). Determinaron por GC la presencia de 4 HAPs marcadores (benzo [a] antraceno, benzo [b] fluoranteno, BaP, criseno) en 347 muestras de carne y productos cárnicos, pescado y productos pesqueros y mejillones recolectados en las regiones italianas de Marche y Umbría. Las almejas fueron las más contaminadas y en 6 de las 17 muestras se cuantificaron varios HAPs incluyendo la suma de los cuatro indicadores con valores que van desde 2.0 a 5.9 µg/kg.

Chiesa et al. (2018). Pusieron de manifiesto la presencia de 4 HAPs (benzo [a] antraceno, benzo [b] fluoranteno, BaP, criseno) por HPLC-HRMS, tanto en mejillones como en almejas, con mayor prevalencia en mejillones. El compuesto más frecuente detectado fue BaP, con una concentración máxima de 7.1 µg/kg. El nivel de HAPs en los mejillones fue 14.0 µg/kg, mientras que en almejas fue 4.4 µg/kg (aproximadamente tres veces más bajo que en mejillones).

Lee et al. (2018). Investigaron las concentraciones de ocho HAPs en diversos alimentos procesados y sus materias primas por GC-MS. Las muestras se dividieron inicialmente en diez grupos principales de alimentos: cereales, nueces, frutas, carne, pescado y mariscos,

bebidas, condimentos, cultivos de legumbres, verduras y huevos. Entre esas muestras, se detectaron HAPs en 20 alimentos: cereales, nueces, frutas, carne, pescado, bebidas y condimentos. Las concentraciones detectadas de los ocho HAPs estaban en el rango de 0.08 µg/kg a 11.97 µg/kg.

Omoruyi et al. (2019). Investigaron el potencial mutagénico de 20 productos cárnicos y pesqueros procesados comercialmente junto con la presencia de cuatro HAPs (BaP, benzo[b] fluoranteno, benzo[a]antraceno y criseno) por GCMS/MS. El potencial mutagénico (prueba de Ames) se determinó utilizando dos cepas de *Salmonella typhimurium* (TA 100 y TA 98). El pescado ahumado excedió los límites máximos para la suma de los 4 HAPs (44 µg/kg) y BaP (8,2 µg/kg). Además, el pescado ahumado también arrojó resultados mutagénicos en ambas cepas de *Salmonella*.

1.5 Reglamentación y Pautas Alimentarias

El Reglamento (UE) 835/2011, regula la concentración máxima de BaP, BaA, BbFA y CHR en µg/kg, para diferentes alimentos (Tabla II). El Comité FAO/OMS al igual que la Unión Europea recomendó no solo al BaP como marcador de contaminación por HAPs,

sino la suma de 4 HAPs, además introdujo el código de prácticas para reducir la contaminación por HAPs en los alimentos producidos por procedimientos de ahumado y secado directo (CAC/RCP 68-2009). El consumo elevado de carnes asadas, fritas o a la barbacoa está asociado a un riesgo mayor de cáncer colorrectal, de páncreas, y de próstata (Anderson, et al., 2002; Cross, et al., 2005; Stolzenberg-Solomon, et al., 2007; Sinha, et al., 2009; Cross, et al., 2010). El Fondo Mundial para la Investigación del Cáncer y el Instituto Estadounidense de Investigación del Cáncer (World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research) publicaron un informe con pautas alimentarias y evidencias epidemiológicas donde muestran o sugieren el efecto de las carnes rojas (incluidas las carnes ahumadas) sobre el riesgo de desarrollar cáncer (Wiseman, 2008).

No se encontró reglamentación para México sobre las concentraciones máximas permitidas en los alimentos para el consumo humano de BaP y otros HAPs de importancia en salud pública, por lo que se requiere contar con una legislación propia o por lo menos que las entidades regulatorias en nuestro país se unan a la normativa establecida por la UE.

Alimento	BaP	Σ4HAPs
		BaP, BaA, BbFA y CHR
1. Aceites y grasas (excluida la manteca de cacao y el aceite de coco).	2.0	10.0
2. Granos de cacao y derivados.	5.0	30.0
3. Aceite de coco.	2.0	20.0
4. Carnes ahumadas y productos cárnicos ahumados.	2.0	12.0
5. Carne de pescado y productos pesqueros ahumados.	2.0	12.0
6. Espadines ahumados y espadines ahumados en conserva; moluscos bivalvos; carnes y productos cárnicos tratados térmicamente.	5.0	30.0
7. Moluscos bivalvos ahumados.	6.0	35.0
8. Alimentos elaborados a base de cereales.	1.0	1.0

Tabla 2. Límites máximos de HAPs en µg/kg, según Reglamento (UE) 835/2011*

2. CONCLUSIONES

Los HAPs liberados a la atmósfera están sujetos a transporte de corto y largo alcance y se eliminan desde la atmósfera por deposición húmeda y seca sobre el suelo, el agua y la vegetación, contaminando los alimentos (Park, Sims, Dupont, Doucette, & Matthews, 1990).

Por otra parte cuando se cocinan los alimentos directamente al fuego, la grasa de esta cae sobre el carbón produciendo su combustión incompleta, a su vez el carbón despliega una columna de humo que contiene HAPs, responsables de la contaminación del alimento. Los resultados reportados ponen de manifiesto que los niveles más altos de HAPs, son los encontrados en pescados ahumados (1461.79 µg/kg), bebidas de té, café y cacao (1406.4 µg/kg), mejillones de granja (1314.45 µg/kg) y silvestres (905.66 µg/kg), pollo a la parrilla marinados con aceite de palma (457.6 µg/kg) y aceite de girasol (376.6 µg/kg), pescado crudo (401 µg/kg), pan horneado (278.66 µg/kg), extractos de propóleo (188.2 µg/kg), espadines ahumados conservados en aceite (73.01 µg/kg), y carne asada (66.28 µg/kg). En todos los casos se exceden los valores permitidos establecidos en el Reglamento (UE) 835/2011. Los altos niveles de HAPs en mejillones se atribuyen a fuentes petrogénicas y/o pirolíticas y a que son organismos filtradores por excelencia. La presencia de HAPs carcinógenos y genotóxicos deberían ser motivo de preocupación en las zonas donde los mejillones se cultivan para el consumo humano.

Estudios de carcinogenicidad indican que los metabolitos de HAPs formados por reacciones fotoquímicas/químicas resultan ser más

tóxicos que los HAPs de origen. Por lo tanto, el potencial riesgo carcinogénico a la exposición de HAPs puede subestimarse al no tomar en cuenta las concentraciones de sus metabolitos (Jung, et al., 2010).⁴⁴ Lo que sugiere que los HAPs son los principales contribuyentes a la mutagenicidad de los productos alimenticios procesados y que los niveles máximos establecidos para los HAPs suelen proteger contra la mutagenicidad de los alimentos, aunque las muestras de alimentos que contienen HAPs en niveles cercanos a los límites máximos permitidos pueden exhibir potencial mutagénico (Omoruyi, Hokkanen, & Pohjanvirta, 2019).

De esta investigación se deduce que la cantidad de BaP y otros HAPs formados dependen del tiempo de cocción y del tipo de alimento en cuestión, y que la aparición de ciertos tipos de cáncer depende de la frecuencia en el consumo de ciertos alimentos y el grado de contaminación de los mismos.

Algunas investigaciones ya han venido reportando que BaP no es un buen indicador para contaminación por HAPs en pescados y mariscos procedentes de fuentes ambientales.

Los resultados obtenidos en esta revisión ponen de manifiesto la necesidad de normar los niveles de HAPs en los alimentos y aditivos utilizados para su preparación, debido al riesgo latente de padecer ciertos tipos de cáncer por el consumo de alimentos contaminados por HAPs. Además, en México como en otros países en vías de desarrollo, los organismos responsables de la protección contra riesgos sanitarios necesitan garantizar la inocuidad de los alimentos destinados al consumo humano y de igual manera establecer límites permisibles de HAPs en alimentos y vigilar el

cumplimiento estricto de estos. No existe tratamiento que elimine los HAPs presentes en el alimento. Las medidas para su prevención están enfocadas en reducir los niveles de HAPs en el medio ambiente mediante la reducción de las emisiones producto de actividades industriales y la utilización controlada de vehículos, además de no abusar de ciertas técnicas de cocinado que favorecen la producción de HAPs en los mismos.

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, resulta imperioso incursionar en investigaciones propias, en las que se cuantifiquen HAPs en los alimentos y su relación con los procesos de cocción de mayor uso entre la población; con la finalidad de proponer un control eficiente en la formación y la ingesta de BaP y otros HAPs, buscando prevenir la aparición de cánceres inducidos por estos hidrocarburos.

La determinación de HAPs en alimentos requiere de métodos muy laboriosos y el empleo de grandes cantidades de disolventes, además de costosos equipos. Por lo que, son necesarios métodos más simples para detectar y cuantificar niveles de HAPs, tanto en alimentos como en aditivos utilizados en su elaboración.

En la actualidad, existe una gran necesidad de técnicas para la detección de contaminantes letales y mutagénicos. Estas técnicas deben cumplir con la necesidad de respeto al medio ambiente, rentabilidad, mínimo consumo de tiempo, y sensibilidad/especificidad superiores.

Referencias bibliográficas

Al-Rashdan, A., Helaleh, M., Nisar, A., Ibtisam, A., & Al-Ballam, Z. (2010). Determination of the Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Toasted Bread Using Gas

Chromatography Mass Spectrometry. *International Journal of Analytical Chemistry*, 1-8. doi:10.1155/2010/821216.

- Anderson, K. E., Sinha, R., Kulldorff, M., Gross, M., Lang, N. P., Barber, C., . . . Kadlubar, F. F. (2002). Meat intake and cooking techniques: associations with pancreatic cancer. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 506-507, 225-231. doi.org/10.1016/S0027-5107(02)00169-0.
- Badger, G. M., & Novotny, J. (1963). Mode of Formation of 3,4-Benzopyrene at High Temperatures. *NATURE*, 198, 1086.
- Becerril, C., Acevedo, H., Llorente, M., & Castaño, A. (2004). Detección "in vivo" mediante RAPD de alteraciones. *Revista de Toxicología*, 21, 16-22.
- Caméan, A. M., Jos, A., Moreno, I. M., Pichardo, S., y Repetto, M. Tóxicos formados durante el procesamiento, preparación y almacenamiento de los alimentos. *Toxicología ambiental. España*. 2006, 493-516.
- Cavret, S., Feidt, C., Le Roux, Y., & Laurent, F. (2005). Short Communication: Study of Mammary Epithelial Role in Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Transfer to Milk. *Journal of Dairy Science*, 88(1), 67-70. doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72663-1.
- Chiesa, L. M., Nobile, M., Malandra, R., Pessina, D., Panseri, S., Labella, G. F., & Ariolli, F. (2018). Food safety traits of mussels and clams: distribution of PCBs, PBDEs, OCPs, PAHs and PFASs in sample from different areas using HRMS-Orbitrap® and modified QuEChERS extraction followed by GC-MS/MS. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 35(5), 959-971. doi.org/10.1080/19440049.2018.1434900.
- Cross, A. J., Ferrucci, L. M., Risch, A., Graubard, B. I., Ward, M. H., Park, Y., . . . Sinha, R. (2010). A Large Prospective Study of Meat Consumption and Colorectal Cancer Risk: An Investigation of Potential Mechanisms Underlying this Association. *Cancer Res*, 70(6), 2406-2414. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3929.

- Cross, A. J., Peters, U., Kirsh, V. A., Andriole, G. L., Reding, D., Hayes, R. B., & Sinha, R. (2005). A Prospective Study of Meat and Meat Mutagens and Prostate Cancer Risk. *Cancer Res*, 65(24), 11779-11784. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2191.
- De la Cruz, E. R., & Huamán, J. O. (2002). Formación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos y del 3,4-Benzopireno en Aceites Comestibles Alterados por Recalentamiento. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Essumang, D. K., Doodoo, D. K., & Adjei, J. K. (2012). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) contamination in smoke-cured fish products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 27(2), 128-138. doi.org/10.1016/j.jfca.2012.04.007.
- Fetzer, J. C. (2007). THE CHEMISTRY AND ANALYSIS OF LARGE PAHs. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 27(2), 143-162.
- Harvey, PW., y Boelsterli, UA. (2003). Mechanistic Toxicology: the Molecular Basis of How Chemicals Disrupt Biological Targets. *J. Appl. Toxicol.* 23, 187-211.
- Houessou, J. K., Delteil, C., & Camel, V. (2006). Investigation of Sample Treatment Steps for the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Ground Coffee. *J. Agric. Food Chem.*, 54(20), 7413-7421. doi.org/10.1021/jf060802z
- Iwegbue, C. M., Agadaga, H., Bassey, F. I., Overah, L. C., Tesi, G. O., & Nwajei, G. E. (2015). Concentrations and Profiles of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Some Commercial Brands of Tea-, Coffee-, and Cocoa-Based Food Drinks in Nigeria. *International Journal of Food Properties*, 18(10), 2124-2133, DOI:10.1080/10942912.2014.908906.
- Jahurul, M. H., JinapaI, S., Zaidul, I. S., Sahen, F., Farhadian, A., & Hajeb, P. (2013). Determination of fluoranthene, benzo[b]fluoranthene and benzo[a]pyrene in meat and fish products and their intake by Malaysian. *Food Bioscience*, 1, 73-80. doi.org/10.1016/j.fbio.2013.03.006.
- Jung, K. H., Yan, B., Chillrud, S. N., Perera, F. P., Whyatt, R., Camann, D., . . . Miller, R. L. (2010). Assessment of Benzo(a) pyrene-equivalent Carcinogenicity and Mutagenicity of Residential Indoor versus Outdoor Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Exposing Young Children in New York City. *Int. J. Environ. Res. Public Health* , 7, 1889-1900. doi:10.3390/ijerph7051889.
- Kazerouni, N., Sinha, R., Hsu, C.-H., Greenberg, A., & Rothman, N. (2002). Erratum to "Analysis of 200 food items for benzo(a)pyrene and estimation of its intake in an epidemiologic study. *Food and Chemical Toxicology*, 39, 423-436.
- Lee, J., Jeong, J.-H., Park, S., & Lee, K.-G. (2018). Monitoring and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in processed foods and their raw materials. *Food Control*, 92, 286-292. doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.012.
- Lestingi, C., Tavoloni, T., Bardeggia, V., Perugini, M., & Piersanti, A. (2017). A fit-for-purpose method to monitor 16-EU-PAHs in food - results of five year official food control in two Italian regions. *FOOD ADDITIVES & CONTAMINANTS. PART A.*, 34(7), 1140-1152. doi.org/10.1080/19440049.2017.1325969.
- Lijinsky, G. (1991). The formation and occurrence of polynuclear aromatic hydrocarbons associated with food. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 259(3-4), 251-261. doi.org/10.1016/0165-1218(91)90121-2.
- Lin, G.-f., Weigelb, S., Tang, B., Schulz, C., & Shen, J.-h. (2011). The occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in Peking duck: Relevance to food safety assessment. *Food Chemistry*, 129(2), 524-527. doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.052.
- Mercogliano, R., Santonicola, S., Felice, A. D., Anastasio, A., Murru, N., Ferrante, M. C., & Cortesi, M. L. (2016)

- Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in mussels from the gulf of Naples, Tyrrhenian Sea, Italy. *Marine Pollution Bulletin*, 104(1-2), 386-390. doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.015.
- Omoruyi, I. M., Hokkanen, M., & Pohjanvirta, R. (2019). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Select Commercially Processed Meat and Fish Products in Finland and the Mutagenic Potential of These Food Items. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 40(4), 927-933. doi.org/10.1080/10406638.2018.1509360.
- Park, K. S., Sims, R. C., Dupont, R. R., Doucette, W. J., & Matthews, J. E. (1990). Fate of PAH compounds in two soil types: Influence of volatilization, abiotic loss and biological activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9(2), 187-195. doi.org/10.1002/etc.5620090208.
- Pérez-Morales, G., Morales, P., & Haza, A. I. (2016). HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (HAPs) (I): TOXICIDAD, EXPOSICIÓN DE LA POBLACIÓN Y ALIMENTOS IMPLICADOS. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 10(1), 1-15. doi.org/10.5209/rev_RCCV.2016.v10.n1.51869.
- Perugini, M., Visciano, P., Manera, M., Turno, G., Lucisano, A., & Amorena, M. (2007). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Marine Organisms from the Gulf of Naples, Tyrrhenian Sea. *J. Agric. Food Chem.*, 55(5), 2049-2054. doi.org/10.1021/jf0630926.
- Quiñones, L., Lee, K., Varela, N., Escala, M., García, K., Godoy, L., . . . Cáceres, D. (2006). Farmacogenética del cáncer: Estudio de variaciones genéticamente determinadas en la susceptibilidad a cáncer por exposición a xenobióticos. *Rev Méd Chile*, 134, 499-515.
- Safety, W. H. (1998). Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. Recuperado el 20 de mayo de 2020, de <https://apps.who.int/iris/handle/10665/41958>
- Sekeroglu, G., Gogus, F., & Fadiloglu, S. (2007). DETERMINATION OF BENZO(a)PYRENE IN VEGETABLE OILS BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY. *Journal of Food Quality*, 30, 300-308.
- Sinha, R., Park, Y., Graubard, B. I., Leitzmann, M. F., Hollenbeck, A., Schatzkin, A., & Cross, A. J. (2009). Meat and Meat-related Compounds and Risk of Prostate Cancer in a Large Prospective Cohort Study in the United States. *American Journal of Epidemiology*, 170(9), 1165-1177. doi.org/10.1093/aje/kwp280.
- Stolzenberg-Solomon, R. Z., Cross, A. J., Silverman, D. T., Schairer, C., Thompson, F. E., Kipnis, V., . . . Sinha, R. (2007). Meat and Meat-Mutagen Intake and Pancreatic Cancer Risk in the NIH-AARP Cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 16(12), 2667-2675. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-07-0378.
- Tanaka, N., Ohtake, K., Tsuzaki, M., & Miyazaki, A. (2012). Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in oil-mist emitted from food grilling. *Journal of Japanese Society for Analytical Chemistry*, 61(2), 77-86. doi.org/10.2116/bunsekikagaku.61.77.
- Tobón, Y. N., & Botero, C. M. (2013). El benzo(a)pireno en los alimentos y su relación con el cáncer. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 15, 99-112.
- Van der Wielen, J. C., Jansen, J., Martena, M. J., De Groot, H., & In T Veld, P. (2006). Determination of the level of benzo[a]pyrene in fatty foods and food supplements. *Food Additives and Contaminants*, 23(7), 709-714. f.
- Vasiluk, L., Pinto, L. J., Tsang, W. S., Gobas, F. A., Eickhof, C., & Moore, M. M. (2008). The uptake and metabolism of benzo[a]pyrene from a sample food substrate in an in vitro model of digestion. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 610-618. doi:10.1016/j.fct.2007.09.007.

- Verkade HJ, Tso P. (2001) Biofísica de lípidos lumbinales intestinales. En: Mansbach CM, Tso P., Kuksis A. (eds) *Intestinal Lipid Metabolism*. Springer, Boston, MA. doi.org/10.1007/978-1-4615-1195-3_1.
- Vives, Í., Grimalt, J. O., & Guitart, R. (2001). Los hidrocarburos aromáticos policíclicos y la salud humana. *Apuntes de Ciencia y Tecnología*, 3(2), 45-51.
- Wiseman, M. (2008). The Second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research Expert Report. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective. *Proceedings of the Nutrition Society*, 67, 253-256. doi:10.1017/S002966510800712X.
- Wongmaneepratip, W., & Vangnai, K. (2017). Effects of oil types and pH on carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in grilled chicken. *Food Control*, 79, 119-125. doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.03.029.
- Wretling, S., Eriksson, A., Eskhul, G. A., & Larsson, B. (2010). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Swedish smoked meat and fish. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(3), 264-272. doi.org/10.1016/j.jfca.2009.10.003.
- Zachara, A., Gałkowska, D., & Juszcak, L. (2017). Contamination of smoked meat and fish products from Polish market with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Food Control*, 80, 45-51. doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.024.
- Zelinkova, Z., & Wenzl, T. (2015). EU marker polycyclic aromatic hydrocarbons in food supplements: analytical approach and occurrence. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 32(11), 1914-1926, DOI: 10.1080/19440049.2015.1087059.
- Zhao, Z., Zhang, L., Cai, Y., & Chen, Y. (2014). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) residues in several tissues of edible fishes from the largest freshwater lake in China, Poyang Lake, and associated human health risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 104, 323-331. doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.01.037.

Estudio de extracción de polifenoles de *thalassia testudinum*

Polyphenol extraction study from *thalassia testudinum*

Henry, Yb., López, Oa., Fernández, D**, Hernández, Y**, Esquijarrosa, J***.,
Laguna, A.****

*Laboratorios biológicos-farmacéuticos Labiofam, La Habana, Cuba

**Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Am-
bato, Ambato, Ecuador

***Facultad de Ingeniería Química, Instituto Superior Politécnico, José Antonio
Echeverría, La Habana, Cuba

****Centro de Bioactivos Marinos, La Habana, Cuba

Recibido: 29 de septiembre de 2021

Aceptado: 19 de marzo de 2021

Resumen

Un aspecto crucial en la evolución del hombre lo constituyó el aprender a curar sus enfermedades a partir de lo que le proporcionaba la naturaleza; dentro de esos elementos se destacan predominantemente los vegetales. Así, el uso de las plantas ha sido un contribuyente importante al desarrollo de la farmacoterapia moderna. Debido a las condiciones físicas y químicas del ambiente marino, casi la totalidad de los organismos que habitan los mares exhiben una variedad de moléculas con cualidades estructurales y químicas únicas, producto del desarrollo de mecanismos bioquímicos y fisiológicos, que incluyen la producción de compuestos bioactivos para propósitos tales como la reproducción, comunicación, protección contra depredación, infecciones y competencia [4]. El uso de organismos marinos, y en especial las algas, para la producción de cosméticos se encuentra en auge en muchos países. Existe una gran variedad de productos cosméticos a nivel mundial, por la evidencia de las propiedades beneficiosas de las algas como promotores de la síntesis de fibras colágenas, antioxidantes, antiirritantes [6]. Específicamente, el extracto obtenido a partir de la angiosperma *Thalassia testudinum* denominado BM-21, ha sido el más estudiado y plantea un gran interés por su acción dermorregeneradora y potente capacidad antioxidante. Actualmente, las condiciones de obtención del extracto son: relación de material vegetal-volumen de disolvente 1:10, disolvente etanol al 50 %, temperatura de extracción 60 °C, tiempo de extracción 4 h. Si bien el BM-21 como materia prima ha resultado excelente por sus propiedades, desde el punto de vista tecnológico se necesita mejorar la etapa de extracción del proceso de producción con el objetivo de lograr una mayor extracción del producto en el menor tiempo posible. **Palabras clave:** pH, sólidos solubles, vitamina C, mohos y levaduras, análisis sensorial.

1. Introducción

Un aspecto crucial en la evolución del hombre lo constituyó el aprender a curar sus enfermedades a partir de los elementos que le proporcionaba la naturaleza. El uso de las plantas se instaló como un aspecto importante en la historia de la medicina, como contribuyente al desarrollo de la farmacoterapia moderna. Más allá de la gran diversidad biológica, en los mares se encuentra también una increíble diversidad química. Debido a las condiciones físicas y químicas del ambiente marino, casi la totalidad de los organismos que habitan los mares exhiben una variedad de moléculas con cualidades estructurales y químicas únicas, producto del desarrollo de mecanismos bioquímicos y fisiológicos, que incluyen la producción de compuestos bioactivos para propósitos tales como la reproducción, comunicación, protección contra depredación, infecciones y competencia [4].

El uso de organismos marinos, y en especial las plantas y algas, para la obtención de compuestos bioactivos se encuentra en auge en muchos países. Tomando en consideración las enormes posibilidades de utilización de estos organismos en la industria así como su abundancia en las costas, se han estudiado las potencialidades de uso de los extractos obtenidos a partir de diferentes variedades de plantas marinas y algas. El análisis global de los resultados obtenidos en los estudios *in vitro* e *in vivo* permitió definir las especies promisorias por sus perspectivas de uso, específicamente, el extracto obtenido a partir de la angiosperma *Thalassia testudinum* ha sido el más estudiado y plantea un gran interés por su potente capacidad antioxidante atribuida a lo reportado en estudios

previos sobre la capacidad de esta planta marina de producir una amplia variedad de metabolitos de naturaleza fenólica[8] a los cuales se le atribuyen una gran diversidad de acciones farmacológicas. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la influencia de diferentes variables de operación sobre el proceso de extracción de los polifenoles de *Thalassia testudinum*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materia prima

Fue colectado el material vegetal en el litoral norte de la isla de Cuba, este se separó del material extraño, constituido principalmente por *Syringodium filiforme*, *Penicilium sp.* y otras algas. Se sometió a secado en estufa a 40 °C por 48 horas. La materia prima seca se molió en un molino de cuchillas hasta un tamaño de partículas entre 4-10 mm. El almacenamiento se realizó en bolsas de polietileno negro, y se colocaron dentro de cajas en un lugar fresco y seco.

El disolvente utilizado fue etanol de 96° Merck

2.2. Metodología

2.2.1 Extracción del contenido total de polifenoles totales presentes en la *Thalassia testudinum*.

Se utilizó un extractor Soxhlet, empleando como disolvente etanol al 50 %, durante un tiempo de 16 horas. Se emplearon 10 g de material vegetal y 500 mL de disolvente.

2.2.2 Selección del mejor disolvente de extracción

Para la selección del mejor disolvente se pesaron en una balanza técnica 6,7 g de material vegetal los que corresponden a una relación material vegetal – volumen de disolvente de 1:15 con el objetivo de evitar la saturación del

disolvente [12,13] y se colocaron en tres erlenmeyer. Se le agregó al primero y al segundo una mezcla hidroalcohólica al 25 % y 50 % respectivamente y el último se preparó con agua destilada solamente. Posteriormente, se colocaron las muestras en una zaranda Gallenkamp a una temperatura de 60 °C, con una velocidad de agitación de 214 min⁻¹, durante 1h. Seguidamente, se separó el extracto del residuo vegetal mediante filtración bajo presión reducida, a través de un lienzo como medio filtrante. A las muestras obtenidas se les determinó el contenido de sólidos y polifenoles totales.

2.2.3 Estudio de la influencia de los parámetros de operación en el proceso de extracción

Para la evaluación de la influencia de los parámetros de operación, se utilizó un diseño factorial 32 de superficie de respuesta. Con este diseño se evaluó la influencia de la temperatura y la relación material vegetal-volumen de disolvente en la extracción de polifenoles y el contenido de sólidos. Se utilizaron tres relaciones diferentes de material vegetal-volumen de disolvente: 10 g (1:10), 6,7 g (1:15) y 5 g (1:20) y como disolvente etanol al 50%. Se mantuvo constante el tiempo del experimento y la velocidad de agitación. Como variables de respuesta se seleccionaron el contenido de sólidos totales (%) y de polifenoles (%). En las (Tablas 1 y 2) se muestran los niveles de las variables estudiadas y la matriz experimental del diseño.

2.2.4 Cinética del proceso de extracción

Una vez definida la mejor relación material vegetal-volumen de disolvente, así como la temperatura se procedió a determinar el tiempo de extracción,

tomando muestras a las 0,5; 1; 2; 3 y 4 h. para la determinación del contenido de polifenoles. Se utilizó un reactor de tipo tanque agitado con capacidad de 4 L, operado a 60 °C de temperatura, empleando como disolvente una mezcla hidroalcohólica al 50 %.

2.2.5 Secado de las muestras

Las muestras se concentraron en un rotoevaporador BUCHI R-124 hasta alcanzar un contenido de sólidos totales mayor al 10 %. El secado de las muestras se realizó en un secador por atomización de laboratorio modelo Büchi B 191, Flawil, Switzerland. La temperatura de entrada fue de 140 °C y la de salida de 80 °C, tomados de un trabajo anterior[2].

2.3 Técnicas analíticas utilizadas

2.3.1 Determinación del contenido de sólidos totales por un método gravimétrico

Se utilizó un método gravimétrico, se basa en la determinación de la variación de la masa, debido a la pérdida o eliminación de sustancias volátiles por la acción del calor, mediante un proceso de evaporación de la porción de ensayo y secado del residuo en un horno Heraeus UT 6060 estufa, hasta masa constante. Se pesan aproximadamente en Balanza analítica Sartorius R 200 D, 2 mL del extracto en una cápsula, previamente secada y tarada. Las muestras se secan a 105 °C en una estufa de aire recirculado aproximadamente 3 horas, seguidamente en una desecadora hasta que alcance la temperatura ambiente. Para obtener la masa constante entre una pesada y otra se realiza esta operación hasta que la diferencia de peso entre las dos últimas pesadas se encuentran dentro de la exactitud requerida ($\leq 0,2$ mg) lo que indica que se alcanzó el peso constante. El experi-

mento se realiza por triplicado. La cantidad de sólidos totales expresados en porcentaje (%) se calcula por la siguiente fórmula:

$$\%St = \frac{P_R - P}{V} * 100$$

Donde:

Pr: masa de la cápsula o pesafiltro más el residuo (g)

P: masa de la cápsula vacía (g)

V: Peso del volumen de líquido o del sólido si es polvo

100: factor para expresar el resultado en porcentaje

La cantidad de sólidos obtenidos a partir de la masa de material vegetal expresada en por ciento (%) es:

$$\% SE = \frac{\% St \cdot Vf \cdot \rho}{MV} \cdot 100$$

Donde:

% SE: Porcentaje de sólidos extraídos respecto al material vegetal (%)

% St: Sólidos totales (%)

Vf: Volumen final del extracto (mL)

100: Factor para expresar el resultado en porcentaje

ρ : Densidad del extracto (g/mL)

MV: Masa de material vegetal utilizada para la extracción (g).

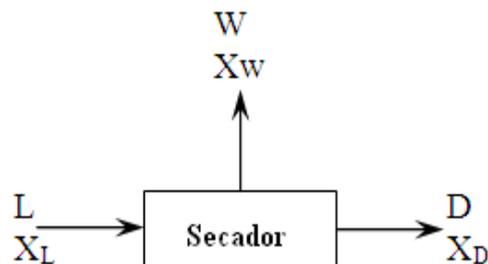
2.3.2 Determinación de polifenoles totales

El método se basa en la reacción entre los anillos aromáticos del grupo fenólico y el ácido fosfomolibdico – fosfotúngstico (reactivo de Folin – Ciocalteu). Se prepararon disoluciones estándar de diferentes concentraciones de pirogalol con agua destilada. A cada una de estas disoluciones se le agregaron 480 μ L de agua destilada, 48 μ L de reactivo de Folin- Ciocalteu y 576 μ L de una solución de carbonato de sodio al 29 % (p/v) para construir la curva de

calibración. Posteriormente se prepararon las muestras tomando 96 μ L del extracto y las mismas cantidades de agua destilada, reactivo de Folin – Ciocalteu y disolución de carbonato de sodio. Se realizó una dilución 1/5 en todos los casos, excepto en el extracto acuoso. Se dejó en reposo durante 30 minutos para que ocurra la reacción y se desarrolle el color del complejo y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro UV- visible, a 760 nm usando como blanco agua destilada.

2.3.3 Determinación del rendimiento de secado.

El rendimiento se determinó a partir del balance de materiales donde se considera que la masa de producto a la entrada debe ser igual a la de la salida, y que no existe acumulación de producto en el interior del equipo ni pérdidas al exterior.



Donde:

R: Rendimiento

L: Masa de la corriente de líquido que se alimenta al equipo

X_L : Composición de la corriente de líquido de alimentación

W: Masa de agua evaporada

X_w : Composición del producto en la corriente de agua evaporada

D: Masa de polvo obtenido

X_D : Composición del polvo obtenido

El balance de materiales global queda de la forma: $L = W + D$

El rendimiento se calcula por la relación entre la salida y la entrada.

$$\% R = \frac{D \cdot Xd}{L \cdot XI} \cdot 100$$

2.4 Análisis estadístico de los resultados

Los resultados fueron analizados estadísticamente con el Software STATGRAPHICS PLUS Versión 5.1 1994 – 2001 a partir del análisis de varianza, diagramas de Pareto y los gráficos de efectos principales y de interacciones.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Estudio de la influencia de las condiciones de extracción

3.1.1 Influencia de la concentración de disolvente

En la figura 1 se puede apreciar que entre los diferentes disolventes empleados al determinar el contenido de sólidos totales no existe diferencia significativa, no sucediendo lo mismo en el caso de los polifenoles que se extraen mucho mejor utilizando etanol al 50 %. Este resultado coincide con lo reportado por la literatura para otros productos naturales que poseen dentro de su composición polifenoles [40].

3.1.2 Influencia de la temperatura y la relación material vegetal-volumen de disolvente.

En la tabla 3 se muestran los resultados de las diferentes corridas del diseño experimental.

En la figura 2 a partir del diagrama de Pareto, el análisis de varianza, el gráfico de efectos principales para el contenido de polifenoles y el gráfico de Su-

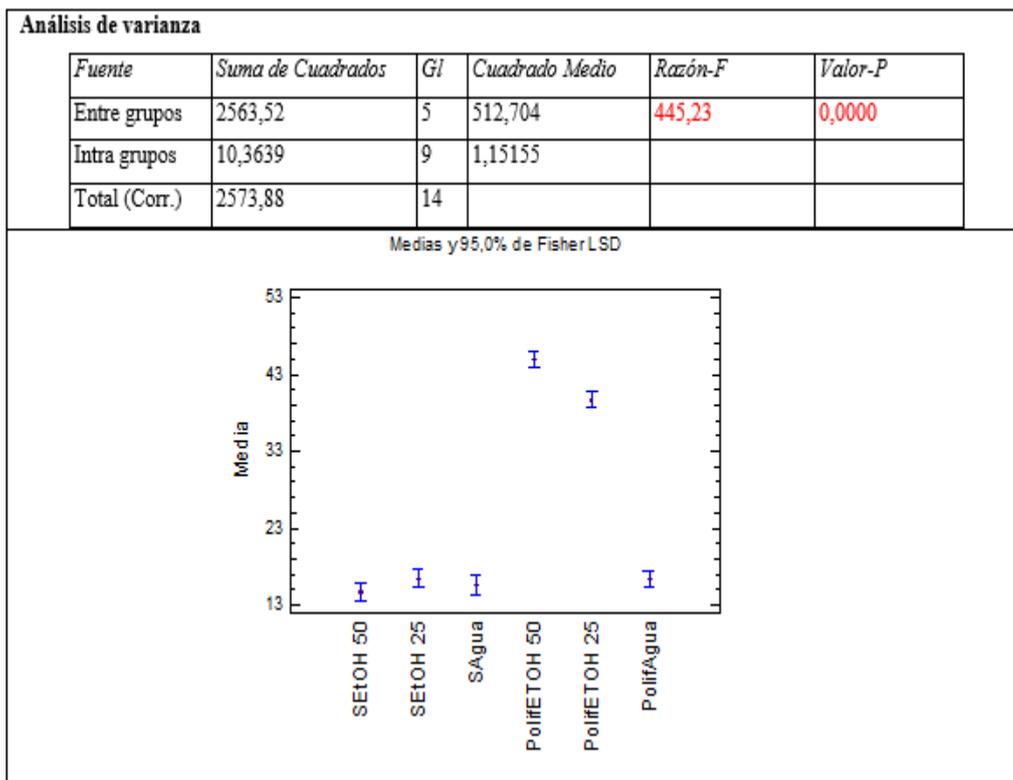


Fig. 1: Comparación de los diferentes disolventes

perficie de Respuesta Estimada se pueden determinar los parámetros óptimos en el proceso de obtención del extracto.

Teniendo en cuenta el análisis de varianza, se analizó que existen una influencia significativa de los parámetros estudiados. Se demostró que la interacción entre la relación material vegetal-disolvente y la temperatura influyen en el contenido final de polifenoles, evidenciándose por los valores de probabilidad menores que 0,05.

Al analizar el diagrama de Pareto, se observa que en primer lugar, la interacción entre la relación material vegetal-disolvente y la temperatura es el parámetro operacional que más influye sobre el contenido final de polifenoles. El segundo lugar lo ocupa la relación material vegetal-disolvente, demostrando que con una mayor relación se logrará una mayor extracción de estos

compuestos. En el gráfico de los efectos principales se puede apreciar que trabajando a una mayor relación material vegetal volumen de disolvente se puede obtener un mayor contenido final de polifenoles, pero en el caso de la temperatura se reportan valores cercanos entre 60 °C y 80 °C, por lo que se decide trabajar a una menor temperatura para ahorrar energía y evitar la degradación de los polifenoles.

Teniendo en cuenta la influencia que ejerce cada uno de los factores estudiados y según el gráfico de superficie de respuesta se seleccionó en el caso de la relación material vegetal-volumen de disolvente el nivel alto (1:20) y en el caso de la temperatura el nivel bajo (60 °C). Con estos niveles se alcanzó el mayor contenido final de polifenoles.

3.1.3 Cinética del proceso de extracción

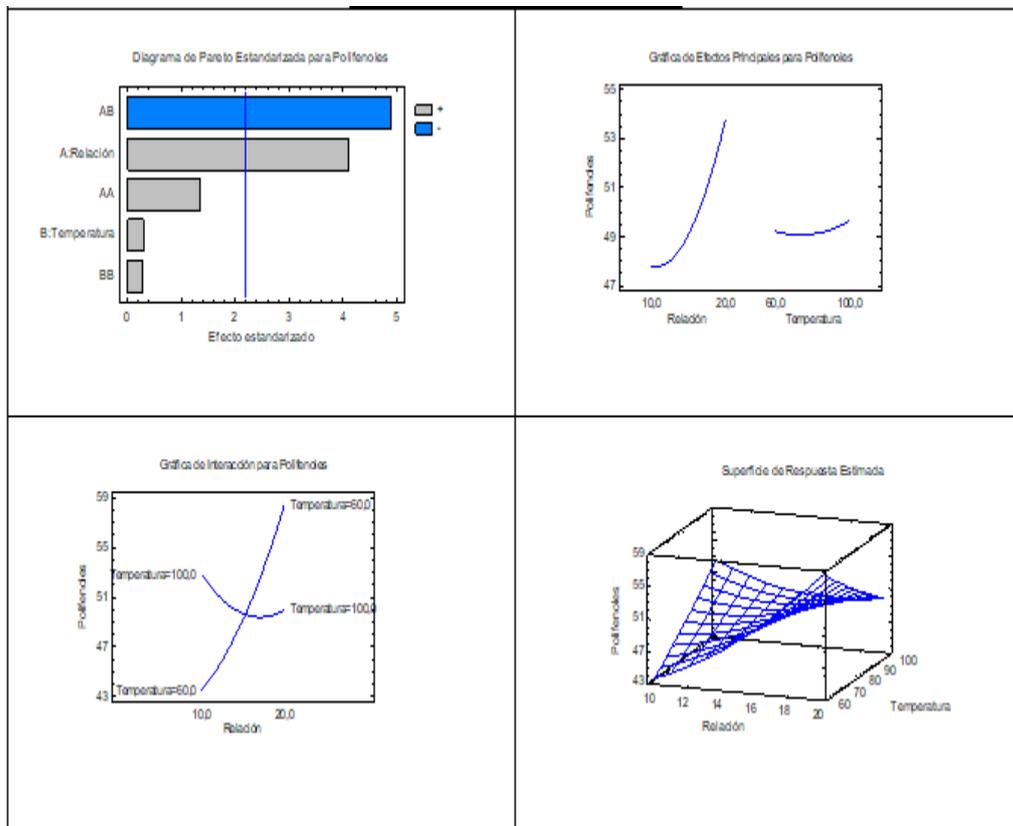


Fig. 2: Comportamiento del contenido de polifenoles totales

Los mayores valores del contenido de polifenoles fueron obtenidos entre la primera y segunda hora de extracción (Figura 3), lo cual indica que no es necesario mantener el proceso de extracción por un tiempo mayor. Además se corroboró que en este período de tiempo se recupera el contenido de

polifenoles posibles a extraer que en este caso se determinó por extracción con Soxhlet siendo de $44,75 \pm 2,66$ %. Por tanto como no se observa diferencia significativa en la cantidad de polifenoles extraídos entre la primera y segunda hora se puede fijar una hora como tiempo de extracción.

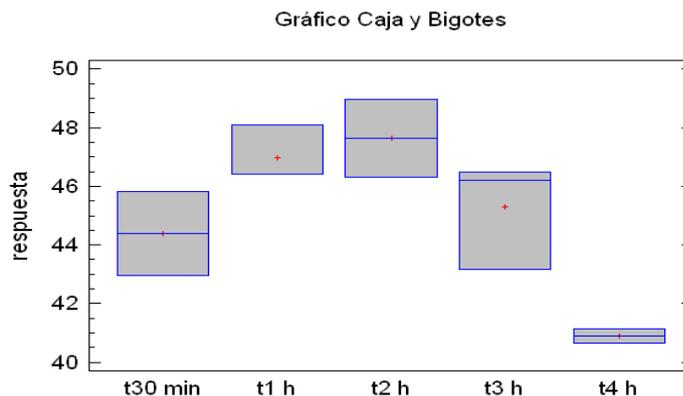


Fig. 3: Cinética del proceso de extracción de polifenoles

3.1.4 Evaluación del proceso de Secado por atomización

Los rendimientos del proceso de secado se encuentran entre un 80 y 90 % (Figura 4), lo que indica que con los parámetros de operación preestablecidos no ejercen una influencia negativa en el proceso de secado.

Se demostró que el mejor disolvente en el proceso de obtención del extracto de la planta marina *Thalassia testudinum* es el etanol a una concentración del 50 %, mediante el cual se logra extraer un contenido de polifenoles de un 46,28 %.

Las variables óptimas del proceso de obtención del extracto son: relación material vegetal-volumen de disolvente 1:20 y temperatura 60 °C, con las cuales se obtiene un contenido de polifenoles de un 52 %.

Trabajando con un tiempo de extracción de 1 h se alcanzaron valores de polifenoles de 48,08 %, siendo este valor muy cercano al obtenido en el extractor Soxhlet, de $44,75 \pm 2,66$ %.

4. Referencias bibliográficas

- Dubler, C.E. (1953). La "Materia Médica" de Dioscórides: transmisión medieval y renacentista. Barcelona. España
- Delgado, V. (2006). Estudio preliminar de secado por aspersion del extracto BM-21. Trabajo de diploma. CUJAE.
- Kijjoa, A.; Sawangwong, P. (2004). DRUGS and Cosmetics from the Sea. Vol. 2, 73-82.
- Faulkner, D. J. (1995). Chemical Riches from the Ocean. Chem. Brit. 680-684.
- Detres Y; Armstrong R.A; Connelly X.M. (2001). Ultraviolet-induced responses in two species of climax tropical

- marine macrophytes. *J Photochem Photobiol B*. Sep 1; 62(1-2). 55-66.
- Goldember P. (1995). Compounds from the sea. *Drug and Cosmetic Industry*. 7 (12). 56-61.
- Arnold T.M; Tanner C.E; Rothen M; Bullington J. (2008). Wound-induced accumulations of condensed tannins in turtlegrass, *Thalassia testudinum*. *Aquatic Botany* 89: 27-33.
- Regalado, EL; Rodríguez M; Menéndez R; Concepción AR; Nogueiras C y col. (2009) Repair of UVB-Damaged Skin by the Antioxidant Sulphated Flavone Glycoside Thalassiolin B Isolated from the Marine Plant *Thalassia testudinum* Banks ex König. *Mar Biotechnol* (NY); 11(1):74-80.
- Rodríguez, M; Aneiros, A; Valdés, O; Arteaga, F; Regalado, E.L y col. (2005). BM21: A product with beneficial properties for the care of skin obtained from a marine plant IMBC. Informe Técnico.
- Cuba: Medio Ambiente y Desarrollo; Revista electrónica de la Agencia de Medio Ambiente Año 10, No.19, 2010 ISSN-1683-8904
- Aneiros, A; Concepción, A.R; Arteaga, F; Fernández, M.D; Llanio, M y col. (2003). Patente CU No. 22931.
- Salomón, S; López, O; García, C; González M.L; Fusté, Vy col. (2009). Desarrollo de una tecnología para la obtención de extracto acuoso de hojas de *Morinda citrifolia* L. (noni) *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. Vol. 14 No. 2.
- Salomón, S; López, O; González, M.L, (2011). Desarrollo de una tecnología para la obtención de extracto acuoso de *Morinda charantia* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. Vol. 16 No. 4.
- Narciso, S. (2001). XI Convención Zonal de Centros de Ciencias, XIII Festival Juvenil de la Ciencia (FJC-AsoVAC-Falcón).
- Hemminga, M.A ; Duarte L. (2000). *C.M. Seagrass Ecology*. Cambridge University. 2-7.
- Jiménez, C. (1990). Macroalgas y fanerógamas marinas de la macrolaguna del Golfo de Batabanó. El bentos de la macrolaguna del Golfo de Batabanó. Editorial Academia, La Habana. 14-17.
- Matínez, B; Jiménez, C; Alcolado, P. (1996). Prospección de los macrofilamentos de los fondos blandos del Archipiélago Sabana Camaguey. *Avicenia*, Cuba, 4/5. 77-88.
- Rubio, R; Loza, S; Martínez, B; Rodríguez, M; Valdés, O. (2005). Comportamiento estacional de la especie fanerógama *Thalassia testudinum* Banks ex König, Informe Científico.
- Regalado, EL; Rodríguez, M; Menéndez, R; Concepción, AR; Nogueiras, C y col. (2009). Repair of UVB-Damaged Skin by the Antioxidant Sulphated Flavone Glycoside Thalassiolin B Isolated from the Marine Plant *Thalassia testudinum* Banks ex König. *Mar Biotechnol* (NY); 11(1):74-80.
- Fundora, S; Mata, M; Valdés, I; Valdés, O; Sánchez, A y col. (2009). Extracto de la planta marina *Thalassia* con actividad antienvjecimiento, antiinflamatoria y analgésica y su obtención. Solicitud de patente CU 22931.
- Rodríguez, M; Laguna, A; Regalado, E y col. (2010). Procedimiento de obtención de un producto de origen marino procedente de la planta marina *Thalassia testudinum*. Solicitud de patente.
- Fusetani, N. (2004). Biofouling and antifouling. *Nat. Prod. Rep.* 21, 94-104.
- Regalado, E; Valdés, O; Menéndez, R; Morales, R; Laguna, A y col (2010). Chemical analysis of BM-21, a bioactive extract rich in polyphenolic metabolites, from the sea grass *Thalassia testudinum*. Informe Técnico.
- Pino, J. A; Regalado, E. L. (2008). Volatile constituents of *Thalassia testudinum* Banks ex König Leaves. *J. Essential Oil Research*. Vol.22
- Rondina, R.V; Coussio, J.D. (1969). Estudio fitoquímico de plantas medicinales argentinas. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, INTA, Serien 2, Biología y Producción

- Vegetal, Buenos Aires, Argentina VI.
- Schabra, S.C; Ulso, M; Mshin, E.N. (1984). Phytochemical screening of Tanzanian medical plants. *J. Ethnopharmacol.* Vol. 11, 157-159.
- Pharmacopoeia, B. *British Pharmacopoeia.* (2007) Tannins in Herbal Drugs (Method 2.8.14). Appendix XI M. Volume I & II. Version 11.0 DataÒ System Simulation Ltd. The Stationary Office (TSO), Norwich.
- Aiyegoro, O.A; Okoh, A.I. (2010). Preliminary phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of the aqueous extract of *Helichrysum longifolium* DC. *BMC Complement. Altern. Med*10, 21.
- Fuleki, T; Francis, F.J. (1968). Quantitative methods for anthocyanins. *J. Food Sci.* 33, 78-83.
- Dubois, M; Gilles, K.A; Hamilton, J.K; Rebers, P.A; Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Biochem.* 28, 350-356.
- Bligh, E.G; Dyer, W.J, (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* Vol. 37, 911-917.
- Craigie, J.S; Leigh, C. (1978). Carrageenan and agars. In *Handbook of Phycological Methods* Press, Por Hellebust, J. A.; Craigie, J. S., Eds. Cambridge University: Cambridge; pp 109-131.
- Wrolstad, R; Acree, T; Decker, E; Penner, D; Schwartz y col. (2005). *Handbook of Food Analytical Chemistry* John Wiley & Sons: Hoboken (Eds); Vol. 39.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* Vol. 72, 248-254.
- Concepción, A; Fernández A; Del Vallín, Teresita. (2001). Evaluación de extractos de algas marinas, con actividad antioxidante y reorganizadora de la fibra colágena. *Rev. Cubana Invest Biomed.* 20(1): 6-11
- Arabshahi, S. (2007). Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. *Food Chemistry*, 100, 1100-1105.
- Acosta, J; Nuevas, L; Amaro, D; Álvarez, J. C. (2009). Estudio del Proceso de Lixiviación de la Corteza Vegetal de *Mangifera indica* L. *Lat. Am. J. Pharm.* 28 (1): 27-31.
- Sharapin, N. (2000). Fundamentos de Tecnologías de Productos Fitoterapéuticos. Serie Ciencia y Tecnología, N 78; p.28, 35-40.
- Lafka, T. I; Sinanoglou, V; Lazos, E. S. (2007). On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chemistry*, 104, 1206-1214.
- Spigno, G; Tramelli, L; De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81, 200-208

Evaluación fisicoquímica y microbiológica de la extracción de harina de oca por el método tacho abierto

Physicochemical and microbiological evaluation of the extraction of oca flour by the open tacho method

Dayana Caicedo¹

Universidad Politécnica Estatal del Carchi. Tulcán, Ecuador

Correo institucional: *dayana.caicedo@upec.edu.ec

Recibido: 27 de enero de 2021

Aceptado: 03 de junio de 2021

Abstract

Las harinas han sido fundamental para la elaboración de productos con mayores propiedades nutricionales, es por ello que se realizó una evaluación fisicoquímica y microbiológica de la extracción de harina de oca por el método tacho abierto con la finalidad de aumentar su consumo. Se utilizó ocas frescas y en buenas condiciones las cuales emplearon un tiempo de endulzado de 15 días expuestas al sol, luego se procedió a lavar, desinfectar y cortar en hojuelas con un diámetro de 2mm para someterlas en una solución de ácido cítrico a 0,1% normal. Posteriormente, se llevó a cabo la pre cocción de las hojuelas a tacho abierto, método que consiste en la aplicación de calor a 91°C durante 20 minutos con una presión de 10,44 PSI. Finalmente, se lleva las hojuelas de oca a un proceso de secado durante 20 horas para su respectiva molienda y tamizado hasta extraer la harina a la cual se le harán los diferentes análisis. Los resultados que presentó la harina de oca fueron un pH de 7,43%, humedad 9,32%, cenizas 4,23%, proteína 6,28%, fibra 2,98%, grasa 0,83%, carbohidratos 77, 25% lo que significa que cumple como los requerimientos fisicoquímicos establecidos en la norma NTE INEN 616, así como también su análisis microbiológico ya que el conteo de las ufc/g de coliformes, mohos y levaduras fue menor a los límites máximos permitidos.

Keywords: Harina, microorganismos, análisis fisicoquímicos.

Abstract

Flours have been fundamental for the elaboration of products with greater nutritional properties, which is why a physicochemical and microbiological evaluation of the extraction of goose flour by the open container method was carried out in order to increase its consumption. Fresh geese were used and in good conditions which used a sweetening time of 15 days exposed to the sun, then they proceeded to wash, disinfect and cut into flakes with a diameter of 2mm to subject them in a solution of citric acid at 0.1 % normal. Subsequently, the pre-cooking of the flakes was carried out in an open pan, a method that consists of applying heat at 91°C for 20 minutes with a pressure of 10.44 PSI. Finally, the goose flakes are taken to a drying process for 20 hours for their respective grinding and sieving until the flour is extracted to which the different analyzes will be made. The results presented by the goose flour were a pH of 7.43%, humidity 9.32%, ash 4.23%, protein 6.28%, fiber 2.98%, fat 0.83%, carbohydrates 77, 25%, which means that it complies with the physicochemical requirements established in the NTE INEN 616 standard, as well as its microbiological analysis since the count of cfu / g of coliforms, molds and yeasts was lower than the maximum permitted limits.

Keywords: Flour, microorganisms, physicochemical analysis.

1. INTRODUCCIÓN

La oca (*Oxalis tuberosa*) es un alimento cultivado y consumido en muchas zonas de los Andes y cuya demanda se ha visto limitada en nuestro país, debido a los escasos procesos industrializados de dicho tubérculo, como fuente alternativa de alimentación; lo que conlleva a realizar un estudio de la industrialización de la oca blanca, con el fin de obtener productos derivados de la misma y con alto valor nutricional (Miranda, 2013).

El tubérculo de la oca (*Oxalis tuberosa*), ha sido empleado en muchos casos como sustituto de la papa, al presentar esta última un costo más elevado, pero cabe recalcar que, desde el punto de vista nutricional, la oca presenta mejor o igual fuente nutricional que la papa; así como mayor estabilidad en su producción debido a su gran resistencia a las plagas (Barrera, Tapia y Monteros, 2004).

Mosquera (2015), señala que la oca (*Oxalis tuberosa*) es un tubérculo rico en carbohidratos, con cantidades considerables de vitamina C y calcio en comparación con la papa, cuya producción es más común e importante en nuestro país; he ahí la razón fundamental por la cual se desea industrializar la oca con la obtención de harina de oca.

Fairlie, Morales y Holle (1999), establece ciertos procesos como posibles para la obtención de harina, los mismos que son: selección, lavado, rectificado, cortado, blanqueado o escaldado, secado y finalmente la molienda; no obstante, establece que la oca debe someterse a un proceso de soleado por varios días con el fin de desarrollar la sacarina y disminuir el ácido oxálico.

La presente investigación tiene como

objetivo evaluar las características físico-químicas y microbiológicas de la extracción de harina de oca por el método tacho abierto con la finalidad de aumentar el consumo de la misma.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La extracción de harina de oca se realizó en los laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, a partir de ocas dulces empleando un tiempo de endulzado de 15 días exponiéndolas al sol. Se seleccionó cuidadosamente ocas frescas y de buenas condiciones para proceder a su lavado y desinfección, seguido a esto las ocas fueron cortadas con la ayuda de una laminadora obteniendo hojuelas delgadas y uniformes con un diámetro de 2mm cada una y a su vez estas fueron sometidas en una solución de ácido cítrico a 0,1% normal. Posteriormente, se llevó a cabo la pre cocción de las hojuelas de oca a tacho abierto, “método que consiste en la aplicación de calor a los alimentos a temperaturas elevadas superior a los 70 °C” (Caracuel García, 2008), en el que se utilizó una olla de acero inoxidable añadiendo agua en relación 3:1 (agua: tubérculo), a una temperatura de 91°C durante 20 minutos con una presión de 10,44 PSI.

Una vez pre cocidos los tubérculos fueron sometidos a un proceso de secado en una estufa Ecocell B070027 a 60°C durante 20 horas y así se procedió a su respectiva molienda, utilizando un molino de discos MDP 60 seguido de un tamizado usando un tamiz de acero inoxidable hasta extraer la harina de oca que finalmente fue empacada en fundas plásticas de polietileno y almacenada en un lugar fresco y seco a una temperatura de 25°C.

2.1 Análisis Físicoquímico para la harina de oca

La harina de oca fue sometida a los siguientes análisis fisicoquímicos:

2.1.1 pH

La determinación de pH se realizó en base a la NTE INEN 526, con el material y equipo que se encuentra en los laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, bajo el siguiente protocolo:

- Pesar 10 g de muestra de harina en un vaso de precipitación.
- Colocar 100 cm³ de agua destilada (recientemente hervida y enfriada) y agitar suavemente hasta que las partículas queden uniformemente suspendidas.
- Agitar a 25 °C por 30 minutos.
- Dejar en reposo para que el líquido se decante.
- Determinar el pH por lectura directa, introduciendo los electrodos del potenciómetro, evitando que éstos topen las paredes de la muestra.

2.1.2 Humedad

El análisis de humedad se realizó en base a la NTE INEN 518, con el material y equipo que se encuentra en los laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, bajo el siguiente protocolo:

- Calentar el pesa-filtro y tapa en la estufa a 130°C durante 30 minutos.
- Enfriar en el desecador hasta que alcance la temperatura ambiente y pesar.
- Pesar 2 g de muestra, transferirla la pesa-filtro de una manera uniforme.
- Calentar el pesa-filtro con la muestra, sin la tapa, en la estufa a 130°C durante una hora.

- Colocar la tapa con la pesa-filtro antes de trasladarlo al desecador hasta que alcance temperatura ambiente, pesar.
- Repetir las operaciones de calentamiento, enfriamiento y pesaje, hasta que la diferencia de masa de los resultados de pesaje entre dos operaciones sucesivas no sea mayor a 0.1 mg.

2.1.3 Cenizas

El análisis de cenizas se realizó en base a la NTE INEN 520, con el material y equipo que se encuentra en los laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, bajo el siguiente protocolo:

- Calentar el crisol en la mufla a 550°C durante 30 minutos.
- Enfriar en el desecador y pesar.
- Pesar 5 g de muestra y transferir al crisol.
- Colocar el crisol con la muestra cerca de la puerta de la mufla abierta durante pocos minutos.
- Introducir el crisol en la mufla a 550°C hasta obtener cenizas de color gris claro.
- Llevar el crisol y la muestra al desecador y pesar una vez que haya alcanzado la temperatura ambiente.
- Repetir la incineración por períodos de 30 minutos, enfriar y pesar hasta que no haya disminución en la masa.

2.1.4 Proteína

El análisis de proteína se realizó en base a la NTE INEN 519, con el material y equipo que se encuentra en los laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, bajo el siguiente protocolo:

- Pesar de 0.7 g a 2.2 g de muestra y transferir al matraz Kjeldahl.
 - Agregar 15 g de la mezcla catalizadora sulfato de cobre, sulfato de potasio (o sulfato de sodio) anhidros y 25 ml de ácido sulfúrico concentrado.
 - Agitar con cuidado el matraz y colocarlo en la hornilla del equipo Kjeldahl.
 - Calentar hasta que no se observe formación de espuma y luego aumentar el calentamiento, hasta que el contenido del matraz sea cristalino e incoloro. Continuar con el calentamiento dos horas y dejar enfriar.
 - Agregar 200 ml de agua destilada, enfriar la mezcla hasta una temperatura menor a 25°C y añadir trozos de parafina o granallas de zinc para evitar proyecciones durante la ebullición.
 - Inclinar el matraz con su contenido y verte por sus paredes, para que se formen dos capas, 50 ml de la solución concentrada de hidróxido de sodio.
 - Conectar el matraz Kjeldahl al condensador mediante la ampolla de destilación. El extremo de salida del condensador debe sumergirse en 50 ml de solución 0.1 N de ácido sulfúrico, al que se le agregó unas gotas de rojo de metilo.
 - Agitar el matraz Kjeldahl hasta mezclar su contenido y calentar.
 - Destilar hasta que todo el amoníaco haya pasado a la solución ácida; esto se logra después de destilar por lo menos 150 ml.
 - Lavar con agua destilada el extremo del condensador y titular el exceso de ácido con la solución 0.1 N de hidróxido de sodio.
- Realizar un ensayo en blanco con todos los reactivos sin muestra, bajo el protocolo descrito

2.1.5 Grasa

El análisis de grasa realizó en base a la NTE INEN 523, con el material y equipo que se encuentra en los laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, bajo el siguiente protocolo:

- Lavar el balón del equipo Soxhlet y secar en la estufa calentada a 100°C, por una hora.
- Transferir al desecador y pesar cuando haya alcanzado la temperatura ambiente.
- En el dedal del Soxhlet, pesar 2.35 mg de muestra de harina, 2 g de arena bien seca, mezclar con la espátula.
- Colocar algodón hidrófilo en la parte superior del dedal como tapa e introducir en la estufa a 130°C por una hora.
- Transferir el dedal con su contenido al desecador y enfriar a temperatura ambiente.
- Colocar el dedal y su contenido en el equipo Soxhlet, agregar éter anhidro y extraer durante 4 horas a una velocidad de condensación de 5 a 6 gotas por segundo, o durante 1 hora a velocidad de 2 a 3 gotas por segundo.
- Una vez terminada la extracción, recuperar el disolvente por destilación en el mismo equipo y eliminar restos de disolvente en baño maría.
- Colocar el balón con la grasa en la estufa a 100°C durante 30 minutos, transferir al desecador, enfriar a

- temperatura ambiente y pesar.
- Por períodos de 30 minutos repetir el calentamiento, enfriando y pensando hasta que la diferencia de pesos de dos operaciones consecutivas no sea mayor a 0.2 mg.

2.1.6 Fibra

El análisis de fibra se realizó en base a la NTE INEN 522, con el material y equipo que se encuentra en los laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, bajo el siguiente protocolo:

- Pesar 3 g de muestra y transferir a un dedal de porosidad adecuada, tapar con algodón y colocar en la estufa a 130°C por una hora.
- Llevar el dedal con la muestra, al desecador hasta que alcance la temperatura ambiente.
- Colocar en el equipo Soxhlet y llevar a cabo el proceso de extracción de grasa, con cantidad suficiente de éter.
- Sacar el dedal con la muestra sin grasa, dejar a temperatura ambiente con el fin de que se evapore el solvente, colocar en la estufa a 100°C por dos horas. Enfriar en el desecador hasta temperatura ambiente.
- Pesar 2 g de muestra desengrasada y transferir al balón de precipitación de 600 ml.
- Agregar 1 g de asbesto preparado, 200 ml de solución hirviendo 0.255 N de ácido sulfúrico, una gota de antiespumante o perlas de vidrio.
- Colocar el balón y su contenido en el equipo de digestión, dejar hervir por 30 minutos (girar el balón, para evitar que los sólidos se adhieran a las paredes).
- Filtrar a través de tela de tejido fino en el embudo, en un erlenmeyer de 1000 ml. Lavar los residuos con agua destilada caliente hasta que las aguas de lavado no den reacción ácida.
- Colocar el residuo en el balón de precipitación, agregar 200 ml de solución 0.313 N de hidróxido de sodio hirviendo, colocar en el aparato de digestión y llevar a ebullición por 30 minutos.
- Filtrar a través de la tela, lavar el residuo con 25 ml de solución 0,255 N de ácido sulfúrico hirviendo y luego agua destilada hirviendo, hasta que las aguas de lavado no den reacción alcalina.
- Transferir el residuo al crisol de Gooch que contiene asbesto, previamente pesado, añadir 25 ml de alcohol etílico poco a poco y filtrar aplicando vacío.
- Colocar el crisol con la muestra en la estufa a 130°C por dos horas.
- Enfriar en el desecador a temperatura ambiente y pesar
- Colocar el crisol con la muestra seca en la mufla a 500°C por 30 minutos. Enfriar en el desecador y pesar.
- Realizar un ensayo en blanco sin muestra, con todos los reactivos y bajo el mismo protocolo.

2.1.7 Carbohidratos

Realizado en base a un cálculo a partir de los datos anteriores, en los laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi.

2.2 Análisis Microbiológico para la harina de oca

La harina de oca fue sometida a los siguientes análisis microbiológicos:

2.2.1 Coliformes

El análisis de coliformes se siguió los parámetros establecidos en la NTE INEN 616, con el material y equipo que se encuentra en los laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, utilizando Placas Petrifilm CC.

2.2.2 Mohos y levaduras

El análisis de mohos y levaduras se si-

guió los parámetros establecidos en la NTE INEN 616, con el material y equipo que se encuentra en los laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, utilizando Placas Petrifilm YM.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización fisicoquímica de la harina de oca

En la tabla 1 se muestran los resultados del análisis fisicoquímico realizada a la harina de Oca en el laboratorio de la Universidad Politécnica Estatal de Carchi.

Parámetros	%
pH	7,43
Humedad	9,32
Cenizas	4,23
Proteína	6,28
Fibra	2,98
Grasa	0,83
Carbohidratos	77,25

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos de la harina de oca obtenida por el método de tacho abierto

La Norma NTE INEN 616 (2006), para la harina de trigo especifica rangos máximos y mínimos para parámetros fisicoquímicos, en donde, la humedad debe tener un límite máximo de 14.5%, 0.75% de cenizas, y un límite mínimo de 10% de proteínas; cabe mencionar que la harina de oca cumple como dichos requerimientos fisicoquímicos, mas no en lo que corresponde a proteína esto debido a la baja o nula presencia del gluten que es el componente básico de la harina de trigo.

Chilig (2013), en su estudio acerca de la harina de zanahoria establecen valores de 2.03% de humedad, 2.97% de cenizas y 12.10% de proteína; cabe recalcar que, los valores obtenidos para la harina de zanahoria son inferiores al de la harina de oca en cuanto a humedad y cenizas, sin embargo, la proteína presente en la harina de zanahoria es mucho mayor al de la Oca ya que este corresponde a 6,28%.

Arguto y Mero (2011), realizaron estudios acerca de la harina de arroz, en el cual

reportaron valores de 6.24 en pH, 3.26% de humedad, 99.78% de cenizas, 0% de grasas, 11.13% de proteínas y 0.12% de fibra. Se puede analizar que la harina de oca tiene valores más altos en lo que corresponde a pH (7,43%), humedad (9,32%), grasas (0,83%) y fibra (2,98%); sin embargo, la harina de arroz contiene mayor porcentaje de proteínas y cenizas.

El pH es un indicador del estado en que se encuentra un producto, este influye directamente en los procesos y estabilidad de los alimentos, la harina de Oca debe presentar valores bajos para que sea menos propensa al desarrollo de microorganismos indeseables, en su investigación muestra que el resultado de pH de la harina de oca fue de 6.03 (Meza, 2017). En la investigación realizada podemos evidenciar que se

obtuvo un dato más elevado como es 7.43, al ser un valor alto se puede determinar que la harina tendrá un tiempo de vida útil limitado ya se su pH se encuentra en un rango de neutralidad.

Sívoli (2016), determina que la harina de yuca presenta un porcentaje de humedad de 5.93%, la harina de batata blanca 5.07% y la harina de batata morada 6.47%, por lo que se puede afirmar que estos tipos de harinas presenta un porcentaje bajo en relación a la humedad de la harina de Oca ya está presenta un valor de 9.32%, lo que la hace que sea más percedera en relación a las demás harinas.

2 Análisis microbiológico de la harina de oca

El recuento de coliformes totales, mohos y levaduras se detallan en la tabla 2.

Microorganismo	Conteo (ufc/g)
Coliformes	72
Mohos y levaduras	350

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos de la harina de oca obtenida por el método de tacho abierto

Según la Norma NTE INEN 616 (2006), la harina extraída de oca se encuentra dentro de los rangos establecidos, debido a que se aplicaron buenas prácticas de manufactura en la extracción de la misma, donde ciertos límites establecidos en la norma comprenden 100 UFC/g para coliformes y 500 ufc/g para mohos y levaduras.

4. CONCLUSIONES

El pH es un parámetro de vital importancia en los alimentos ya que determina la calidad de los mismos, la harina de oca presentó un valor de 7,43% mayor al valor de la harina de arroz,

encontrándose en un rango de neutralidad lo que indica que tendrá un tiempo de vida útil limitado. La cantidad de agua presente en los alimentos influye en la textura, apariencia, sabor y tiempo de conservación, la harina de oca tuvo una humedad de 9,32%, siendo un valor aceptable según la norma establecida, sin embargo, este resultado hace que sea más percedera en relación a los demás tipos de harina. Los resultados obtenidos en cuanto a cenizas, grasas, fibra y proteína fueron de 4,23, 0,83, 2,98 y 6,28% respectivamente, dichos valores son superiores en relación a la harina de yuca, arroz, batata blanca, batata morada y

zanahoria, a excepción de la proteína, debido a que la oca tiene baja presencia de gluten. Durante la obtención de la harina de oca se llevó a cabo un proceso adecuado, aplicando las buenas prácticas de manufactura, es por ello que el resultado en cuanto al análisis microbiológico que corresponde al conteo de coliformes, mohos y levaduras las ufc/g fue menor a los límites establecidos en la norma NTE INEN 616 (2006).

Mosquera, C. (2015). Estudio de la obtención de la harina de oca blanca (*Oxalis tuberosa*) y su aplicación en la elaboración de pan de molde por sustitución parcial de la harina de trigo. Quito, Ecuador: Universidad Tecnológica Equinoccial. Facultad de Ciencias de Ingeniería. Carrera de Ingeniería de Alimentos.

Sívoli, L. (2016). Caracterización fisicoquímica, funcional y nutricional de harinas crudas obtenidas a partir de diferentes variedades de yuca. Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal.

Referencias bibliográficas

Arguto, K., y Mero, E. (2011). Utilización de Harina de Arroz en la Elaboración de Pan. Guayaquil: ESPOL.

Barrera, V., Tapia, C., y Monteros, A. (2004). Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y usos sostenible en el Ecuador. Quito: Instituto Nacional de Autonomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).

Caracuel García, Á. (2008). Técnicas de cocción saludables aplicables a la alimentación mediterránea.

Chilig, C. (2013). Elaboración de harina de zanahoria blanca para utilizar en productos de panificación y definir niveles de aceptabilidad. Riobamba: ESPOCH.

Fraile, T., Morales, M., & Holle, M. (1999). Raíces y tubérculos andinos. Avances de investigación I. Lima, Perú: CONDESAN.

Meza, B. (2017). Caracterización fisicoquímica, fitoquímica y funcional de la harina de Khaya y Oca para uso industrial. Huancayo Perú: Universidad Nacional del centro de Perú. Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias. Tesis de grado.

Miranda, V. (2013). Estudio de la oca y propuesta gastronómica de autor. Quito: Universidad Internacional del Ecuador. Escuela de Gastronomía. Trabajo de fin de carrera previo a la obtención de título de Ingeniero Gastronómico.

Formulación y caracterización fisicoquímica y sensorial de un queso semimaduro saborizado tipo andino carchense

Formulation and physicochemical and sensory characterization of an andean carchense flavored semi-mature cheese

María José Manríquez ^{*1.}, Juan Pablo Orbe^{2.}, Jeniffer Parra^{3.}, Nataly Pinchao^{4.}
Universidad Politécnica Estatal del Carchi. Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales. Carrera de Ingeniería en Alimentos. Calle Antisana y. Av. Universitaria. Tulcán-Ecuador
E-mail address: mjmanriquez96@gmail.com

Recibido: 27 de enero de 2021

Aceptado: 08 de junio de 2021

Abstract

En el presente proyecto se formuló y caracterizó de manera fisicoquímica, sensorial y microbiológica a un queso semimaduro saborizado tipo Andino Carchense, utilizando como materia prima leche de raza Pizán, desarrollada genéticamente en la provincia del Carchi, Se realizó un experimento por triplicado bajo un diseño completamente aleatorizado donde se desarrollaron dos fases, la primera referente a la contextualización del queso evaluando materia prima proveniente de dos razas de ganado, tipo de microorganismos y la temperatura final de desuerado, se obtuvo el mejor tratamiento mediante un análisis sensorial, correspondiente a un queso elaborado con leche de raza Pizán, cultivo láctico *L. delbrueckii* y *L. helveticus*, temperatura de desuerado de 44°C y madurado por 28 días, con este tratamiento se procedió a elaborar la segunda fase en la que se evaluó la adición de salsas y el recubrimiento a la corteza, donde presentó mayor aceptabilidad el tratamiento elaborado con leche de raza Pizán y cultivo láctico *L. delbrueckii* y *L. helveticus*, una temperatura de desuerado de 44°C, saborizado con pesto, madurado por 28 días y con un recubrimiento de especies deshidratadas. Mediante evaluación sensorial se determinaron los tres mejores tratamientos, estos fueron sometidos a un análisis de grasa, proteína y humedad dando como resultado 39%, 10,5% y 51% respectivamente, porcentajes que se encuentran dentro del rango establecido en la Normativa Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2607. En el análisis microbiológico se determinó la ausencia de Enterobacteriaceas y *Staphylococcus aureus* denotando que el producto es completamente inocuo. Mediante estas afirmaciones se puede concluir que la leche de raza Pizán cumple con los parámetros fisicoquímicos requeridos para la elaboración de quesos madurados de textura semidura, la leche de esta raza es rica en macronutrientes como grasa y proteína aquellas que otorgan textura, sabor y rendimiento únicas, propias de un queso Andino.

Keywords: Pizán, contextualización, cultivo láctico.

Abstract

In this project, a semi-ripe flavored Andean from Carchi – Ecuador type cheese was formulated and characterized in a physicochemical, sensory and microbiological way, using Pizán milk as raw material, genetically developed in the province of Carchi. An experiment was carried out in triplicate under a design completely randomized where two phases were developed, the first referring to the contextualization of the cheese evaluating raw material from two breeds of cattle, type of microorganisms and the final draining temperature, the best treatment was obtained through a sensory analysis, corresponding to a cheese made with milk from the Pizán race, lactic culture *L. delbrueckii* and *L. helveticus*, draining temperature of 44°C and matured for 28 days, with this treatment the second phase was elaborated in which the addition of sauces and the coating to the crust, where the treatment made with milk from the Pizán race presented greater acceptability and lactic culture *L. delbrueckii* and *L. helveticus*, a dewatering temperature of 44°C, flavored with pesto, matured for 28 days and with a coating of dehydrated species. Through sensory evaluation, the three best treatments were determined, these were subjected to an analysis of fat, protein and humidity, resulting in 39%, 10.5% and 51% respectively, percentages that are within the range established in the Ecuadorian Technical Regulations. NTE INEN 2607. In the microbiological analysis the absence of Enterobacteriaceae and *Staphylococcus aureus* was determined, denoting that the product is completely harmless. Through these statements it can be concluded that the Pizán race milk meets the physicochemical parameters required for the production of ripened semi-hard cheeses, the milk of this breed is rich in macronutrients such as fat and proteins that provide unique texture, flavor and performance. typical of an Andean cheese.

Keywords: Pizán, lactic culture, contextualization.

1. Introducción

La provincia del Carchi es reconocida por su gran producción de papas y leche, de acuerdo con El Comercio (2019). Uno de los lugares más importantes en la economía de la provincia, lo ocupan las industrias lácteas, pero la falta de conocimiento de nuevas tecnologías y nuevos aditivos que se implementan a la leche para darle un valor agregado importante en el mercado ha hecho, que el sector productivo del Carchi no permita su evolución en la industria y así siga elaborando productos lácteos de forma Tradicional.

El Carchi es la cuarta provincia del Ecuador productora de leche con un 6,5% del nivel total de producción a nivel del país equivalente a 360mil litros diarios, debido a que cuenta con un 36% del total de superficie provincial para el uso agropecuario. En el Carchi se encuentran alrededor de 2811 productores de leche, el volumen de producción de leche obtenido se destina a 55 industrias lácteas entre grandes, medianas y pequeñas. El 81,5% de esta leche es designada para la producción de queso amasado, queso de mesa y queso criollo. (Paredes, 2018).

Uno de los problemas más grandes a los que se enfrenta la provincia del Carchi es el escaso desarrollo agroindustrial y niveles bajos de competitividad. De acuerdo con el análisis elaborado por el Ministerio Coordinador de la Producción para cada provincia del país, la provincia de Carchi refleja bajos índices de productividad y un nivel crítico de acuerdo con la competitividad, englobando de esta manera la innovación, ciencia y tecnología. (SENPLADES, 2010).

Estos niveles críticos de competitividad están sujetos esencialmente a procesos de transformación productiva en términos de generación de mayor valor agregado, pasando de la producción primaria a producción secundaria, concentrándose en el sector agroindustrial y agropecuario.

Según el diario la Hora (2016). En el Carchi se procesa alrededor de 90 mil litros de leche, esta producción es destinada a la elaboración de 20mil quesos diarios entre estos tenemos: queso amasado, fresco, mozzarella y cuajada. Es decir, un total de 25% de la producción total de leche en la provincia se destina para la elaboración de quesos que representa un alto nicho de mercado, pero es el producto que menos innovación presenta.

En la provincia la producción de quesos maduros no está muy explotada, solo 4 de 55 industrias lecheras se encargan de la producción y comercialización de quesos maduros entre estas tenemos a Alpina, Milma, Gonzales y Mondel, las cuales representan al 2.2% de la empresa láctea en la provincia del Carchi. Mientras que las pequeñas procesadoras que conforman el 92% de la empresa láctea tienen conocimiento básico sobre el procesamiento de lácteos, y que debido a la falta de capacitación permanente tiene como consecuencia la carencia de innovación y desarrollo de nuevos productos; sin embargo, se empieza a sentir un mayor interés por este tipo de productos por parte de consumidores, por lo tanto, el presente proyecto tiene como meta principal, la elaboración de un queso semimaduro tipo Andino Carchense con mezclas de especies deshidratadas adheridos a su corteza como propuesta de valor agregado, empleando procesos, cultivos y conociemien-

tos actuales para obtener un producto innovador y de calidad con identidad Carchense mediante el uso de materia prima desarrollada genéticamente en la ciudad de San Gabriel provincia del Carchi, la raza Pizán la cual es un híbrido de raza Holstein y raza criolla, que produce leche con un 3.5% a 3.8% de grasa lo que es perfecto para la elaboración de quesos madurados.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Localización

La fase de experimentación se la llevó a cabo en el centro experimental San Francisco perteneciente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi ubicada en la panamericana norte E10/ E35 Huaca- Carchi- Ecuador, los análisis fisicoquímicos y microbiológicos se realizaron en los laboratorios de la UPEC ubicada en la Av. Universitaria Tulcán- Carchi- Ecuador.

2.2. Elaboración del queso:

2.2.1. Primera fase:

Se uso leche proveniente de dos razas de ganado distintas Pizán y Holstein con el objetivo de determinar las diferencias sensoriales del queso, destinando 10 litros como tamaño de unidad experimental, la materia prima fue evaluada mediante el empleo de un Ecomilk y sometida a un proceso de pasteurización lenta (60°C x 30min) en una marmita con 100 litros de capacidad con doble camisa, posterior a esto se inoculo dos tipos de microorganismos liofilizados MA11 y H100 a 35°C x 20 minutos con el objetivo de generar sabores y texturas distintas en el producto final, se adicionó a la leche inoculada 1 ml de renina líquida por cada tratamiento y se la dejó actuar por 30 minutos hasta que se forme el gel, se usó una lira de acero inoxidable de

1 cm de abertura para realizar el corte del mismo, se elevó la temperatura hasta 44 °C, agitando constantemente con la finalidad de que el grano se compacte y facilite su desuerado, se proporcionó la cuajada en moldes redondos de acero inoxidable con capacidad de 500 gr, se realizó un prensado por volteo con lapsos de 20 minutos por lado durante 1 hora, se sumergió los quesos en una solución de salmuera a 22 °B durante 3 horas a una temperatura de 10°C y finalmente la maduración se la llevó a cabo en una cámara con condiciones contraladas (temperatura 12°C, humedad relativa no menor a 85% y por un tiempo de 28 días).

Se realizó un análisis sensorial para determinar el mejor tratamiento y con este poder continuar la segunda fase correspondiente al saborizado.

2.2.2. Segunda fase:

Se usó leche proveniente de raza Pizán destinando 10 litros como tamaño de unidad experimental, la materia prima fue evaluada mediante el empleo de un Ecomilk y sometida a un proceso de pasteurización lenta (60°C x 30min) en una marmita con 100 litros de capacidad con doble camisa, posterior a esto se inoculo microorganismos liofilizados H100 a 35°C x 20 minutos, se adicionó a la leche inoculada 1 ml de renina líquida por cada tratamiento y se la dejó actuar por 30 minutos hasta que se forme el gel, se usó una lira de acero inoxidable de 1 cm de abertura para realizar el corte del mismo, se adicionó 2 tipos de salsa, la primera correspondiente a pesto y la segunda a Pichacho (ají de semillas de calabaza) al 2,5%, se elevó la temperatura hasta 44 °C, agitando constantemente con la finalidad de que el grano compacte y facilite su desuerado,

se proporcionó la cuajada en moldes redondos de acero inoxidable con capacidad de 500 gr, se realizó un prensado por volteo con lapsos de 20 minutos por lado durante 1 hora, se sumergió los quesos en una solución de salmuera a 22 °B durante 3 horas a una temperatura de 10°C y finalmente la maduración se la llevo a cabo en una cámara con condiciones contraladas (temperatura 12°C, humedad relativa no menor a 85% y por un tiempo de 28 días), se realizó un recubrimiento de corteza sumergiendo a los quesos en una solución de goma xantano al 1% para posterior a esto cubrirlos con mezclas preparadas de especias deshidratadas y frutos secos.

2.3. Análisis sensorial:

Se prepararon muestras en forma de cubos de 4 gr a las cuales se les asignaron códigos para evitar subjetividad en los resultados del público catador, se presentaron las muestras a 63 catadores que evaluaron parámetros sensoriales: color, olor, apariencia, textura, sabor y aceptación general, se empleó como herramienta de análisis una escala hedónica de 7 puntos donde la mayor calificación (7) correspondía a me gusta mucho, mientras que la menor calificación (1) corresponde a me disgusta mucho.

2.4. Análisis Estadístico:

Los datos obtenidos del análisis sensorial fueron analizados con el programa estadístico Infostat. Se empleo un análisis de varianza ANOVA y para determinar las diferencias estadísticamente significativas entre cada tratamiento se utilizó la prueba de Tukey para determinar el nivel de significancia entre comparaciones múltiples.

2.5. Análisis Físicoquímicos:

2.5.1. Grasa:

Se colocó 3 gr de muestra en cada butirómetro de 0 a 40%, se añadió 10 ml de ácido sulfúrico, se situó el butirómetro de forma vertical en un baño María a 65°C agitando constantemente hasta que toda la muestra se disuelva por aproximadamente 20 minutos, el butirómetro fue retirado del baño María para agregar 1 ml de alcohol amílico y finalmente llevarlo a la centrifuga por 5 minutos.

2.5.2. Proteína:

Se pesó en una balanza analítica 1 gr de muestra, se la cubrió con papel celofán y se la adicionó en un tubo kjendhal junto con una pastilla digestora y 20 ml de ácido sulfúrico, se encendió el scrubber y luego el digestor kjeldhal programado a 250° C por 10 minutos, 300° C por 5 minutos, y 420° C por 45 minutos. En un matraz se colocó 50 ml de ácido bórico al 4% y 6 gotas de rojo tashiro, al iniciar con la destilación se verificó la suficiente agua destilada, se colocó el tubo kjendhal en el destilador programado previamente para absorber 70 ml de hidróxido de sodio al 40% por 4 minutos a 100 ° C, una vez terminada la destilación se retiró el matraz y se procedió a la titulación con ácido clorhídrico al 0.1% hasta que su color cambie de azul a rosa.

2.5.3. Humedad

Se colocaron 5 gramos de queso en una capsula previamente homogenizada (estufa a 130°C x 1 hora), registrando su peso exacto para posteriormente introducirla en la estufa por un tiempo de 5 horas, transcurrido ese tiempo se retiró las capsulas para dejarlas reposar y enfriar en el desecador durante 1 hora, finalmente se calculó el porcentaje de humedad por la diferencia de peso inicial de la muestra con respecto al final.

2.6. Análisis Microbiológico:

El recuento microbiológico se realizó a través de siembra en placas petrifilm, utilizando 10 gramos de muestra y 90 ml de agua pectona al 1% como la dilución 101, se colocó la bolsa ziploc en el stomacher para lograr una muestra homogénea, con una pipeta de 1 ml se colocó una muestra de la dilución 101 y 9 ml de agua pectona al 1% obteniendo de esta manera la dilución 102, repitiendo el mismo proceso hasta obtener la dilución 103, con una pipeta de 1 ml se realizó la siembra de manera directa sobre la placa petrifilm para enterobacterias y

staphylococcus aureus, las placas fueron sometidas a un proceso de incubación en una estufa a 37°C por 48 horas.

En la tabla 1 se observa claramente la relación las características de calidad de leche en parámetros de grasa y proteína de los dos tipos de raza de ganado, utilizada en la elaboración del queso y su rendimiento en términos de gramos por cada litro de leche, por lo tanto, se puede deducir que la leche proveniente de la raza Pizán tiene mayor porcentaje de macronutrientes y por ende su rendimiento es mayor a los quesos elaborados con leche de la raza Holstein con una diferencia de 15g por cada litro de leche.

Parámetros de calidad	Pizán	Holstein
Grasa	4,62	3,84
pH	6,25	6,41
Agua añadida	0	0
Proteína	3,32	3,15

Tabla 1: Parámetros de calidad en la leche.

Tratamiento	Raza	% Grasa	% Proteína	Relación de g por litro
T1	Holstein	3,84	3,12	42,6
T2	Pizán	4,62	3,22	57,2
T3	Pizán	4,62	3,22	57,2
T4	Holstein	3,84	3,12	42,6
T5	Pizán	4,62	3,22	57,2
T6	Pizán	4,62	3,22	57,2

Tabla 2: Relación del porcentaje de grasa, proteína de dos razas distintas de vacas y el rendimiento final obtenido de cada tratamiento para la elaboración del queso semimaduro Andino Carchense

3. RESULTADOS

Al utilizar dos tipos de leche proveniente de dos razas distintas de ganado: Pizán y Holstein se evaluó la calidad inicial de la materia prima para determinar las diferencias existentes, como se puede notar en la tabla 2 existe una gran desigualdad entre los porcentajes de grasa de las razas evaluadas y utilizadas para la elaboración de un queso de tipo semimaduro Andino Carchense. En cuanto a los demás parámetros se define que el pH para la raza Pizán es de 6,25 y para la raza Holstein 6,41 lo que denota que la leche de las vacas Holstein es relativamente menos ácida, no se encontró

presencia de agua añadida y en cuanto a la proteína de la raza Pizán se obtuvo 3,15 y 3,32 para la raza Holstein.

En la tabla 3 se observa claramente la relación las características de calidad de leche en parámetros de grasa y proteína de los dos tipos dos tipos de raza de ganado, utilizada en la elaboración del queso y su rendimiento en términos de gramos por cada litro de leche, por lo tanto, se puede deducir que la leche proveniente de la raza Pizán tiene mayor porcentaje de macronutrientes y por ende su rendimiento es mayor a los quesos elaborados con leche de la raza Holstein con una diferencia de 15g por cada litro de leche.

Parámetros de calidad	Pizán	Holstein
Grasa	4,62	3,84
pH	6,25	6,41
Agua añadida	0	0
Proteína	3,32	3,15

Tabla 3: Parámetros de calidad en la leche.

Tratamiento	Raza	% Grasa	% Proteína	Relación de g por litro
T1	Holstein	3,84	3,12	42,6
T2	Pizán	4,62	3,22	57,2
T3	Pizán	4,62	3,22	57,2
T4	Holstein	3,84	3,12	42,6
T5	Pizán	4,62	3,22	57,2
T6	Pizán	4,62	3,22	57,2

Tabla 4: Relación del porcentaje de grasa, proteína de dos razas distintas de vacas y el rendimiento final obtenido de cada tratamiento para la elaboración del queso semimaduro Andino Carchense.

Este proyecto consta de dos fases: la primera se refiere a determinar mediante un análisis sensorial el mejor tratamiento y la manera en la que influye en las características sensoriales del queso el tipo de leche proveniente de dos razas de ganado, los microorganismos a emplear y la temperatura final de desuerado, con el mejor tratamiento se procese a continuar con la

segunda fase, esta es la fase del saborizado, donde se evaluarán la influencia en las características sensoriales del queso dos tipos de salsa y dos tipos de corteza, las muestras serán evaluadas por un panel de catadores, donde los 3 tratamientos que mejor grado de aceptación tengan serán sometidos a pruebas fisicoquímicas y microbiológicas.

3.1. Análisis sensorial primera Fase:

Color:

Tratamiento	Medias	N	E.E		P valor
T5	5,98	61	0,14	A	<0,0001
T1	5,90	61	0,14	A	
T6	5,85	61	0,14	A	
T2	5,85	61	0,14	A	
T3	5,08	61	0,14	B	
T4	4,90	61	0,14	B	

Tabla 5: Tukey para el atributo color

La tabla 5 indica los resultados del análisis estadístico de la característica sensorial color en el cual se obtienen un p valor <0,0001 que indica la existencia de una diferencia significativa entre los tratamientos, para determinar estas diferencias se aplicó el test comparativo de Tukey con 95% de confianza, denotando que los tratamientos T5, T1, T6 y T2 son estadísticamente iguales y son los que mejor grado de aceptabilidad en cuanto al atributo de color con una calificación de 6 que equivale a me gusta mucho, mientras que los tratamientos T3 y T4 son estadísticamente iguales obteniendo una calificación de 5 que corresponde a me gusta.

Olor:

La tabla 6 muestra los resultados del análisis estadístico de la característica

sensorial olor en el cual se obtiene un p valor 0,0083 que indica que existe una diferencia significativa entre los tratamientos, para determinar estas diferencias se aplicó el test comparativo de Tukey con 95% de confianza, denotando que el tratamiento T5 es aquel que obtuvo mayor aceptabilidad en cuanto al color con una calificación de 5 que equivale a me gusta mucho, mientras que el tratamiento T4 obtuvo una calificación de 4 lo que equivale a me gusta.

Apariencia:

La tabla 7 indica los resultados del análisis estadístico de la característica sensorial color en el cual se obtienen un p valor <0,0001 que indica la existencia de una diferencia significativa entre los tratamientos, para determinar

estas diferencias se aplicó el test comparativo de Tukey con 95% de confianza, denotando que los tratamientos T1, T6, T5 y T2 son estadísticamente iguales y son los que mejor grado de aceptabilidad en cuanto a la apa-

riencia con una calificación de 6 que equivale a me gusta mucho, mientras que los tratamientos T3 y T4 son estadísticamente iguales obteniendo una calificación de 4 que corresponde a no me gusta ni me disgusta.

Tratamiento	Medias	N	E.E		P valor
T5	5,66	61	0,16	A	0,0083
T6	5,52	61	0,16	A B	
T1	5,44	61	0,16	A B	
T2	5,24	61	0,16	A B	
T3	5,11	61	0,16	A B	
T4	4,87	61	0,16	B	

Tabla 6: Test Tukey para el atributo olor

Tratamiento	Medias	N	E.E		P valor
T1	5,97	61	0,14	A	<0,0001
T6	5,87	61	0,14	A	
T5	5,84	61	0,14	A	
T2	5,75	61	0,14	A	
T3	4,34	61	0,14	B	
T4	4,31	61	0,14	B	

Tabla 7: Test Tukey para el atributo de la apariencia

Textura

Como se demuestra en la tabla 8 los resultados del análisis estadístico en cuanto a la textura en el queso se obtiene un p valor <0,0001 que indica la existencia de una diferencia significativa entre los tratamientos, para determinar estas diferencias se aplicó el test comparativo de Tukey con 95% de confianza, denotando que los tratamientos T5, T2, T6 y T1 son estadísticamente

iguales y son los que mejor grado de aceptabilidad en cuanto a la apariencia con una calificación de 6 que equivale a me gusta mucho, mientras que los tratamientos T4 y T3 son estadísticamente iguales obteniendo una calificación de 5 que corresponde a me gusta.

Tratamiento	Medias	N	E.E		P valor
T5	5,79	61	0,16	A	<0,0001
T2	5,75	61	0,16	A	
T6	5,61	61	0,16	A	
T1	5,59	61	0,16	A	
T4	4,57	61	0,16	B	
T3	4,54	61	0,16	B	

Tabla 8: Test Tukey para el atributo de la textura

Sabor

Como se demuestra en la tabla 9 los resultados del análisis estadístico en cuanto a la característica sabor se obtiene un p valor <0,0001 que indica la existencia de una diferencia significativa entre los tratamientos, para determinar estas diferencias se aplicó el test comparativo de Tukey con 95% de confianza, denotando que los tratamientos

T2, T5 y T6 son estadísticamente iguales y son los que mejor grado de aceptabilidad en cuanto a la apariencia con una calificación de 6 que equivale a me gusta mucho, los tratamientos T1, T3 y T4 son estadísticamente diferentes y presentan un grado de acogida de 5 que corresponde a me gusta.

Tratamiento	Medias	N	E.E		P valor
T2	5,81	61	0,17	A	<0,0001
T5	5,69	61	0,17	A	
T6	5,62	61	0,17	A	
T1	5,28	61	0,17	A B	
T3	4,77	61	0,17	B	
T4	4,58	61	0,17	C	

Tabla 9: Test Tukey para el atributo de sabor

Aceptación en General:

En la tabla 10 se observa que los resultados del análisis estadístico en cuanto a la aceptación en general se obtuvo un p valor <0,0001 que indica la existencia de una diferencia significativa entre los tratamientos, para determinar estas diferencias se aplicó el test comparativo de Tukey con 95% de confianza, denotando que los tratamientos T5,

T2, T6 y T1 son estadísticamente iguales y son los que mejor grado de aceptabilidad en cuanto a la apariencia con una calificación de 6 que equivale a me gusta mucho, mientras que los tratamientos T3 y T4 son estadísticamente iguales obteniendo una calificación de 5 que corresponde me gusta.

Tratamiento	Medias	N	E.E		P valor
T5	5,73	61	0,14	A	<0,0001
T2	5,70	61	0,14	A	
T6	5,66	61	0,14	A	
T1	5,56	61	0,14	A	
T3	4,85	61	0,14	B	
T4	4,67	61	0,14	B	

Tabla 10: Test Tukey para la aceptación en general

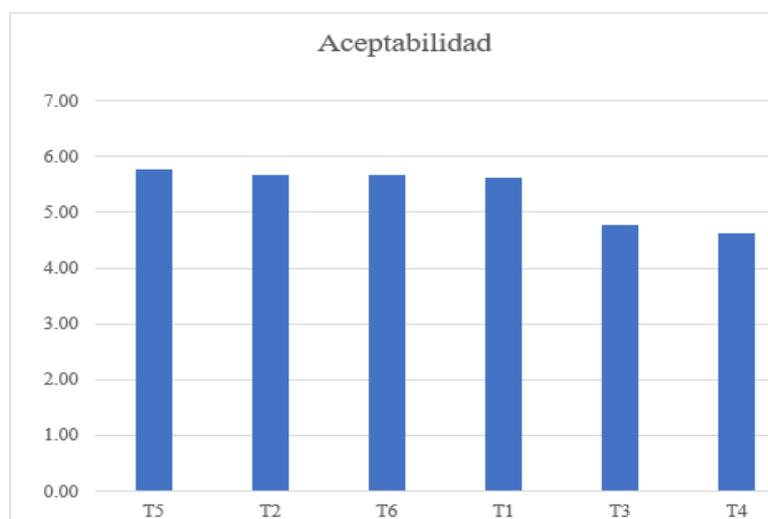


Figura 1. Aceptabilidad del queso semimaduro saborizado ipo andino carchense, primera fase

En la figura 1, se observa que el tratamiento T5 tuvo mayor grado de aceptabilidad y corresponde al queso elaborado con leche obtenida de raza Pizán, cultivo láctico compuesto por *L. delbrueckii* y *L. helveticus*, una temperatura de desuerado de 44 °C y madurado por 28 días, con el que se procede a realizar la segunda fase (saborizado).

3.2. Análisis sensorial segunda fase:

Color:

En la tabla 11 se observa que los resultados del análisis estadístico en cuanto a la aceptación en general se obtuvo un p valor <0,0001 que indica la existencia de una diferencia significativa entre

los tratamientos, para determinar estas diferencias se aplicó el test comparativo de Tukey con 95% de confianza, denotando que los tratamientos T10 y T7 son estadísticamente iguales debido a que los dos tratamientos están saborizados con pesto, la salsa proporciona el color y son los que mejor grado de aceptabilidad en cuanto a la apariencia con una calificación de 6 que equivale a me gusta mucho, mientras que los tratamientos T9 y T8 son estadísticamente iguales debido a que están saborizados con pichacho y la salsa se encarga de otorgar el color obteniendo una calificación de 5 que corresponde a me gusta.

Tratamiento	Medias	N	E.E		P valor
T10	5,79	63	0,16	A	<0,0001
T7	5,46	63	0,16	A	
T9	5,11	63	0,16	B	
T8	4,89	63	0,16	B	

Tabla 11: Test Tukey para el atributo color

Olor:

Tratamiento	Medias	N	E.E		P valor
T8	4,98	63	0,20	A	0,0005
T7	4,90	63	0,20	A B	
T10	4,86	63	0,20	A B	
T9	4,21	63	0,20	B	

Tabla 12: Test Tukey para el atributo olor

En la tabla 12 se observa que los resultados del análisis estadístico en cuanto a la aceptación en general se obtuvo un p valor 0,0005 que indica la existencia de una diferencia significativa entre los tratamientos, para determinar estas diferencias se aplicó el test comparativo de Tukey con 95% de confianza, denotando que los tratamientos T7 y T10 son estadísticamente iguales debido a que los dos tratamientos están saborizados con pesto y la salsa proporciona el olor característico al queso, en cuanto al grado de aceptabilidad tienen una calificación de 5 que significa me gusta, mientras que los tratamientos T8 y T9 son estadísticamente diferentes obteniendo una calificación de 5 y de 4 que corresponde a me gusta y a no me gusta ni me disgusta respectivamente.

Apariencia:

En la tabla 13 se muestra que los resultados del análisis estadístico en cuanto a la

aceptación en general se obtuvo un p valor 0,1931 la cual indica que no existencia de una diferencia significativa entre los tratamientos de acuerdo con la apariencia, debido a que visualmente los 4 tratamientos se parecían, donde el tratamiento T7 es aquel que obtuvo la mejor media.

Textura:

En la tabla 14 se muestra que los resultados del análisis estadístico en cuanto a la aceptación en general se obtuvo un p valor 0,1931 la cual indica que no existencia de una diferencia significativa entre los tratamientos de acuerdo a la textura, debido a que los cultivos lácticos y la calidad de materia prima utilizados en la elaboración se encargan de otorgar la textura, todos los tratamientos obtuvieron una calificación de 5 que equivale a me gusta, donde el tratamiento T7 es el que obtuvo mayor media.

Tratamiento	Medias	N	E.E		P valor
T7	5,35	63	0,18	A	0,1931
T10	5,27	63	0,18	A	
T8	4,98	63	0,18	A	
T9	4,89	63	0,18	A	

Tabla 13: Tukey para el atributo apariencia

Tratamiento	Medias	N	E.E		P valor
T7	5,38	63	0,17	A	0,1931
T8	5,19	63	0,17	A	
T9	5,16	63	0,17	A	
T10	4,98	63	0,17	A	

Tabla 14: Tukey para el atributo textura

Sabor:

En la tabla 15 se observa que los resultados del análisis estadístico en cuanto a la aceptación en general se obtuvo un p valor <0,0001 que indica la existencia de una diferencia significativa entre los tratamientos, para determinar estas diferencias se aplicó el test comparativo de Tukey con 95% de confianza, denotando que todos los tratamientos difieren entre si debido a que se utilizan distintos tipos de salsas y tipos de recubrimiento de cortezas para el proceso de saborizado, en cuanto a la aceptación del público catador el tratamiento con mejor acogida fue el T7 con una calificación de 5 que equivale a me gusta, mientras que el tratamiento con menos acogida fue el T9 obteniendo una calificación de 4 que equivale a no me gusta ni me disgusta.

Aceptación general:

En la tabla 16 se observa que los resultados del análisis estadístico en cuanto a la aceptación en general se obtuvo un p valor <0,0001 que indica la existencia de una diferencia significativa entre los tratamientos, para determinar estas diferencias se aplicó el test comparativo de Tukey con 95% de confianza, donde se observa que los tratamientos T7 y T8 son iguales debido a que tienen la misma corteza de especias deshidratadas y que difieren de los tratamientos T10 y T9, donde el tratamiento con mayor acogida fue el T7 con una calificación de 5 que equivale a me gusta, mientras que el tratamiento con menor acogida fue el T9 con una calificación de 4 lo que equivale a no me gusta ni me disgusta.

Tratamiento	Medias	N	E.E		P valor
T7	5,14	63	0,21	A	<0,0001
T8	4,87	63	0,21	A B	
T10	4,14	63	0,21	B C	
T9	3,83	63	0,21	C	

Tabla 15: Tukey para el atributo sabor

Tratamiento	Medias	N	E.E		P valor
T7	5,37	63	0,17	A	<0,0001
T8	5,24	63	0,17	A	
T10	5,06	63	0,17	A B	
T9	4,42	63	0,17	B	

Tabla 16: Tukey para el atributo aceptación general

Como se observa en la figura 2, el tratamiento con mayor aceptabilidad es el tratamiento T7 que corresponde a un queso elaborado con leche de raza Pizán y cultivo láctico compuesto por

L. delbrueckii y L. helveticus, una temperatura de desuerado de 44°C, saborizado con pesto, madurado por 28 días y con un recubrimiento de especias deshidratadas en la corteza.

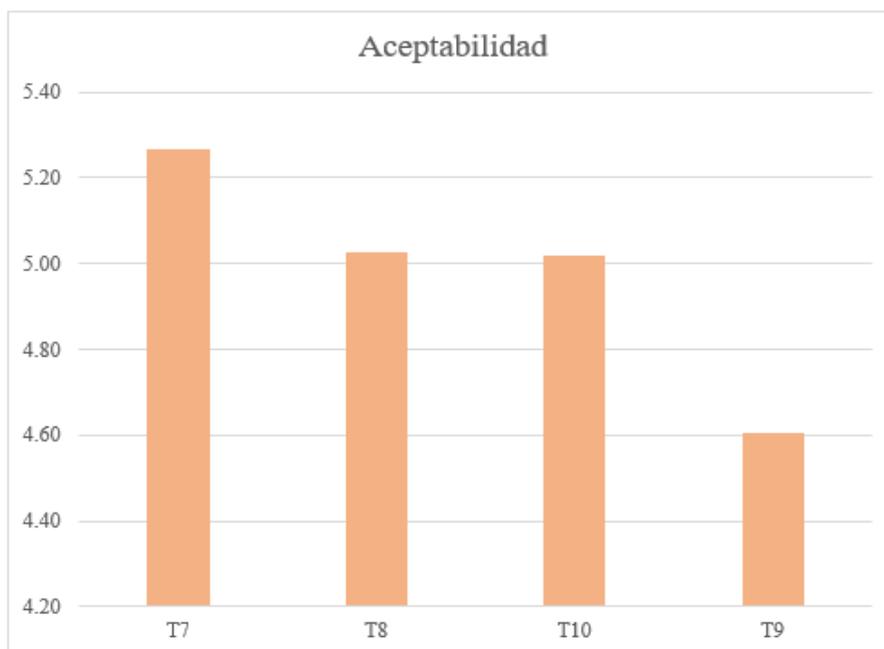


Figura 2. Aceptación del público catador para la segunda fase de un queso semimaduro saborizado de tipo andino carchense

3.3. Caracterización fisicoquímica para un queso semimaduro saborizado de tipo Andino Carchense para los 3 mejores tratamientos.

Luego del análisis sensorial se determinaron los tres mejores tratamien

tos de la segunda fase (saborizado), a los que posteriormente se realizó los análisis que establece la Normativa Técnica Ecuatoriana para quesos madurados de tipo Andino INEN 2607, los cuales se detallan en la tabla 17.

Parámetros	Unidad	Resultado			NTE-INEN 2607	Método de ensayo
		T7	T8	T10		
Humedad	%	52	50	52	> 38%, < 55%	Extracto seco NTE INEN 63
Grasa	%	38	40	38	> 30%, < 40%	Gerber NTE INEN 64
Proteína	%	23,13	23,71	23,18	-	Kjeldahl

Tabla 17: Análisis fisicoquímicos para quesos maduros

Como se aprecia en la tabla 17 la humedad obtenida mediante la prueba de extracto seco de los tres tratamientos oscila entre 50 y 52% resultado que se encuentra dentro el rango establecido en normativa técnica, de acuerdo a la grasa presente en el queso obtenida mediante el método de Gerber se determinó un porcentaje de grasa de entre 38 y 40 %, resultados que se encuentran dentro del rango permitido de la normativa, y de acuerdo a la proteína obtenida mediante el método de Kjendahl se establecieron resultados de 10 a 13%.

3.4. Análisis microbiológico para un queso semimaduro saborizado de tipo Andino Carchense.

Los parámetros evaluados para el análisis microbiológico se encuentran establecidos en la Normativa Técnica Ecuatoriana INEN 2607.

Las muestras evaluadas del queso fueron sembradas en placas petrifilm utilizando los métodos de ensayo PEE. LASA.MB.22 para Enterobacteriaceas y Staphylococcus aureus donde posterior al tiempo de incubación se

pudo denotar la ausencia completa de este tipo de patógenos, por lo tanto, el consumo del queso es inocuo para la salud del consumidor.

3.5. Discusión

La calidad y producción de leche depende de las condiciones genéticas, físicas y ambientales del tipo de ganado lechero, la calidad de grasa y proteína en la leche son inversas a la cantidad, existen varios factores sobre todo genéticos y ambientales que evitan obtener una leche con grandes porcentajes de grasa y proteína lo que influye directamente en la alimentación de la cría y en cuanto a rendimiento de productos lácteos industrializados. En relación con dicha información la calidad de macronutrientes grasa y proteína de leche en las dos razas de vaca investigadas son diferentes, denotando que estas se desarrollan en las mismas condiciones ambientales, su diferencia en la calidad se debe a la genética, obteniendo mayor rendimiento en el queso elaborado con leche de raza Pizán alcanzando un promedio de 57g por litro, mientras que en

Parámetros	Unidades	Resultado	Valores de referencia	Método de ensayo
<i>Enterobacteriaceas</i>	UFC/g	ausencia	2×10^2	PEE.LASA.MB.22
<i>Staphylococcus aureus</i>	UFC/g	ausencia	10^2	PEE.LASA.MB.22

Tabla 18: Caracterización Microbiológica

el queso elaborado con leche de raza Holstein el rendimiento promedio es de 42g por litro.

En lo referente al contenido de grasa de la leche destinada a la elaboración de quesos madurados, esta debe ser relativamente alta, debido a que mejora las características sensoriales y el rendimiento final del queso, de acuerdo a la NTE INEN 2607 para quesos semimaduros Andinos el porcentaje mínimo de grasa es de 3.6%, valor que comparado con los porcentajes obtenidos de 4,62% para la leche de raza Pizán y 3,84% de Holstein, demuestran claramente que la calidad de leche empleada para la elaboración de los quesos es ideal.

En base a lo anterior, se menciona que el contenido de grasa mejora las características sensoriales del producto, lo que al ser comparado con los resultados obtenidos por López & Novoa (2009). en donde mencionan que los tratamientos con mejor sabor, textura, rendimiento y tiempo de almacenamiento fueron aquellos con mayor porcentaje de grasa en la materia prima, esto corrobora los resultados obtenidos en la presente investigación en donde el tratamiento de la primera fase con mejor aceptabilidad en cuanto a sabor, textura y rendimiento fue el T5 que corresponde a el empleo leche de raza Pizán con 4,62% de grasa, cultivo láctico compuesto por *L. delbrueckii*

y *L. helveticus*, temperatura de desuado de 44°C y madurado por 28 días.

De acuerdo con Moreno (2019) una leche que se destina a la elaboración de quesos su pH debe oscilar en un rango de 6,7 a 6 lo que ayuda a la rápida formación de gel, además de su endurecimiento, lo cual concuerda con los valores de pH obtenidos (6,24 para Pizán y 6,41 para Holstein), ya que después de la coagulación hubo una rápida formación de gel y ayudo a su endurecimiento.

El efecto de las salsas en el queso mejora sus cualidades sensoriales (aroma y sabor) y por lo tanto el público catador que no está acostumbrado al consumo de productos lácteos madurados debido a su penetrante aroma y fuerte sabor tiende a otorgar una mayor aceptabilidad a este tipo de quesos, la adición de salsas se la realizó en el proceso de moldeado, estas y los microorganismos en sinergia actuaron generando textura, sabor y olor agradables durante el proceso de maduración. Iza (2017) afirma que la mayor intención de compra por parte de los consumidores fue hacia el queso cheddar con orégano y albahaca por sobre el queso cheddar tradicional, esto se debe claramente a que se utilizaron especies aromáticas las cuales mejoraron el aroma y sabor del queso. Lo que se corrobora en la presente investigación puesto que, el tratamiento que mejor

acogida obtuvo de la segunda fase fue T7 que corresponde a un queso de tipo andino Carchense elaborado con leche Pizán y cultivo láctico compuesto por *L. delbrueckii* y *L. helveticus*, una temperatura de desuerado de 44°C, saborizado con pesto, madurado por 28 días y con un recubrimiento de especies deshidratadas en la corteza. En vista de que la salsa contrarresta el olor y sabor fuerte característico de un queso maduro, asiéndolo más atractivo para los consumidores con poca o casi nula costumbre de consumo de este tipo de productos.

La normativa NTE INEN 2604 (2012) establece que los parámetros fisicoquímicos para un queso semimaduro: en cuanto a humedad no deben sobrepasar el 55%, mientras que para la grasa no se estipula un rango de cumplimiento, los resultados del análisis fisicoquímico de esta investigación fueron: humedad de 51% y 39% de grasa, resultados que se encuentran dentro de lo permitido por dicha normativa.

En cuanto a la caracterización microbiológica del queso, la normativa NTE INEN 2604 (2012). Fija que la presencia máxima de Enterobacteriaceas y *Staphylococcus Aureus* es de 103 UFC/g. La siembra de muestras para los mejores tratamientos denotó ausencia de Enterobacteriaceas y *Staphylococcus Aureus*, por lo tanto, se encuentran dentro de los parámetros establecidos en dicha norma.

4. CONCLUSIONES

- La leche de raza Pizán genéticamente desarrollada en suelo Carchense cumple con los parámetros fisicoquímicos requeridos para la elaboración de quesos madurados de textura semidura, la leche de esta raza es rica

en macronutrientes como grasa y proteína aquellas que otorgan textura, sabor y rendimiento únicas, propias de un queso Andino.

- Los microorganismos inoculados en la leche pasteurizada, sometidos a un proceso de pre-fermentación con condiciones de temperatura y tiempo controladas y las salsas adicionadas en la etapa de moldeado son los causantes de trabajar en sinergia para desarrollar y acentuar las características sensoriales, durante la maduración.
- La adición de salsas en la etapa de moldeado y las especias deshidratadas adheridas a la corteza no tienen influencia en el porcentaje humedad, grasa y proteína finales del queso puesto que todos los valores se encuentran dentro del rango permitido establecido por la normativa NTE INEN 2607 para quesos andinos.
- Como resultado de la primera fase se concluye que los quesos elaborados con leche Pizán fueron preferidos por los catadores por sobre los quesos elaborados con leche proveniente de la raza Holstein, esto se atribuye a su alto contenido de grasa y proteína que junto a las bacterias lácticas inoculadas *L. delbrueckii* y *L. helveticus* y una temperatura de desuerado de 44°C generaron sabores, aromas y textura del producto agradables.
- La adición de salsa pesto durante el moldeo del queso y de especias en su corteza generan sabores fuertes e invasivos que combinan bien con las características sensoriales producidas por acción de microorganismos *L. delbrueckii* y *L. helveticus* estos influyeron directamente

en la aceptabilidad del consumidor, por ende, se acepta la hipótesis alternativa, cabe señalar que en relación con las características fisicoquímicas no existió diferencia estadística entre los tratamientos.

Moreno, A. (2019). Estudio de una línea de elaboración de queso mozzarella ecológico a partir de leche de búfala y de vaca. Tesis de grado publicada, Universidad Politécnica de Madrid. Madrid España.
SENPLADES. (2010). Agenda Zonal para el Buen Vivir. Zona 1. Quito: Imprenta Monsalve Moreno.

7. Referencias bibliográficas

- El comercio. (2019). El sector agropecuario se recupera en Carchi. Recuperado el 8 de junio del 2019 de <https://www.elcomercio.com/actualidad/sector-agropecuario-carchi-leche-comercio.html>
- El telégrafo. (2017). Los controles sanitarios determinan la calidad de los lácteos en Carchi Recuperado el 8 de marzo del 2019 de <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/regional/1/los-controles-sanitarios-determinan-la-calidad-de-los-lacteos-en-carchi>.
- INEN. (2008). Instituto ecuatoriano para la normalización, norma técnica ecuatoriana nte inen 0009 requisitos para leche cruda.
- INEN. (2012). Instituto ecuatoriano para la normalización, norma técnica ecuatoriana nte inen 2604 requisitos para quesos madurados.
- INEN. (2012). Instituto ecuatoriano para la normalización, norma técnica ecuatoriana nte inen 2607 requisitos para queso andino madurado.
- Iza Narváez, M. F. (2017). Desarrollo de un queso semiduro con hierbas aromáticas para la granja experimental UDLA. Tesis de grado publicada, Universidad de las Américas, Quito, Ecuador.
- Paredes, C. (2018). Caracterización sensorial y perfil de textura del queso amasado de la provincia del Carchi. Tesis de maestría publicada, Universidad de las Américas, Quito, Ecuador.
- La Hora. (2016). Carchi produce 20 mil quesos diarios. Recuperado el 18 de mayo del 2019 de <https://lahora.com.ec/noticia/1101987114/carchi-produce-20-mil-quesos-diarios>
- López, N. C., & Novoa, C. F. (2009). Efecto de dos niveles de grasa sobre la vida útil sensorial del queso campesino. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, 56(1), 32-40.

Principios activos de origen biológico para favorecer la inocuidad en frutas y hortalizas.

Sisa Chimborazo, Daniela Quille, Estefanía Sánchez , Carlos Jácome Pilco.

Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Agroindustria. Departamento de Biotecnología. Sector Alpachaca II Km1/2 vía San Simón. CP

Recibido: 11 de marzo de 2021

Aceptado: 6 de junio de 2021

Resumen

En la actualidad ha surgido la necesidad de buscar alternativas de conservación de alimentos, en respuesta a la necesidad de reducir los riesgos de contaminación asociados con la producción y comercialización de las frutas y hortalizas frescas, como mecanismo para generar mayores oportunidades de mercado. En este artículo presentamos información debidamente sistematizada de investigaciones referidas al desarrollo de productos de origen biológico, que se utilizan para la inocuidad de alimentos. El principal objetivo del procesamiento de alimentos es proveer bienestar al ser humano por medio de alimentos seguros, nutricionalmente adecuados y cubrir las expectativas de sabor, aroma y apariencia, por lo cual el uso de principios activos de origen biológico implica el aislamiento, purificación, estabilización e incorporación de dichos compuestos a los alimentos con fines antimicrobianos, sin que afecte negativamente a las características sensoriales, por lo que ya no solo tendremos mayor seguridad, sino mejor calidad de los alimentos. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) es el principal organismo de las Naciones Unidas especializado en los aspectos relacionados con la calidad e inocuidad de los alimentos en todas y cada una de las fases de producción, cosecha, almacenamiento, transporte, elaboración y comercialización de los alimentos, planteando un enfoque de la calidad y la inocuidad de los alimentos basado en la cadena alimentaria, reconociendo de tal manera que todos los que intervienen en la misma comparten la responsabilidad de abastecer de alimentos inocuos, sanos y nutritivos.

Palabras Clave: Inocuidad, Conservación, Seguridad Alimentaria, ETAs, calidad.

Abstract

At present, the need to look for food preservation alternatives has emerged, in response to the need to reduce the risks of contamination associated with the production and marketing of fresh fruits and vegetables, as a mechanism to generate greater market opportunities. In this article we present duly systematized information on research referred to the development of products of biological origin, which are used for food safety. The main objective of food processing is to provide well-being to the human being by means of safe, nutritionally adequate food and to cover the expectations of flavor, aroma and appearance. Therefore, the use of active principles of biological origin implies the isolation, purification, stabilization and incorporation of these compounds to the food with antimicrobial purposes, without affecting negatively the sensory characteristics, so we will not only have more security, but also better quality of the food. The Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) is the main United Nations agency specialized in aspects related to the quality and safety of food in each and every one of the phases of production, harvesting, storage, transport, processing and marketing of food, proposing an approach to food quality and safety based on the food chain, recognizing in such a way that all those involved in the chain share the responsibility of providing safe, healthy and nutritious food.

Keywords: Safety, Conservation, Food Safety, ETAs, quality.

1. INTRODUCCIÓN

En la Industria alimentaria la Higiene es una de las armas fundamentales para asegurar la calidad de los alimentos. La producción de alimentos orgánicos constituye un agronegocio en rápida expansión a nivel mundial enfocado a satisfacer las expectativas de un sector del mercado internacional de alimentos que desea consumir productos con mayor calidad e inocuidad, asegurada o certificada y dispuesto a pagar precios superiores por ello.

La calidad e inocuidad de los alimentos son objeto de preocupación por los consumidores que esperan que sus alimentos sean apetecibles, nutritivos e inocuos. En el caso particular de frutas y hortalizas frescas, producidas por los métodos convencionales, el aumento reciente de reportes sobre Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs), asociadas con el consumo de estos productos, ha despertado inquietudes entre los organismos de salud pública y la población en muchos países del mundo respecto a la inocuidad de los mismos, debido a que se producen en una amplia variedad de condiciones agroecológicas, con la utilización de diversas tecnologías agrícolas, de cosecha, postcosecha y comercialización y que para garantizar su estado fresco no son procesados para eliminar agentes patógenos (Felix; Prades, et al , 2017).

Las frutas y hortalizas representan desde el punto de vista alimenticio, una importante fuente de fibras, vitaminas, minerales y antioxidantes, que complementan la dieta diaria de carbohidratos, proteínas y grasas obtenidas de otros vegetales, tales como los granos y los de origen animal, (Portugal & Rosales, 2017)

El sistema agroalimentario mundial comprende la producción, distribución y consumo de alimentos y materias primas. La evolución histórica de éstos ha dado lugar a repercusiones económicas, políticas y sociales, por lo que los actores sociales dedicados a las actividades agrícolas y pecuarias han tenido que modificar sus funciones. Han comenzado a dar prioridad a los problemas de inocuidad alimentaria, mientras el hambre y la pobreza van en aumento y los flujos migratorios del campo a la ciudad se van acelerando, así como de los países subdesarrollados a los países de primer mundo. (Avendaño-Ruiz, 2019).

2. Seguridad e inocuidad Alimentaria

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) son un problema de salud pública y una causa importante de morbilidad, que ocasiona una carga económica significativa para las naciones, perjuicios para los consumidores y un impacto al comercio internacional de productos alimenticios. (Palomino-Camargo, Gonzales-Muñoz, Perez-Sira, & Aguilar, 2018)

En el Plan Nacional de Seguridad Alimentaria y Nutricional (PN-SAN) 2012-2019, se establece que:

La Seguridad alimentaria y nutricional es la disponibilidad suficiente y estable de alimentos, el acceso y el consumo oportuno y permanente de los mismos en cantidad, calidad e inocuidad por parte de todas las personas, bajo condiciones que permitan su adecuada utilización biológica, para llevar una vida saludable y activa. (Calderon, Arias, et al., 2019)

2.1. ¿Qué es inocuidad?

La inocuidad alimentaria busca garantizar que los alimentos no causen daños a quienes los consumen. El conocimiento científico de los agentes contaminantes y su relación con los alimentos, desde su producción al consumo, permite una gestión, evaluación y comunicación de riesgos basados en principios racionales. (Angulo-Melgarejo, 2020)

La seguridad alimentaria en Ecuador se consideran las cuatro dimensiones propuestas por la FAO para su mayor comprensión (disponibilidad, acceso, utilización y estabilidad), sin dejar de considerar las distintas definiciones de seguridad alimentaria que se dieron en el tiempo en la construcción de la noción, las que, a pesar de que en algún momento fueron cuestionadas por sus limitaciones, es necesario considerarlas porque cada una enfatiza en algún aspecto importante sobre el tema, éstas son: seguridad alimentaria nacional, seguridad alimentaria de la familia, seguridad alimentaria de la persona y seguridad alimentaria de los pueblos, aspectos todos de la misma problemática que deben ser considerados en el análisis y en la posibilidad de formular política pública. (Bermeo, 2016)

3. Principios de conservación de alimentos

La conservación de alimentos consiste en bloquear la acción de los agentes (microorganismos o enzimas) que pueden alterar las características originarias (aspecto, olor y sabor). (Reynes, 2017).

La conservación de los alimentos consiste en bloquear y eliminar microorganismos o enzimas que pueden alterar las características organolépticas de los alimentos como la textura, olor y sabor. Estos agentes pueden ser ajenos a los alimentos o estar en su interior.

3.1. Funciones:

- Retraso de la Actividad Microbiana.
- Retraso de la Auto-Descomposición.
- Prevención de las alteraciones ocasionadas por plagas (Muñoz, 2015)

4. Inocuidad y conservación de alimentos

El mundo está en un constante cambio y durante las últimas décadas este proceso se ha vuelto más complejo. En particular para los sistemas de producción donde la demanda es cada día más grande. La adecuada manipulación de los alimentos, desde que se producen hasta que se consumen, inciden directamente sobre la salud de la población. (Mar, 2018)

(FAO, 1996) Nos dice que existe seguridad alimentaria cuando todas las personas tienen acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a alimentos a fin de llevar una vida sana y activa.

La conservación mediante la aplicación del calor persigue como objetivo la destrucción de microorganismos patógenos y sus esporas, así como la inactivación de los enzimas. (Moreno-Perez, 2020)

4.1. Productos de origen biológico que garanticen la inocuidad de alimentos

Este tipo de alimentos siguen los pasos mínimos de preparación, tratando de cambiar lo menos posible las cualidades de “alimento fresco” en la medida que sea posible, pero al mismo tiempo haciéndolo un alimento seguro y con una vida de

anaquel suficiente para su transporte hasta el consumidor. La inocuidad y sanidad en los alimentos es un requerimiento que implica la ausencia de contaminantes bióticos y abióticos que puedan poner en riesgo la salud del consumidor final. (Flores, 2017).

5. Origen vegetal

Los alimentos de origen vegetal son todos aquellos que crecen directamente de la tierra (frutas, verduras, legumbres y cereales, por ejemplo), mientras que los alimentos de origen animal proceden, como su propio nombre indica, de los animales (por ejemplo, carne, pescado, leche y sus derivados). Incluye compuestos fenólicos provenientes de cortezas, tallos, hojas, flores, ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas producidas en plantas (Verdezoto, 2017)

6. Origen animal

Los productos de origen animal son la carne, el pescado, los huevos y los lácteos. Este grupo nutricional es fuente de potasio, hierro, yodo, calcio y zinc. Además, tienen vitamina D, K, A y del grupo B, que ayudan al metabolismo de las proteínas y en el mantenimiento del sistema nervioso. Incluye proteínas, enzimas líticas tales como lisozima, hidrolasas tales como lipasas y proteasas y polisacáridos como el quitosán. (Jorge, 2016).

7. Origen de microorganismos

Incluye compuestos producidos por microorganismos que intervienen en diferentes fases de la producción del alimento. Son fundamentales para la producción de varios alimentos, como el vino, la cerveza, panificados, productos lácteos, entre otros. En varios de dichos productos los microorganismos realizan su

funcionalidad a lo largo del proceso de producción, para producir suplementos y aditivos (por ej. vitaminas, conservantes, aromatizantes y colorantes naturales), o aditivos para el procesado, como las enzimas. (Cordova, 2018)

8. Inocuidad en frutas y hortalizas

La Inocuidad es la característica que tienen los alimentos que se consumen en fresco (frutas y hortalizas), de no causar daño a la salud de los consumidores por efecto de algún contaminante de tipo físico, químico o microbiológico. Se trata de productos que se consumen, en la mayoría de los casos, crudos. Por definición, son los que suponen un mayor riesgo para la salud de los consumidores, ya que los tratamientos de descontaminación, aunque sean efectivos, no garantizan la inocuidad al 100% donde es que está libre de bacterias y hongos o mohos dañinos, productos químicos y otros materiales que puedan ser dañinos para la salud. Así cuando un alimento es inocuo su consumo es seguro por lo cual es importante proteger la inocuidad y calidad de los alimentos que comemos (Flores, 2017)

9. Características de frutas y hortalizas organolépticas y nutricionales.

Las verduras y las hortalizas poseen dos características importantes: la fibra, que proporciona ventajas nutricionales innegables, y el agua (componente mayoritario de estos alimentos, entre el 80-90% del total). Su valor energético es bajo, debido a que apenas aportan macronutrientes. Exceptuando los feculentos, las verduras y las hortalizas nunca sobrepasan el aporte de hidratos de carbono a más del 10%. Además, tienen contenidos importantes de minerales y de vitaminas, lo que les hace destacar como componentes

fundamentales de la dieta para el correcto funcionamiento de nuestro organismo. (Vilaplana, 2017)

Las vitaminas que debemos destacar son la provitamina A (beta caroteno), la vitamina C y los folatos. Esto es así porque otros vegetales como cereales y legumbres o los productos animales carecen, en general, de ellas. También aportan niacina, vitamina B1 y B2. En cuanto a los minerales, aportan fundamentalmente potasio y también tienen pequeñas cantidades de calcio y hierro, nada despreciables. La vitamina C que también contienen favorece la absorción de este hierro. (Cortez, 2018)

10. Microorganismos patógenos y contaminantes

los microorganismos patógenos presentes en frutas y hortalizas encontramos bacterias como la Salmonella Typhi, Clostridium sp., Escherichia coli. así podemos encontrar en frutas y hortalizas no ácidas como el plátano, manzana madura, lechuga en las más ácidas es difícil que se desarrollen. (Jorge, 2016).

10.1. Bacterias: La célula procariota típica de una Eubacteria posee pared celular, membrana citoplasmática y el citoplasma sin organelas ni divisiones, en el cual el material genético (un solo cromosoma circular) se encuentra suelto en el citoplasma ya que no existe envoltura nuclear, en una región conocida como nucleóide.

10.2. Hongos: son organismos multicelulares que pueden resultar beneficiosos o perjudiciales para los seres humanos. Los hongos se alimentan, bien de materia orgánica en descomposición, o bien viviendo como parásitos sobre un hospedante. (Miranda, 2018).

11. Sustancias de origen biológico que permitan preservar a las frutas y hortalizas

Los sistemas de conservación de los alimentos son aquellos que evitan que las alteraciones antes mencionadas puedan llegar a producirse. Se expondrán de forma sintética los tratamientos más generales: (Dr. & Dra. , 2017)

Frio	Refrigeración Congelamiento
Calor	Escaldado Pasteurización Esterilización
Modificación de la cantidad de agua	Deshidratación Liofilización Concentración
Métodos químicos	Modifican las propiedades sensoriales

Tabla 1. Sustancias de origen biológico que permitan preservar a las frutas y hortalizas

12. Métodos de prueba para la eficacia de los agentes antimicrobianos

Los métodos de pruebas para la prueba de agentes antimicrobianos pueden ser como las pruebas in vitro, pruebas de aplicación método de barrido ya que para obtener resultados confiables es que los microorganismos sean evaluados y desarrollados rápidamente y uniformemente. Las pruebas “in vitro”, incluyen pruebas en las que el agente antimicrobiano se aplica directamente al producto. (R.M., R.S., & O.M., 2006)

12.1. Efectos de mezcla antimicrobiano

La actividad antimicrobiana de hierbas y plantas es generalmente atribuida a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales, y se ha observado que la grasa, proteína, concentración de sal, pH y temperatura afectan la actividad antimicrobiana de estos compuestos.

El uso de antimicrobianos (conservadores) es una práctica común en la industria de los alimentos, por muchos años se han utilizado antimicrobianos sintetizados químicamente (que en algunos casos han causado daño en la salud de los consumidores, si se utilizan a grandes dosis o como en el caso de los sulfitos), el cual se han encontrado nuevos agentes antimicrobianos de origen natural, como sustitutos de los tradicionalmente utilizados debido a la demanda por parte del consumidor de productos frescos mínimamente tratados como son las frutas frescas y frescas cortadas envasadas bajo diferentes atmósferas y refrigeradas, también está aumentando el interés por los antimicrobianos de origen natural que puedan extraerse para ser utilizados con el fin de prolongar la vida útil y la seguridad para el consumidor. (Rodríguez Saucedo, 2011).

Los antimicrobianos o conservadores pueden tener al menos tres tipos de acción sobre el microorganismo; Inhibición de la biosíntesis de los ácidos nucleicos o de la pared celular.

12.2. Daño a la integridad de las membranas.

Interferencia con la gran variedad de procesos metabólicos esenciales. (Rodríguez Saucedo, 2011)

12.3. Uso de isobogramas

Los isobogramas son utilizados para definir si existe actividad aditiva,

antagónica o sinérgica. En un isobograma se grafican el CFI del agente A contra el agente B. La línea recta representa aditivitas entre los antimicrobianos, la mezcla es sinérgica si el isobograma es cóncavo (línea de aditivitas) y es antagónico si es convexo.

13. Futuro de los microbicidas de origen natural

El futuro de los antimicrobianos de origen natural, se encuentra determinado por la actitud del consumidor actual ante los conservadores químicos. Los antimicrobianos de origen natural, se consideran como fuentes potencialmente seguras, pero su uso real en los productos alimenticios, se ha establecido para pocos casos. (P.L.C, 2003)

14. Conclusión

La inocuidad alimentaria describe a la producción de alimentos sanos o limpios desde el punto de vista microbiológico, sin dejar de lado los aspectos de contaminación química y física, debido a que la preocupación por estos aspectos de inocuidad de los alimentos frescos tiene diversos orígenes como las enfermedades transmitidas por los alimentos son generalmente de carácter infeccioso o tóxico y son causadas por bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas que penetran en el organismo a través del agua o los alimentos contaminados, el cual se debe tener en cuenta siempre la inocuidad ya que es un sistema de seguridad de los alimentos en todas las operaciones en las cuales se debe evitar cualquier posibilidad de riesgo de contaminar el producto, tomando medidas anticipadas de control, en procesos que van desde la producción, selección, empaque, comercialización y consumo de los mismos. Sin embargo, la evaluación de la inocuidad de las nuevas

tecnologías utilizadas para la elaboración de alimentos, como la modificación genética y la nanotecnología mejoran la creación de infraestructura adecuada para la gestión de los riesgos relacionados con la calidad, debido a que es importante la seguridad sanitaria y la integración de la inocuidad de los alimentos en las políticas y programas nacionales con arreglo al Reglamento Sanitario Internacional.

5. Referencias bibliográficas

- Angulo-Melgarejo, S. (2020). Diplomado en Inocuidad y Toxicología Alimentaria. Observatoria para innovación agraria, Agroalimentaria y forestal.
- Avendaño-Ruiz, B. D. (2019). EL COSTO DE LA FOOD SAFETY MODERNIZATION ACT EN LA EXPORTACIÓN DE FRUTAS Y HORTALIZAS DE MÉXICO. Sustentabilidad y Gestión Ambiental.
- Bermeo, F. E. (2016). SEGURIDAD ALIMENTARIA. Responsabilidad de los Gobiernos Autónomos.
- Calderon, Arias, et al. (2019). Conditions of food security in an indigenous community of Colombia. Physis: Revista de Saúde Coletiva .
- Cordova, F. (23 de abril de 2018). Obtenido de alimentos por origen de microorganismos : https://www.porquebiotecnologia.com.ar/Cuadernos/El_Cuaderno_53.pdf
- Cortez, M. (17 de enero de 2018). Obtenido de <http://www.fundacion-saborysalud.com/web/portal/imagenes/documentacion/FRUTAS.pdf>
- Dr. , R. G., & Dra. , P. J. (2017). Conservación de los alimentos. UNICEN , 12.
- Felix; Prades, et al . (2017). IMPORTANCIA DE LA CALIDAD Y LA INOCUIDAD EN LA PRODUCCIÓN ORGÁNICA DE FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical, "Alejandro de Humboldt", (INIFAT)
- Flores, M. (13 de enero de 2017). Obtenido de productos biológicos : https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10433:educacion-inocuidad-alimentos-glosario-terminos-inocuidad-de-alimentos&Itemid=41278&lang=es
- Higiene y seguridad alimentaria parte generica . (s.f.). ctic - cita.
- Jorge, F. (17 de marzo de 2016). Obtenido de los productos de origen animal : <https://www.redalyc.org/pdf/461/46116742014.pdf>
- Mar, N. (2018). INOCUIDAD ALIMENTARIA. Prezi.
- Miranda, K. (23 de abril de 2018). Obtenido de <https://www.bbraun.es/es/productos-y-terapias/bbraun-for-safety/contaminacion-microbiologica.html#contaminacion-microbiologica>
- Moreno-Perez, G. (2020). ¿CUÁLES SON LOS MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS? CEUPE.
- Muñoz, J. (2015). PRINCIPIOS DE CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS. Prezi.
- P.L.C, H. (2003). Actividad inhibitoria y letal de los extractos de ajo para E. coli y L. innocua. Obtenido de http://www.catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/hernandez_p_ld/capitulo4.pdf -
- Palomino-Camargo, C., Gonzales-Muñoz, Y., Perez-Sira, E., & Aguilar, V. H. (2018). Metodología Delphi en la gestión de la inocuidad alimentaria y prevención de enfermedades transmitidas por alimentos. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública.
- Portugal, E. C., & Rosales, S. A. (2017). IMPLICATIONS OF SOCIOECONOMIC TYPE THAT HAVE THE IMPLEMENTATION OF FOOD SAFETY PROGRAMS IN THE PRODUCTION SECTOR OF FRUIT AND VEGETABLES IN MEXICO. Programas de sanidad, calidad e inocuidad alimentaria.

- R.M., R., R.S., F., & O.M., B. (2006). Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas frescas y frescas cortadas. Universidad de Leida., 21.
- Reynes, M. (2017). Los principios de la conservación de alimentos. Ferroice.
- Rodríguez Saucedo, E. N. (2011). USO DE AGENTES ANTIMICROBIANOS NATURALES EN LA CONSERVACIÓN DE FRUTAS Y HORTALIZAS. Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo, 19.
- Verdezoto, H. (12 de junio de 2017). Obtenido de productos de origen vegetal : <https://www.lekue.com/es/blog/alimentos-origen-animal-vegetal-alternativas-la-cocina/#:~:text=Los%20alimentos%20de%20origen%20vegetal,%20leche%20y%20sus%20derivados>).
- Vilaplana, M. (12 de mayo de 2017). el-siever . Obtenido de Verduras y hortalizas: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-verduras-hortalizas-13057699>

Tecnologías para el desarrollo de biopolímeros, como una alternativa en la sustitución del plástico (pet)

Technologies for the development of biopolymers, as an alternative in the substitution of plastic (pet)

Josselin Alucho-Pasto , Sonia Ramos-Naranjo , Diego Saltos-Segura

Departamento de Biotecnología, Universidad Estatal de Bolívar-Ecuador, ORCID: 0000-0002-1305-9357.

Autor para correspondencia: jossyfania20@gmail.com- rgraciela329@gmail.com

Recibido: 24 de enero de 2021

Aceptado: 19 de marzo de 2021

Resumen

El uso desmedido del plástico PET (polietilén tereftalato) y su dañino impacto ambiental ha causado una ascendente demanda de alternativas sostenibles, para la producción de bioplásticos, por tal motivo es de carácter fundamental la determinación de materiales que garantice las propiedades físicas requeridas, impulsando la investigación y desarrollo de nuevos productos amigables con el medio ambiente. Los biopolímeros producidos a partir de almidones, son compuestos biodegradables que pueden utilizarse para la elaboración de empaques para productos por las características que presentan, las cuales garantizan la salubridad, la calidad, y la conservación. Lo cual, investigaciones se han realizado para aplicar diferentes tecnologías, para el uso del almidón de papa, yuca, maíz entre otros.

Palabras Clave: Biopolímero, compuestos orgánicos, PET, tecnologías.

Abstract

The excessive use of PET (polyethylene terephthalate) plastic and its harmful environmental impact has caused an increasing demand for sustainable alternatives for the production of bioplastics, for this reason it is essential to determine materials that guarantee the required physical properties, promoting the research and development of new environmentally friendly products. Biopolymers produced from starches are biodegradable compounds that can be used for the production of product packaging due to the characteristics they present, which guarantee health, quality, and conservation. Which, investigations have been carried out to apply different technologies, for the use of potato starch, cassava, corn among others.

Keywords: Biopolymer, organic compounds, PET, technologies.

1. Introducción

Se denomina “contaminación por plástico” al conjunto de materiales que por su volumen no pueden ser reciclados y tardan miles de años en desintegrarse, representan el mayor problema en términos de contaminación ambiental (Barrietos Paras , 2019).

Mientras los plásticos son polímeros que proceden del petróleo, los biopolímeros tienen un origen natural, ya sea agrícola, de síntesis química o de microorganismos (Hernandez & Guzman, 2009). Estos bioplásticos pueden procesarse mediante las mismas tecnologías que los materiales termoplásticos convencionales, tales como extrusión, inyección o soplado (Villada, Acosta, & Velasco, 2007).

El desarrollo de materiales a base de polímeros orgánicos a partir de biomasa que sean biodegradables se han enfocado en el almidón el cual es un material abundante, económicamente competitivo con el petróleo. Entre las principales fuentes de almidón para la industria podemos mencionar: la papa, el trigo, arroz, cebada, avena y soya (Carter & Miller, 2012).

El objetivo de este trabajo es dar a conocer las tecnologías existentes para la obtención de bioplásticos a partir de compuestos orgánicos como el almidón, el cual permite conocer los estudios existentes para el desarrollo de biopolímeros.

2. El Plástico

Los plásticos han logrado establecerse en el día a día de las personas hasta llegar a ser imprescindibles, por ser una tecnología de bajo costo con gran estabilidad química a un enorme espectro de compuestos químicos. Por esta razón, son utilizados

para la conservación en diferentes empaques y envases para el sector alimentario, sector agropecuario, sector salud, sector industrial, etc (Cornejo Reyes, Marinero Orantes, Funes Guadrón, & Toruño, 2020).

Los plásticos sintéticos se caracterizan por su flexibilidad, tenacidad, excelentes propiedades físicas y de barrera y facilidad de fabricación.

Una de sus características es su durabilidad lo cual constituye una desventaja debido a su persistencia en el medio durante muchos años por lo cual se convierten en una amenaza para el planeta (Ortiz , Velasco, Fernandez , Enriquez , & Roa , 2015).

2.1. Contaminación del Plástico

Los plásticos son uno de los contaminantes ambientales que ha puesto en riesgo a las personas, flora y fauna. Los residuos plásticos constituyen uno de los grandes problemas ambientales por sus diferentes impactos negativos a nivel global (Caceres Murga , y otros, 2019).

La problemática de contaminación por plásticos es alarmante. Todo comienza con la producción de plástico donde aproximadamente, tenemos 100 millones de toneladas de plástico cada año a nivel mundial, de las cuales 25 millones de toneladas son productos no aprovechables que se acumulan en el ambiente y solamente el 8% de todos estos residuos plásticos se recuperan para su reciclaje (Barrietos Paras , 2019).

A esta problemática, se suma los otros tipos de plásticos como el PET (botellas), PVC (jeringas), entre otros. También el uso desmedido e inconsciente por parte de la población (Cáceres Murga, y otros, 2019).

2.2. Características de un PET (polietilén tereftalato)

El PET es un polímero conseguido a partir de reacciones de polimerización por condensación, en cada una de las cuales se pierde una molécula de agua. Perteneció al grupo de los copolímeros (macromolécula compuesta por dos o más monómeros) ya que su formación es el resultado de la unión de TA (ácido tereftálico) y etilenglicol. La mayoría de los polímeros están formados a partir de productos de la refinación del petróleo (Río, 2016).

Una de las materias primas utilizadas en la fabricación del PET es el xileno, comúnmente conocido como dimetilbenceno, molécula que posee varios isómeros que se diferencian por sus puntos de ebullición con la finalidad de aislar el paraxileno, que es el isómero empleado en la producción de polímeros (Río, 2016).

3.1 Los Biopolímeros

Los biopolímeros son macromoléculas sintetizadas por procesos biológicos o por vía química a partir de monómeros naturales o idénticos a los naturales. Se obtienen así los denominados plásticos biodegradables, una línea de innovación muy prometedora en materiales para envases, los biopolímeros tienen un origen natural, ya sea agrícola, de síntesis química o de microorganismos. Es así como se ha generado un crecimiento enorme de las industrias dedicadas a la fabricación de envases, embalajes y empaques para alimentos, mediante la utilización de polímeros naturales y polímeros sintéticos biodegradables (Hernández Silva & Guzmán Martínez, 2009).

Los biopolímeros son polímeros producidos por la naturaleza (el almidón y la celulosa) y son asimilables por varias especies (biodegradables) porque no tienen efecto tóxico (biocompatibles),

y a partir de ellos se pueden producir los bioplásticos (Avila, y otros, 2014).

3.1. Obtención de Biopolímeros

Son macromoléculas, que pueden ser obtenidos a partir de fuentes renovables como plantas, microorganismos y animales, o también es posible sintetizarlos a partir de petroquímicos, generando con esto biopolímeros que se pueden biodegradar (Ríos, Álvarez López, Cruz Riaño, & Restrepo Osorio, 2017).

El uso de polímeros a partir de recursos renovables ha generado grandes expectativas en los últimos años, ya que los materiales obtenidos de estas fuentes ofrecen una alternativa para mantener el desarrollo sostenible con tecnologías ecológicamente atractivas (Navia, Villada, & Ayala, 2013). Los materiales biodegradables son aquellos que se descomponen en un periodo de tiempo corto, bajo la acción de microorganismos hasta desaparecer visiblemente (Navia, Villada, & Ayala, 2013).

3.2. Tipos de Biopolímeros

Los polímeros biodegradables se clasifican en dos importantes grupos según su origen: de origen biológico o polímeros naturales y polímeros sintéticos. Los biopolímeros naturales provienen de organismos vivos, que significa que están disponibles en grandes cantidades de recursos renovables. Por otro lado, los polímeros sintéticos se producen a partir de fuentes no renovables como el petróleo, carbón y gas natural. Sin embargo, no hay una línea clara que separe a estos grupos, p. ej., el ácido poliglicólico puede obtenerse de derivados de aceite de materiales que utilizan un proceso sintético o por fermentación mecánicos (Encalada, Aldas, Proaño, & Valle, 2018).

3.4. Polímeros Biodegradables (Almidón)

La celulosa y el almidón tienen más estudiados debido a su potencial percibido para reemplazar los polímeros a base de aceite a gran escala y a bajo costo. El almidón es económico y biodegradable, por lo que tiene un interés creciente como un componente de plástico (Encalada, Aldas, Proaño, & Valle, 2018).

3.5. Almidón

El almidón ha sido ampliamente estudiado debido a su bajo costo y fácil disponibilidad, capacidad de renovación y se pueden emplear en aplicaciones de envasado de alimentos. Tienen muy poca resistencia mecánica y por lo tanto se pueden combinar con una gama de nanorelleno para mejorar la estabilidad térmica, eléctrica y propiedades mecánicas. La resistencia al agua puede ser mejorada mediante la adición de los nanomateriales, las mezclas de almidón y arcilla han sido ampliamente estudiadas por los científicos que alta resistencia exposiciones en aplicaciones de envasado comestibles (Vasquez, Ore, & Salazar, 2020).

4. Compuestos Orgánicos (Almidones) que se pueden utilizar para la obtención de biopolímeros

4.1. Biopolímero a partir de Almidón de papa

La obtención de un biopolímero que sirva como empaque de alimentos a partir de almidón de papa, requiere una preparación que permita controlar las condiciones en cada etapa de su proceso, así como las cantidades apropiadas de los reactivos que aportan características para este nuevo material (Alarcon Cavero & Arroyo Benites, 2016).

Se realizó utilizando almidón sin modificar (almidón natural) sin tratamiento con ácido acético, y almidón modificado, se utilizó la muestra tratada con ácido acético porque es la que alcanzó la mayor cantidad de amilosa. Los reactivos utilizados que permitieron controlar la inocuidad, así como mejorar las propiedades mecánicas, fueron el Chitosan y la goma Xanthan (Alarcon Cavero & Arroyo Benites, 2016).

4.2. Biopolímero a partir de Almidón de yuca

El almidón de cassava (yuca) utilizado se obtuvo a partir de la variedad (Manihot esculenta Crantz), a través del método tradicional de lavado, pelado, rallado, tamizado, decantado, secado y pulverizado. Las películas fueron preparadas mediante síntesis química. Para ello se disolvió el almidón (3,0 g) en 100 ml de agua con pH 9 a 70 °C, luego se adicionó glicerol como plastificante (2,0 g). La solución fue nuevamente calentada a 75 °C con agitación constante por 15 min y, posteriormente, se depositó en recipientes de teflón y secada en un horno a 70 °C por 48 h para obtener una película de biopolímero de almidón. Bajo este mismo procedimiento, se preparó una película de biopolímero de almidón sin plastificante. Para la síntesis de PP y/almidón, se procedió de manera similar a la forma de síntesis de películas de biopolímero de almidón, pero en este caso se adicionó persulfato de amonio (1,0 g) junto con el plastificante. Una vez obtenida la película, se expuso la película de biopolímero a vapores de Py por 30 min. El espesor de las películas se midió con un micrómetro para asegurarse de que en todos los casos se trabajaran con espesores similares (Arrieta & Palencia, 2016).

4.3. Biopolímero a partir de Almidón de arroz

Se pesó el arroz y posteriormente se lavaron los granos 3 veces con agua destilada; entre cada lavado, el agua fue vaciada en vasos de precipitado para luego ser filtrada al vacío. El almidón resultante se secó en un horno a 150° C por 30 minutos, obteniendo 3 g de almidón como producto final; una vez listo, se pesó el almidón, al cual se le agregó agua destilada, vinagre de caña, glicerina y alginato. Después, se dejó hervir la mezcla durante 15 minutos con agitación constante. La mezcla obtenida fue vertida en un refractario y se dejó enfriar a temperatura ambiente por 24 horas. Finalmente, el bioplástico fue cortado en tiras rectangulares y sellado por las esquinas con ayuda de un sellador de bolsas automático (Agulera Moscoso, Albisua Bermudez, Alvarez Moro, & Rodriguez Gopar, 2018).

4.4. Biopolímero a partir de Almidón de maíz

Se colocaron en un recipiente 17 ml de agua destilada junto con 5.72 g del almidón de maíz extraído, mezclando constantemente hasta homogeneizar y cuidando en todo momento que la temperatura no excediera los 70°C. Posteriormente se agregó gota a gota 1.7 ml de glicerina con agitación constante, notando un cambio en la consistencia de la mezcla. Luego se añadieron 3 ml de ácido acético al 3% v/v homogenizando hasta que se dejó de percibir vapor en la mezcla. Finalizado este proceso, se formó la lámina sobre una placa de vidrio, se expuso al sol para su secado y posteriormente se retiró el bioplástico obtenido (Avellan, Diaz, Zambrano Maria, Zamora, & Riera, 2019).

4.5. Biopolímero a partir de Almidón de semillas de mango

Se colocó en un vaso químico almidón de semilla de mango y agua en proporciones de 1:3 (m/v). Se agregó 1 ml vinagre blanco comercial (5% acidez) /g almidón de semilla de mango para promover el rompimiento de cadenas de amilopectina. Se adicionó glicerina (1mL/g almidón) como plastificante. Se agregó una gota de colorante vegetal rojo. Se agitó la mezcla continuamente mientras se calentaba hasta que ocurriera la gelatinización; luego, se colocó la mezcla sobre un vidrio reloj engrasado con aceite vegetal para evitar adherencia de la misma al vidrio. La mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente hasta que secó (Ruiloba, Li, Quintero, & Correa, 2018).

5. Características de los Biopolímeros obtenidos

Los biopolímeros son materiales fabricados a partir de recursos naturales renovables, compuestos por amilosa, disolvente, plastificante y fijador de moléculas, en este caso del almidón, el cual se caracteriza por su degradabilidad e impacto positivo en el medio ambiente, al reintegrar componentes naturales a la tierra, al ser desechado. Esta alternativa de empaque, al ser sometidos a proceso de cocción con secado por horno, cocción con secado natural y fermentación, pueden producir un material de características preservantes, naturales, biodegradables y salubres, que funcionen de manera apropiada (Alarcón Aranguren & Barajas Sepúlveda, 2013).

6. Conclusiones

De acuerdo a toda la información recopilada, con respecto a la obtención de biopolímeros a partir de compuestos orgánicos, existen algunas investigaciones encaminadas a la utilización del almidón, a partir

de esto encontramos una amplia gama que pueden ser destinados a este fin, los cuales son una forma de reemplazo a los plásticos convencionales que causan un fuerte impacto ambiental. Gracias a las características que posee este tipo de materia orgánica a utilizarse, se han desarrollado diferentes biomateriales para empaques de alimentos, para esto, se plantea algunas técnicas para poder producirlos.

Los biopolímeros basados en el almidón, como se producen a partir de recursos de bajos costos y con métodos de producción más sencillos, son más económicos que los de algunos polímeros sintéticos por esta razón, esta línea de trabajo es prometedora.

7. Referencias bibliográficas

- Ruiloba, I., Li, M., Quintero, R., & Correa, J. (2018). Elaboración de bioplástico a partir de almidón de semillas de mango. *RIC*, 29-32.
- Agulera Moscoso, B., Albusua Bermudez, Alvarez Moro, A., & Rodriguez Gopar, A. (2018). Obtención de productos alternativos y eco amigables. *Ciencias e Ingenierías*, 2-4.
- Alarcón Aranguren, L. M., & Barajas Sepúlveda, D. F. (2013). Biopolímeros: una alternativa para la elaboración de empaques agroindustriales. *Revista de Investigaciones*, 37-43.
- Alarcon Cavero, H. A., & Arroyo Benites, E. (2016). EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES QUÍMICAS Y MECÁNICAS. *Scielo*, 318-323.
- Arrieta, A., & Palencia, M. (2016). Estudio Electroquímico de un Biopolímero compuesto PPy/Almidón. *LatinAm. Metal*, 2-10.
- Avellan, A., Diaz, D., Zambrano Maria, Zamora, Y., & Riera, M. A. (2019). Obtención de Bioplástico a partir de almidón de maíz. *Revista Colón Ciencias, Tecnología y Negocios*, 5-11.

- Avila, H., Espilco, M., Medina, A., Reyes, M., Rojas, J., & Villanueva, J. (Diciembre de 2014). Tendencias Tecnológicas en los Biopolímeros y. ELECTRÓNICA – UNMSM, 17(2), 107-111.
- Barrietos Paras, J. (2019). Plástico: El desecho interminable, ¿jamás degradable? ACADEMIA DE CIENCIAS DE MORELOS, 26-27.
- Caceres Murga, G., Cordori Corimayhua, P., Llanos Humire, S., Mamani Rodriguez, N., Sanchez Chavez, F., & Serruto Medina, G. (2019). Plasti – Quito. Revista de Divulgación, 80-82.
- Carter, C., & Miller, H. (30 de Julio de 2012). Corn for Food, Not Fuel. Obtenido de The New York Times: <https://www.nytimes.com/2012/07/31/opinion/corn-for-food-not-fuel.html?searchResultPosition=2>
- Cornejo Reyes, G. V., Marinero Orantes, E. A., Funes Guadrón, C. R., & Toruño, P. J. (2020). Biopolímeros para uso agroindustrial: Alternativa sostenible para la elaboración de una película de almidón termoplástico biodegradable. Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático, 1360-1382.
- Encalada, K., Aldas, M., Proaño, E., & Valle, V. (2018). Una revisión sobre biopolímeros con base en almidón y su biodegradabilidad. Revista Ciencia e Ingeniería, 39(3), 246-258.
- Hernández Silva, M. L., & Guzmán Martínez, B. (2009). BIOLPOLÍMEROS EMPLEADOS EN LA FABRICACIÓN DE ENVASES PARA ALIMENTOS. SCIELO, 107-129.
- Hernandez, M., & Guzman, B. (2009). Biopolímeros empleados en la fabricación de envases para alimentos. Publicaciones e Investigación, 104-129.
- Navia, D. P., Villada, H. S., & Ayala, A. (2013). EVALUACIÓN MECÁNICA DE BIOPLASTICOS SEMIRRÍGIDOS ELABORADOS CO HARINA DE YUCA. SCIELO, 78-84.
- Ortiz, V., Velasco, R., Fernandez, A., Enriquez, M., & Roa, D. (2015). OBTENCIÓN DE UNA PELÍCULA A BASE DE ALMIDÓN HIDROXIPROPILO PRODUCIDA POR EXTRUSIÓN SOPLADO. Biotecnología en el Sector Agropecuario, 13(1), 92-98.
- Río, C. (2016). El polietilén tereftalato (PET) como envase de aguas minerales. Bol Soc Esp Hidrol Med, 182-190.
- Ríos, Á., Álvarez López, C., Cruz Riaño, L. J., & Restrepo Osorio, A. (2017). Revisión: fibroína de seda y sus potenciales aplicaciones en empaques biodegradables para alimentos. SCIELO, 9-15.
- Vasquez, A., Ore, H., & Salazar, C. (2020). Evaluación de parámetros óptimos para mejorar la resistencia de biopolímero producido. Revista Pakamuros, 8(1), 26-33.
- Villada, H., Acosta, H., & Velasco, R. (2007). Biopolímeros Naturales usados en empaques biodegradables. Temas Agrarios, 5-13.

ALIMENTOS, CIENCIA E INGENIERÍA

Revista de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato Ambato (Ecuador).

GUÍA PARA AUTORES

Tipos de publicaciones

Los trabajos considerados para publicación en la revista podrán pertenecer a las siguientes categorías:

Artículos de investigación, que presenten resultados de trabajos originales de investigación científica o técnica, de **5000 palabras** de extensión máxima (aproximadamente 14 hojas escritas a doble espacio, Times New Roman 12 puntos).

Artículos de revisión, enfocados a la actualización del estado de la técnica o el conocimiento en un campo científico particular, en base la revisión de trabajos publicados o no, **10000 palabras** de extensión máxima (aproximadamente 28 hojas).

Notas de investigación, que presenten resultados preliminares provenientes de investigaciones originales que, por su carácter y alcance, requieren de una rápida difusión, no teniendo una extensión mayor a 2500 palabras de extensión máxima (aproximadamente 7 hojas).

Cartas al Director, en las que se manifiesten críticas, análisis y/o interpretaciones sobre trabajos publicados en la revista que, a juicio del Comité Editorial, complementen

y enriquezcan la discusión sobre las temáticas abordadas, de **750 palabras** de extensión máxima (aproximadamente 2 hojas).

Principios generales

Las contribuciones a la presente publicación son responsabilidad exclusiva de los autores, no comprometiéndolos a la Universidad Técnica de Ambato en general ni a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología en particular.

Mediante el envío de sus trabajos originales a la revista, los autores asumen implícitamente una posición ética respecto a la autoría de los trabajos por la cual cada uno de ellos acepta la publicación del trabajo, siendo incluido como autor por haber tenido una relación directa con la elaboración del trabajo, sea esta de planificación, diseño, ejecución, análisis de datos, redacción, revisión o edición del manuscrito. No se considera éticamente aceptable la inclusión de autores con vinculación indirecta, (p. ej.: haber financiado o auspiciado el trabajo de investigación) o vinculación nula (p. ej.: ser parte del mismo grupo de investigación, pero sin relación con el trabajo concernido).

Los trabajos deberán ser originales e inéditos, no haberse enviado previa o simultáneamente a otra publicación, sea en formato papel o electrónica, y cumplir con todas las especificaciones de estilo descritas en el documento Guía para Autores para que sean aceptados. Todas las referencias a trabajos ajenos, han de ser convenientemente expresadas de

forma implícita o explícita, reduciendo al mínimo las citas textuales. Se considerará autoplagio la copia textual o duplicación de material de trabajos previos de los autores sin una indicación clara del origen del mismo.

El Comité Editorial se reserva el derecho de rechazar todo artículo que no esté conforme a las prescripciones mencionadas.

Proceso Editorial

A la recepción de los trabajos originales, el Editor valorará la pertinencia de la temática, el interés del trabajo, su originalidad mediante examen con el software Urkund (<http://www.arkund.com/en>) y el cumplimiento de la adecuación del formato a la Guía para Autores vigente. Tras esta verificación previa, los trabajos se enviarán de forma anónima a dos revisores elegidos por el Editor.

En el plazo máximo de 30 días naturales, se determinará la aceptación o no de los trabajos remitidos para su ingreso en el proceso de revisión. En caso positivo, se remitirá a los autores las correcciones que los revisores hayan estimado conveniente llevar a cabo. Los autores dispondrán de un nuevo plazo de 30 días para llevar a cabo las correcciones y remitir de nuevo su trabajo a la revista, explicitando todas las modificaciones llevadas a cambio en relación al documento enviado en primera instancia a la revista.

Si el resultado de la corrección es a satisfacción del Editor, será aceptado para su inmediata publicación en la revista. En caso negativo, se continuará

el proceso de revisión, pudiendo los autores renunciar a él en cualquier momento. A este respecto, una solicitud de publicación decaerá si, tras la demanda de la revista de llevar a cabo correcciones en un artículo, no se recibe respuesta por parte de los autores en un periodo de tiempo de 6 meses, momento a partir del cual, se deberá iniciar un nuevo proceso editorial.

La revista garantiza la completa confidencialidad de cualquier documento recibido durante el proceso de edición de los trabajos y el reconocimiento de la propiedad intelectual de los autores sobre mismos.

Se permite la reproducción total o parcial de los artículos publicados en la revista, previa autorización por escrito del Editor de la misma así como de los Autores de los artículos.

Las citas o menciones en otras publicaciones se harán de acuerdo a los siguientes ejemplos:

Cita directa o explícita: (Llerena et al., 2014)

Cita indirecta o implícita: Llerena et al. (2014)

Referencia bibliográfica (estilo APA 6ª Ed.):

Llerena, W., Samaniego, I., Ramos, M., y Brito, B. (2014). Caracterización físico-química y funcional de seis frutas tropicales y andinas ecuatorianas. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 22(2), 13-22.

Formato

El artículo deberá ser remitido en formato electrónico, por correo electrónico o correo postal adjuntando CD-ROM o medio de almacenamiento digital análogo, editable mediante software de procesamiento de texto, preferentemente Microsoft Word o similar, con la siguiente configuración de página:

- Formato A4.
- Márgenes laterales de 3,0 cm y superior e inferior de 2,5 cm.
- Tipografía Times New Roman de 12 puntos en el cuerpo de texto principal.
- Una sola columna, escrita a doble espacio
- Líneas numeradas de forma continua.

En el correo electrónico o CD-ROM deberán entregarse las tablas y figuras incluidas en cada artículo en sus formatos nativos originales (Excel, PowerPoint, etc.), de manera que puedan ser editadas durante el proceso de maquetación, debiendo estar numeradas de la misma forma en que aparecen en el artículo.

Contenido de los artículos de investigación

• Primera página

1. Título

Se escribirá en castellano, tamaño Times New Roman 14, centrado, en letras mayúsculas, tendrá menos de 16 palabras. Se proporcionará debajo, en el mismo formato, la traducción al idioma inglés.

2. Autores

Para cada autor se incluirá el primer y, en su caso, segundo nombre de pila, el primer apellido, la dirección institucional, mediante un superíndice en números arábigos, y el correo electrónico de contacto del autor de correspondencia, que se significará mediante un asterisco (*).

3. Resumen/Abstract

El resumen se hará en castellano, no excediendo de 300 palabras. Se escribirá en un sólo párrafo a espacio simple, en el que se incluirá una breve introducción, el objetivo de la investigación, los métodos utilizados y los principales resultados y conclusiones. No se incluirán aquí subdivisiones ni citas bibliográficas. El resumen se traducirá al idioma inglés y se colocará en párrafo aparte del mismo teniendo la palabra Abstract como encabezado.

4. Palabras clave/Keywords

Se proporcionarán, a continuación del Resumen, **entre tres y cinco palabras clave** en castellano **no incluidas en el título**, lo más descriptivas posibles del trabajo efectuado, de forma que faciliten la búsqueda del artículo a través de los sistemas de indexación y búsqueda bibliográfica. De igual manera, tras el Abstract, se proporcionarán las mismas palabras clave (Keywords), escritas en idioma inglés.

• Estructura del trabajo

El trabajo se escribirá en texto a columna simple, tamaño Times New Roman 12, justificado. Las secciones se subdividirán, en caso necesario, mediante esquema numerado (1.1, 1.1.1, 1.1.1.1; 1.2, etc.), debiendo las siguientes **secciones**:

Resumen (ya descrito en la descripción de la **Primera página**)

1. Introducción, en la que se justificará la motivación que ha llevado a los autores a emprender la investigación y los objetivos perseguidos. Aportará una adecuada base de conocimiento sobre el tema estudiado, evitando extenderse en la descripción de las referencias y la discusión sobre las mismas.
2. Material y métodos utilizados en la investigación, describiendo todo de forma tal que el lector pueda ser capaz de entender completamente o replicar las condiciones experimentales bajo las cuales han trabajado los autores. A este respecto, es necesario mencionar marca y modelo de los principales equipos utilizados y referenciar de forma precisa las técnicas analíticas empleadas, de preferencia, optando por normas estandarizadas y reconocidas en el ámbito internacional, salvo cuando los métodos hayan sido publicados con anterioridad, en cuyo caso, se mencionarán como referencia, describiendo únicamente las modificaciones sustanciales.
3. Resultados y discusión de los mismos, aportando las tablas, figuras, gráficos y diagramas que sean necesarias. Los resultados serán claros y concisos. Todo aporte de información original por parte de los autores deberá ser contrastado, en la medida de lo posible, con referencias a otros autores, explicando el significado que la nueva información supone dentro del contexto científicotécnico en el que se sitúa el artículo. La mera descripción numérica o textual de los resultados, dejada a libre interpretación del lector, no será considerada aceptable por el Comité Editorial en ningún caso.
4. Conclusiones, en las que se resuman los principales resultados obtenidos en la investigación. Esta sección, podrá tener entidad propia o integrarse dentro de la sección precedente.

Agradecimientos, sección opcional de la que se servirán los autores para el reconocimiento a aquellas personas u organismos que proveyeron de ayuda durante la elaboración del trabajo, bien aportando fuentes de financiación, material experimental, corrigiendo el manuscrito o aportando su opinión crítica.

Se pide a los autores describir adecuadamente el diseño experimental elegido, las herramientas matemáticas y estadísticas utilizadas y el empleo de unidades de medida y notación del Sistema Internacional, así como adherirse a las normas internacionales de nomenclatura binomial de plantas y animales y hacer uso de abreviaturas previamente explicadas en el texto.

Referencias bibliográficas, en las que se incluirán las fuentes de información utilizadas por los autores en la introducción, material y métodos y discusión de los resultados. Todas las citas utilizadas en el texto han de estar presentes en las referencias y cada referencia, ha de estar citada en el texto. El formato utilizado para la inclusión de las citas y referencias bibliográficas será APA 6ª edición (<http://www>.

apastyle.org). A este respecto, se recomienda a los autores la utilización de software de gestión bibliográfica (Endnote, Refworks, Mendeley, etc.) para evitar errores de formato y facilitar el flujo de trabajo al Comité Editorial. En cualquier caso, las referencias han de estar completas, de forma que el lector pueda localizar sin dificultad la fuente de información utilizada por los autores. Se recomienda la inclusión del identificador digital de objeto (DOI) de los artículos, cuando esté disponible (<http://www.doi.org/>).

- **Inserción de elementos no textuales en el trabajo**

1. **Tablas:** se proporcionarán aparte del texto principal y numerarán en Times New Roman 10, en la parte superior, de forma correlativa (Tabla 1, Tabla 2, etc.) según se vayan citando en el texto. Cada tabla deberá venir acompañada, a continuación de su numeración, de un título adecuadamente informativo, aportando las condiciones experimentales si es necesario, de forma que el lector no tenga la necesidad de referirse al texto para entender el contenido de la tabla (**autoexplicativa**). Los autores podrán utilizar notas al pie de las tablas para aclarar cualquier información o abreviatura utilizada, empleando para ello superíndices. Los autores deberán asegurarse de que la información ofrecida por las tablas no duplica la ofrecida por las figuras y viceversa. Al aportar información analítica, los autores deberán especificar los valores promedio y estadísticos de variabilidad de los datos (desviación típica, error estándar, coeficiente de varia-

ción, etc.), además del número de réplicas llevadas a cabo en cada determinación. Las probabilidades se indicarán mediante la siguiente convención: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ y *** $P < 0,001$. El texto dentro de las tablas será Times New Roman 10. Se recomienda emplear las herramientas de formato propias del procesador de textos Microsoft Word para crear las tablas. La inserción de tablas en formato gráfico (JPEG, TIFF etc.) está fuertemente desaconsejada, por no permitir la correcta edición de las mismas en la versión final de la revista.

2. **Figuras:** se proporcionarán aparte del texto principal y numerarán, en Times New Roman 10, en la parte inferior, fuera de la propia figura, de forma correlativa (Figura 1, Figura 2, etc.) según se vayan citando en el texto. Cada figura deberá venir acompañada, a continuación de su numeración, de un título adecuadamente informativo, de forma que el lector no tenga la necesidad de referirse al texto para entender el contenido de la figura (autoexplicativa). Las figuras han de ser presentadas en formatos gráficos de adecuada calidad, como JPEG (con compresión no superior al 80%) o TIFF. Los formatos optimizados para presentación en pantalla (GIF, BMP, PICT, etc.) no ofrecen suficiente calidad para la impresión en formato papel, por lo que ha de evitarse su uso. Se recomienda, para elementos a color, una resolución mínima de 300 ppp (píxeles por pulgada), para medios tonos o escala de grises, una resolución mínima de 500 ppp y para elementos bitmap (blanco/negro) una resolución mínima de 1000 ppp. La revista se publica en formato digital.

a color pero, dado que la versión impresa de la revista se edita en blanco y negro, se recomienda a los autores elaborar las figuras de forma que sigan siendo comprensibles en la gama de tonalidades de escala de grises, maximizando el contraste de los elementos gráficos, empleando símbolos claramente diferenciados, etc.

3. Ecuaciones: se intercalarán en el texto principal a medida que sea necesario, numerándose de forma correlativa mediante la notación Ecuación 1, Ecuación 2, etc. Para su incorporación al texto, se aconseja el uso del editor de ecuaciones del procesador de textos Microsoft Word o análogo (MathType, LaTeX, etc.). Todos los términos de cada ecuación deberán ser explicados convenientemente, incluyendo las unidades de cada término.

Contenido de trabajos diferentes a los artículos de investigación

Para las revisiones, notas de investigación y cartas al Editor, el formato de estos trabajos será similar al de los artículos de investigación en cuanto al tipo y tamaño de letra en el cuerpo principal (Times New Roman 12) y las figuras y tablas (Times New Roman 10). La estructura de las notas de investigación será análoga a la de los artículos de investigación, salvo en su extensión. Las revisiones incluirán resumen y palabras clave, pero no material y métodos ni resultados y discusión, aunque sí pueden incluir una sección de conclusiones, además de las referencias bibliográficas. Las cartas al Editor, podrán tener estructura libre.

