



UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Dirección de
Investigación y Posgrado

VOLUMEN XX (2026): ENERO-DICIEMBRE | PUBLICACIÓN CONTINUA



TECNOCIENCIA CHIHUAHUA

Revista de ciencia y tecnología

ROAD

DORA

PROCESO DE CALIFICACIÓN

LOCKSS

doi

Crossref

MIAR



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

DOAJ

LatinREV

latindex
catálogo 2.0

PERIÓDICA



TECNOCIENCIA CHIHUAHUA

Revista de ciencia y tecnología



2683-3360

TECNOCIENCIA CHIHUAHUA (Vol. 20, enero-diciembre de 2026). Es una publicación anual continua, editada por la Dirección de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma de Chihuahua. (C. Escorza núm. 900, Col. Centro, Chihuahua, Chihuahua, México. C.P. 31000) <https://revistascientificas.uach.mx/index.php/tecnociencia>; tecnociencia.chihuahua@uach.mx Teléfono: (614) 4 39 18 22, ext. 2222. Editor responsable: Armando Quintero Ramos. Reservas de Derechos al Uso Exclusivo: 04-2018-070312595700-203. ISSN 1870-6606, ISSN-e: 2683-3360 otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número: Dirección de Investigación y Posgrado.



UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Dirección de
Investigación y Posgrado

•

Vol. XX Enero-Diciembre, 2026



UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Dirección de
Investigación y Posgrado



<https://doi.org/10.54167/tch.v19i1>

Todos los contenidos de TECNOCENCIA CHIHUAHUA se publican bajo la licencia de [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/), y pueden ser usados gratuitamente para fines no comerciales, dando los créditos a los autores y a la revista, como lo establece esta licencia.



UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Dirección de
Investigación y Posgrado

•

Vol. XX Enero-Diciembre, 2026



UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Autoridades Institucionales

Mtro. Luis Alfonso Rivera Campos

Rector

**C.P. Jesús Ignacio
Rodríguez Bejarano**

Secretario General

**Lic. Martha Lorena Mier
Calderón**

Directora Académica

**Dr. Luis Carlos Hinojos
Gallardo**

*Director de Investigación y
Posgrado*

**L.A.E. Alberto Eloy
Espino Dickens**

Director Administrativo

**Dra. Ruth del Carmen
Grajeda González**

*Directora de Extensión y
Difusión Cultural*

**Dra. Myriam Victoria
Hernández Acosta**

*Directora de Planeación y
Desarrollo Institucional*



TECNOCIENCIA CHIHUAHUA
Revista de ciencia y tecnología

Equipo Editorial

Editor responsable

Dr. Armando Quintero Ramos, Universidad Autónoma de Chihuahua, México. (SNII III)

Asistente editorial

M.E.S. Nancy Karina Venegas Hernández, Universidad Autónoma de Chihuahua, México.

Editores Asociados

Dr. Rubén Francisco González Laredo, Instituto Tecnológico de Durango, Durango, México. (SNII, Nivel III)

Dra. Luz Araceli Ochoa Martínez, Instituto Tecnológico de Durango, Durango, México. (SNII, Nivel II)

Dr. Gerardo Méndez Zamora, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, México. (SNII, Nivel I)



UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Dirección de
Investigación y Posgrado

•

Vol. XX Enero-Diciembre, 2026

Comité Científico

Alimentos y biotecnología

Dr. Benjamín Ramírez Wong, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, México. (SNII, Nivel III).

Dr. José Alberto Gallegos Infante, Instituto Tecnológico de Durango, Durango, México. (SNII, Nivel III)

Dr. José Rafael Minjares-Fuentes, Universidad Juárez del Estado de Durango, Gómez Palacio, Durango, México. (SNII, Nivel I)

Dra. María Marcela Rodríguez, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Olavarría, Argentina.

Dra. Valeria Soledad Eim Iznardo, Universidad de las Islas Baleares, Islas Baleares, España.

Dra. Elizabeth Carvajal Millán, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora, México. (SNII, Nivel III).

Dr. Fernando Martínez Bustos, CINVESTAV, Unidad Querétaro, Querétaro, México. (SNII, Nivel III)

Dra. Deborah Murowaniecki Otero, Universidade Federal da Bahia. Salvador, Bahía, Brasil.

Dr. René Renato Balandrán Quintana, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (SNII, Nivel I)

Dra. Rosa Isela Ortiz Basurto, Instituto Tecnológico de Tepic (SNII, Nivel II)

Dra. Mariela Menchaca Armenta, Universidad de Sonora (SNII, candidato)

Agricultura y Agropecuaria

Dr. Guillermo Fuentes Dávila, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México.

Dr. Víctor Arturo González Hernández, Colegio de Posgraduados. Estado de México, México (SNII, Nivel III)

Dra. Yolanda Salinas Moreno, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Departamento de Genética, México. (SNII, Nivel III)

Química y Recursos Naturales

Nadezhda Traycheva Petkova, PhD., University of Food Technologies, Technological Faculty, Department of Organic Chemistry and Inorganic Chemistry, Bulgaria.

Dra. Carmen Oralía Melendez Pizarro, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNII, Nivel II)

Dr. David Morales Morales, Universidad Nacional Autónoma de México (SNII, Nivel III).

Prasenjit Ghosh, Ph.D., Indian Institute of Technology Bombay: Mumbai, Maharashtra, IN

Dr. Johan Mendoza Chacón, Universidad Autónoma de Chihuahua (SNII, Nivel I)

Salud y Cultura Física

Dr. Julián Esparza Romero, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C (CIAD). Unidad Hermosillo, Sonora. México (SNII, Nivel II)

Dra. Jazmín Leticia Tobías Espinoza, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNII, Candidato a Investigador)

Dra. Silvia Giono Cerezo, Instituto Politécnico Nacional. (SNII, Nivel II)

Dra. Susana Aideé González Chávez, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNII, Nivel II)

Dra. Mercedes Bermúdez Cortés, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNII, Nivel I)

Ingeniería

Dr. Francisco Paraguay Delgado, Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV) Chihuahua, México. (SNII, Nivel III)

Dr. Vladimir Villarreal Contreras, Universidad Tecnológica de Panamá. Panamá

Dr. Humberto González Rodríguez, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León. (SNII, Nivel II)

Dra. Melida Gutierrez, Missouri State University, Springfield, MO, USA.

Dr. Sergio Valle Cervantes, Instituto Tecnológico de Durango (SNII, Nivel I)

Tecnología

M.C. Ricardo Talamás Abbud, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, México



Definición de la revista

TECNOCENCIA CHIHUAHUA, es una revista multidisciplinaria, de publicación anual continua, que publica artículos y notas científicas, así como artículos de revisión originales e inéditos, en español e inglés, en formato electrónico de acceso abierto diamante.

El objetivo de *TECNOCENCIA CHIHUAHUA* es divulgar los resultados y avances de investigación originales e inéditas en las áreas temáticas de Alimentos, Biológica, Salud, Agropecuaria, Cultura Física, Ingeniería y Tecnología, Química y Recursos Naturales, dirigidos a investigadores, académicos, estudiantes y público con interés científico.

El contenido científico y calidad de los artículos son evaluados a través de un proceso de arbitraje de forma anónima en la modalidad de doble ciego por al menos tres árbitros especializados en la materia.

La revista *TECNOCENCIA CHIHUAHUA* es editada y financiada por la Dirección de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma de Chihuahua, México. La revista está adherida a la Declaración de San Francisco a través de DORA (Declaration on Research Assessment) se encuentra indexada en portales especializados como DOAJ (Directory of Open Access Journals), ROAD (Directory of Open Access Scholarly Resources), MIAR (Matriz de Información para el Análisis de Revistas), Latindex 2.0 (38 puntos de 38), Periódica, LatinREV y en Redes Académicas como Biblat, Google Académico y Academia. La revista cuenta con el DOI (Digital Object Identifier) a través de la organización internacional Crossref.



Contenido

Alimentos

- Development of a supplement containing cocoa, mesquite, agavins, pea protein, vitamins and minerals: effects on bone density and body composition** e2089

Desarrollo de suplemento con cocoa, mezquite, agavinas, proteína de chícharo, vitaminas y minerales: efectos en densidad ósea y composición corporal

Karen Marlenne Herrera-Rocha*, Nuria Elizabeth Rocha-Guzmán, Martha Rocío Moreno-Jiménez, José Alberto Gallegos-Infante, Silvia Marina González-Herrera, Daniela de Jesús-Sánchez, Julieta Nataly Durán-González

- Caracterización fisicoquímica y nutraceutica de galletas enriquecidas con amaranto germinado-extrudido** e2171

Physicochemical and nutraceutical characterization of enriched cookies with germinated-extruded amaranth

Evelia María Milán-Noris, Perla Guadalupe Araujo-Tellez, Jorge Milán-Carrillo, Alvaro Montoya-Rodríguez, Ada Keila Milán-Noris

- Use of Supercritical fluid extraction (SFE) as a Sustainable Strategy for Polyphenol Recovery from Salvilla (Buddleja scordioides Kunth)** e2172

Uso de la extracción por fluidos supercríticos (SFE) como estrategia sustentable en la recuperación de polifenoles de Salvilla (Buddleja scordioides Kunth)

Maritza G. Castro-Quintero, Sayra N. Serrano-Sandoval, Ada Keila Milán-Noris, Julio Montes-Ávila, Daniela Guardado-Félix*

- Application of Chickpea Glutelin Hydrolysates in the Green Synthesis of Selenium Nanoparticles** e2175

Aplicación de hidrolizados de glutelina de garbanzo en la síntesis verde de nanopartículas de selenio

Elizabeth Macías-Cortés*, Rubén Francisco González-Laredo, José Alberto Gallegos-Infante, Nuria Elizabeth Rocha-Guzmán, Mercedes Georgina Ramírez-Aragón, Reyna Margarita Hernández-Ramos, Jesús Alejandro Valdés-Nieblas, Gustavo Adolfo Castillo-Herrera

- Extracción de prebióticos mediante el procesamiento hidrotérmico de residuos agroindustriales** e2211

Extraction of prebiotics through hydrothermal processing of agro-industrial waste

Jorge R. Carrales-Briones, Rosa M. Rodríguez-Jasso, Héctor A. Ruiz*



Especies valiosas de la biodiversidad agrícola de México: una revisión sobre los quelites

e2234

Valuable species of Mexico's agricultural biodiversity: a review of quelites

Luz Araceli Ochoa-Martínez, Silvia Marina González-Herrera, Olga Miriam Rutiaga-Quiñones, Sandra Vega-Maturino, Azucena Rodríguez-Mena*

Biology

Bioactive compound production via solid-state fermentation: emerging opportunities

e2152

Producción de compuestos bioactivos mediante fermentación en estado sólido: oportunidades emergentes

Luisa Marcela Valdés-Velasco, Quentin Carboué, Ernesto Favela-Torres, Sergio Huerta-Ochoa, Itza Nallely Cordero-Soto*

Factores importantes para la expresión de proteínas recombinantes en Escherichia coli: una revisión

e2160

Important factors involved in the expression of recombinant proteins in Escherichia coli: a review

Diana Lizzet Murrieta-León, Angel Ramos-Ligonio, Aracely López-Monteon*

Health

Prevalencia de alteraciones musculoesqueléticas y su asociación con riesgo ergonómico en personal administrativo: un estudio transversal

e2046

Prevalence of musculoskeletal disorders and their association with ergonomic risk in administrative staff: A cross-sectional study

Jesús Daniel Estupiñán Vargas, Blanca G. Beltrán Piña*, Alfonso Ramiro Sánchez López, Jorge Octavio Acosta Montes, Adriana Chávez Calderón

Agriculture

Análisis de la recuperación de excedentes agrícolas en Antioquia, Colombia 2018–2024

e2136

Analysis of the Recovery of Agricultural Surpluses in Antioquia, Colombia, 2018–2024

Santiago Gómez-Velásquez, María Alejandra Agudelo-Martínez*, María Julieta Avendaño-López, Angiee Julieth Santamaría-García, Nathalia Varela-García

Engineering & Technology

Diseño y evaluación de Lab-on-a-Chip de conductividad eléctrica para la detección de aceite automotriz en agua destilada

e2241

Valorization of fuel pellets using sawdust from 23 Mexican species

Carlos Eduardo Cañedo-Figueroa*, Humberto Alexander Enríquez-López, Sandra Guadalupe Chavarría-Hidalgo, Luis Arturo Camacho-Silvas, Janette Guadalupe Moreno-González

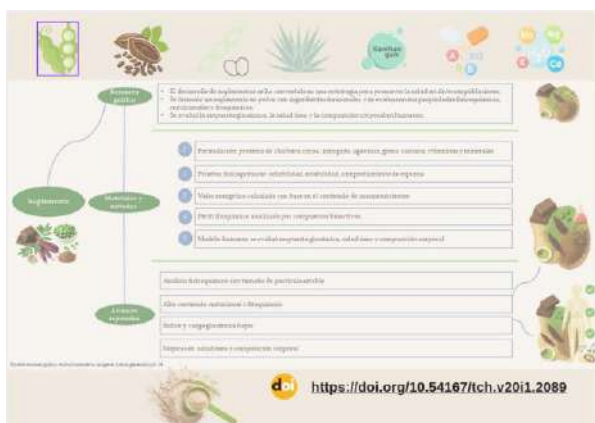


UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Dirección de
Investigación y Posgrado

•

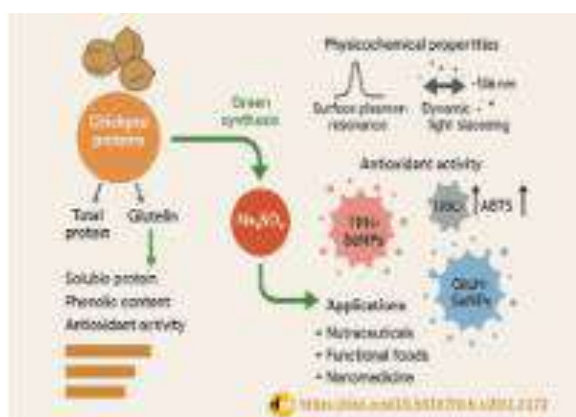
Vol. XX Enero-Diciembre, 2026



TECNOCIENCIA CHIHUAHUA

Revista de ciencia y tecnología

2683-3360

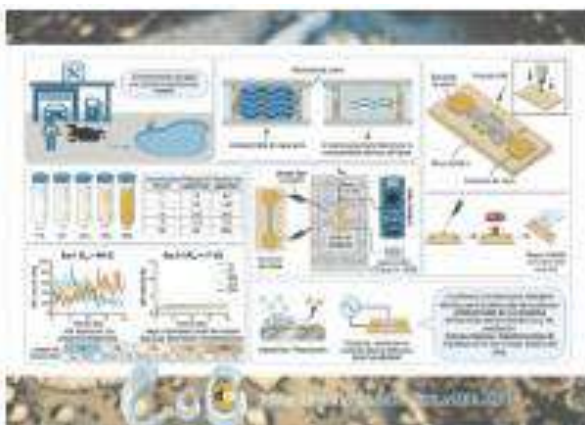


UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Dirección de
Investigación y Posgrado

•

Vol. XX Enero-Diciembre, 2026

 2683-3360

Development of a supplement containing cocoa, mesquite, agavins, pea protein, vitamins and minerals: effects on bone density and body composition

Desarrollo de suplemento con cocoa, mezquite, agavinas, proteína de chícharo, vitaminas y minerales: efectos en densidad ósea y composición corporal

Karen Marlenne Herrera-Rocha^{1*}, Nuria Elizabeth Rocha-Guzmán¹, Martha Rocío Moreno-Jiménez¹, José Alberto Gallegos-Infante¹, Silvia Marina González-Herrera¹, Daniela de Jesús-Sánchez¹, Julieta Nataly Durán-González²

¹ Laboratorio Nacional CONAHCYT de Apoyo a la Evaluación de Productos Bióticos (LaNAEPBi), Unidad de Servicio, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Durango, Felipe Pescador 1830 Ote., 34080 Durango, Dgo., México.

² Facultad de Medicina y Nutrición, Universidad Juárez del Estado de Durango, Avenida Universidad s/n, Los Ángeles, 34076 Durango, Dgo., México.

*Correspondencia: Correo electrónico: kherrera@itdurango.edu.mx (Karen Marlenne Herrera-Rocha)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v20i1.2089>

Recibido: 21 de septiembre de 2025; Aceptado: 04 de diciembre de 2025

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editora de Sección: Dra. Jazmín Leticia Tobías-Espinoza

Abstract

The development of supplements is a strategy to promote population health. This study aimed to develop a powdered supplement containing mesquite flour, pea protein, cocoa, agavins, xanthan gum, vitamins, and minerals; characterize its phytochemical and nutritional composition; and evaluate its glycemic index, glycemic load, and effects on bone mineral density and body composition. The impact of particle size and mixing time on wettability, solubility, fluidity, and foam stability was assessed through physicochemical analysis; formulations with 600 µm particles exhibited greater stability, water absorption, solubility, and fluidity. The nutritional profile was established in accordance with NOM-051-SCFI/SSA1-2010, yielding an energy value of 366.03 kcal/100 g, with 29.53 g of carbohydrates, 58.59 g of proteins, and 1.15 g of lipids. The phytochemical

profile identified by LC-MS/MS revealed a polyphenol content of 6608.57 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, highlighting hydroxycinnamic acids (2597.12 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), flavanols (1606.77 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), and flavonols (1526.47 $\mu\text{g}/100\text{ g}$). In an adult intervention study ($n=32$, 18–40 years, 30 g/day for two months), the supplement showed a glycemic index of 11.18 and a glycemic load of 5.59. Consumption improved bone health in both sexes, particularly in the radial and femoral regions, and reduced body fat, especially visceral fat.

Keywords: supplement, functional food, bone health, body composition, health

Resumen

El desarrollo de suplementos es una estrategia para favorecer la salud poblacional. Este estudio buscó elaborar un suplemento en polvo con harina de mezquite, proteína de chícharo, cocoa, agavinas, goma xantana, vitaminas y minerales; caracterizar su composición fitoquímica y nutricional; y evaluar índice glucémico, carga glucémica y efecto sobre densidad mineral ósea y composición corporal. Se analizó fisicoquímicamente el impacto del tamaño de partícula y tiempo de agitación sobre humectabilidad, solubilidad, fluidez y estabilidad de la espuma; las formulaciones con partículas de 600 μm mostraron mayor estabilidad, absorción de agua, solubilidad y fluidez. El perfil nutricional se estableció conforme a la NOM-051-SCFI/SSA1-2010, obteniéndose un valor energético de 366.03 kcal/100 g, con 29.53 g de carbohidratos, 58.59 g de proteínas y 1.15 g de lípidos. El perfil fitoquímico identificado por LC-MS/MS mostró un contenido de 6608.57 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, destacando ácidos hidroxicinámicos (2597.12 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), flavanoles (1606.77 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) y flavonoles (1526.47 $\mu\text{g}/100\text{ g}$). En el modelo de intervención en adultos ($n=32$, 18-40 años, dosis de 30 g/día por dos meses), el suplemento presentó un índice glucémico de 11.18 y carga glucémica de 5.59. Su consumo mejoró la salud ósea en ambos sexos, especialmente en regiones radial y femoral, y redujo grasa corporal sobre todo visceral.

Palabras clave: suplemento, alimentos funcionales, salud ósea, composición corporal, salud

1. Introduction

The development of nutritional supplements with functional ingredients represents a promising strategy for supporting metabolic and bone health, thereby contributing to body recomposition and musculoskeletal integrity in adults. An appropriate combination of macronutrients (proteins, carbohydrates, and lipids, as primary sources of energy and structural substrates) and micronutrients (vitamins and minerals, required cofactors for enzymatic catalysis and regulators of metabolic homeostasis), together with glycemic index and caloric content, can promote body recomposition and maintenance of musculoskeletal tissue through thermogenesis and bone regeneration processes (Martiniakova et al., 2022).

Cocoa-derived compounds contribute to the prevention of cardiovascular, neurodegenerative, metabolic, and bone-related conditions (Fideles et al., 2023). Xanthan gum, employed as a stabilizing agent in cocoa-based beverages, enhances viscosity and stability without affecting antioxidant activity (Muhammad et al., 2021). In addition, agave, mesquite, and pea protein provide dietary fiber, polyphenols, and proteins with anabolic, hypoglycemic, hypolipidemic, and prebiotic

properties, which promote the balance of the gut microbiota and metabolic homeostasis (Jaimes-Morales et al., 2022; Medina-Larqu   et al., 2022; Wang et al., 2022).

Considering these physiological benefits, it is relevant to assess the use of functional supplements in clinical settings where body composition alterations (such as visceral and subcutaneous fat accumulation and decreased bone mineral density) are increasingly observed, even in adults under 45 years old. These conditions may compromise quality of life and predispose to long-term health difficulties (Herath et al., 2022). Diagnostic assessment is typically performed via dual-energy X-ray absorptiometry (DXA), the gold-standard imaging modality for estimating T-scores (-1.0 to -2.5) and accurately measuring fat, lean, and bone mass, as well as body fat distribution.

Based on this evidence, a supplement was formulated with functional ingredients (mesquite flour, pea protein, non-alkalized cocoa, agavins, xanthan gum as a stabilizer, and a premix of vitamins and minerals) to characterize its physicochemical and nutritional properties, determine its glycemic index and glycemic load, and evaluate its effects on bone mineral density and body composition in a longitudinal study involving adult men and women.

2. Materials and methods

2.1 Materials

2.1.1 Chemical reagents

Catechin, epicatechin, epigallocatechin gallate, procyanidin B1, quercetin, quercetin-3-O-glucoside, naringenin, apigenin, rutin, hesperidin, taxifolin, phloretin, phloridzin, kaempferol, quinic acid, protocatechuic acid, syringic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, p-coumaric acid, shikimic acid, gallic acid, salicylic acid, ferulic acid, sinapic acid, trans-cinnamic acid, and benzoic acid were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Acetonitrile, formic acid, and ethyl acetate were obtained from J.T. Baker Inc. (Phillipsburg, NJ, USA). The vitamin and mineral premix (A, B₁ (thiamine), B₂ (riboflavin), B₅ (pantothenic acid), B₆ (pyridoxine), B₇ (biotin/H), B₉ (folic acid), B₁₂ (cobalamin), C (ascorbic acid), D₃ (cholecalciferol), K, calcium, phosphorus, potassium, magnesium, iron, zinc, copper, manganese) was purchased from Alimentos América S.A. de C.V. (Guadalajara, Jalisco, Mexico).

2.1.2 Experimental materials

Mesquite pods were collected in Durango, Dgo., Mexico (24   02' N, 104   40' W). The pods were disinfected using a 1 % sodium hypochlorite solution, dried at 32   C for 36 hours, pulverized, and homogenized through a 2 mm mesh sieve. The resulting flour was vacuum-sealed and stored at ambient temperature until use. Pea protein isolate (90 % protein content) was obtained from a local commercial supplier. Agavins were acquired from Nutriagaves de México (Guadalajara, Jalisco, Mexico). Cocoa powder and xanthan gum were sourced from a local retail outlet in Durango, Dgo., Mexico.

2.1.3 Formulation and mixing procedure

The supplement was formulated by mixing powders at different proportions, including hydrolysed pea protein, mesquite flour (*Prosopis juliflora*), agave fructans, non-alkalized cocoa powder, xanthan gum, and a premix of vitamins and minerals (Table 1). All powders were homogenized to ensure a uniform mixture and transferred to a 250 mL beaker, where they were stirred using an Ika Eurostar Power digi-visc homogeniser (Staufen, Germany) equipped with helical turbine geometry, at 50 rpm for 0, 180, and 240 seconds.

Table 1. Distribution of powders in the supplement blend

Tabla 1. Distribución de los polvos en la mezcla del suplemento

Ingredients	Proportion (% w/w)
Pea protein	72
Mesquite powder	16
Agave fructans	6
Non-alkalized cocoa powder	5
Xanthan gum	0.50
Vitamins	0.25
Minerals	0.25

This formulation was used as the foundational matrix for all assays conducted in this study

2.2 Methods

2.2.1 Physicochemical analysis of powder attributes

2.2.1.1 Bulk and compacted density

Bulk density and compacted density of the powder mixture were evaluated according to the methodology described by Camargo et al. (2019). To determine Bulk density, 10 g of the sample was weighed and transferred to a 25 mL graduated glass cylinder (2.5 cm in diameter). The volume occupied by the powder was recorded directly from the cylinder. Compacted density was obtained using the same cylinder and sample mass. The cylinder was tapped 30 times against a stainless steel surface covered with a sheet of ethylene vinyl acetate, and the final volume was recorded. Both densities were calculated as the ratio of sample mass to the volume occupied in the cylinder (Goula and Adamopoulos, 2012).

2.2.1.2 Wettability

Wettability was determined using a previously established method (Ji et al., 2016). A 6 g portion of each powder sample was carefully sprinkled into a 400 mL beaker (70 mm diameter) containing 100 mL of distilled water at 25 °C. The time required to achieve complete wetting was recorded.

2.2.1.3 Solubility

Solubility was determined following the procedure proposed by Liaotrakoon et al. (2022). One gram of powdered sample was weighed into a centrifuge tube, mixed with 10 mL of distilled water, and vigorously homogenized. The mixture was incubated at 37 °C for 30 min, followed by centrifugation at 3000 rpm for 10 min. The insoluble residue was dried in a convection oven at 105 °C for 3 h. Solubility was expressed as the percentage of soluble solids, calculated using Eq. (1).

$$\text{Solubility} = \left(\frac{(\text{g of residue})}{(\text{g de sample})} \right) \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

2.2.1.4 Carr and Hausner indices

The Carr and Hausner indices were calculated using the method proposed by Macías-Cortés et al. (2022). In summary, the Carr index was determined using Eq. (2) and the Hausner index using Eq. (3).

$$\text{Carr Index} = \left(\frac{(\text{Bulk density} - \text{tapped density})}{\text{tapped density}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. (2)}$$

$$\text{Hausner Index} = \frac{\text{Bulk density}}{\text{Tapped density}} \quad \text{Eq. (3)}$$

2.2.1.5 Foam properties

Foam formation in reconstituted powders was considered a fundamental quality parameter, closely linked to consumer acceptance. Foams were produced by vigorously shaking a sealed cylindrical container (130 mL internal volume, graduated to 100 mL in 1 mL increments) filled with 40 mL of solution and 90 mL of air (Marinova et al., 2017). Foam stability was evaluated across three time points (0, 180, and 600 s) during a 600-second observation. The total volume of foam and underlying liquid (VF+L, upper limit) and the volume of drained liquid (VDrL, lower limit) were registered. Calculation of the liquid fraction within the foam (ϵ) was performed based on Eq. (4), and the gas fraction (ϵ^{-1}) was determined using Eq. (5) (Marinova et al., 2017).

$$\epsilon = \frac{(40 - \text{VDrL})}{(\text{VF} + \text{L} - \text{VDrL})} \quad \text{Eq. (4)}$$

$$\varepsilon^{-1} = \frac{V_{total}}{V_{gas}} \quad \text{Eq. (5)}$$

2.2.2 Characterization of the supplement

2.2.2.1 Determination of caloric content

The energy content of the supplement was estimated based on its nutritional composition, in accordance with Mexican Official Standard NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Quantification of the total macronutrient content (proteins, lipids, and carbohydrates) was performed. Subsequently, Atwater's general conversion factors were applied, assigning 4 kcal per gram to proteins and carbohydrates, and 9 kcal per gram to lipids (Sánchez-Peña et al., 2017). Results were represented as kilocalories per 100 grams of supplement (kcal/100 g).

2.2.2.2 Phytochemical characterization

Triplicate portions of 100 mg were prepared for phytochemical analysis. The samples dissolved in distilled water at a 1:10 (w/v) ratio and homogenized for 1 minute using an Ultra-Turrax (Ika Eurostar Power Digi-visc homogenizer, Staufen, Germany) for 1 minute. The homogenates were centrifuged, and the supernatant was recovered. Subsequently, liquid-liquid microextraction was performed with ethyl acetate (2:1, v/v). Vortex agitation was applied for 1 minute, and the sample was then centrifuged to recover the organic phase. The washing was repeated a second time. Both supernatants were combined in a single tube and concentrated using a Labconco CentriVap centrifugal vacuum concentrator (Thermo Fisher Scientific, US). The samples were dissolved in 200 µL of methanol and filtered using 0.45 µm PTFE membranes before analysis.

The phytochemical profile was defined according to the methodology described by De Santiago-Romero et al. (2024). Chromatographic separations were performed using LC-MS/MS, employing 7.5 mM formic acid in Milli-Q water (solvent A) and acetonitrile (solvent B). A concentration gradient of solvent B was applied at 0, 1.2, 3.8, 11.4, and 13.2 minutes, with concentrations of 3 %, 9 %, 16 %, 50 % and 3 %, respectively. An Acquity BEH C18 column (1.7 µm, 2.1 × 50 mm) was used at 35 °C, with a constant flow rate of 0.250 mL/min⁻¹ and a stabilisation time of 2.8 minutes at 3 % solvent B. Electrospray ionisation (ESI) was performed in negative mode, using nitrogen as the nebulising gas. ESI source included a capillary voltage of 2.25 kV, cone voltage of 30 V, and a collision gas flow of 0.15 mL/min⁻¹. Collision energies were adjusted to 5.0 eV for MS and 20.0 eV for MS/MS. Desolvation and source temperatures were maintained at 400 °C and 150 °C, respectively. Compounds were identified and quantified through multiple reaction monitoring (MRM), ensuring selective detection.

2.2.3 Biological methods (human intervention model)

The intervention model was approved by the Research Ethics Committee of Comité de Ética en Investigación (CEITecNM/I.T. Durango) (registration number CEI-003-2022-0301-003). A non-probabilistic convenience sampling technique was applied, as the participants were volunteers who met the inclusion criteria and provided written informed consent. This approach is both ethically

acceptable and methodologically consistent for exploratory nutritional interventions in healthy populations. It enabled the determination of the glycemic index and glycemic load of the supplement through a cross-sectional assessment, in accordance with International Standard ISO 26642:2010(E). The effect of supplement consumption on body indicators and bone density was also analyzed through a longitudinal assessment.

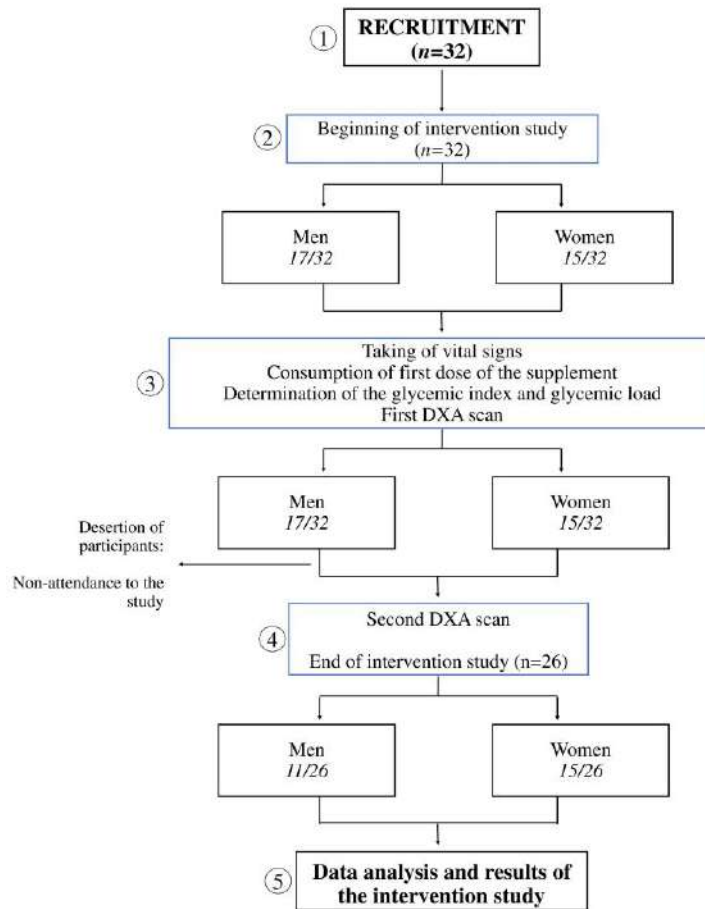


Figure 1. Flow of participants through the study stages. (1) recruitment (n = 32); (2) intervention start (17 men, 15 women); (3–4) supplement intake, glycemic index and load assessment, DXA scans (baseline and after 2 months), with dropout of 6 men; (5) final data collection and analysis

Figura 1. Se muestra el flujo de los participantes a través de las etapas de (1) reclutamiento (n = 32); (2) inicio de intervención (17 hombres, 15 mujeres); (3)-(4) consumo del suplemento, medición de índice y carga glucémica, escaneos DXA (inicio y 2 meses), registrando diserción por abandono del estudio de 6 hombres; (5) obtención de resultados y análisis final

A total of 32 participants (15 women and 17 men) were initially recruited. Eligibility required an age range of 18 to 40 years and the absence of any metabolic disease diagnosis, which was verified through the clinical record of each participant. Evaluations were conducted at the facilities of the

Laboratorio Nacional CONAHCYT de Apoyo a la Evaluación de Productos Bióticos (LaNAEPBi), part of the Tecnológico Nacional de México /I.T. Durango. After signing the informed consent form, clinical records were initiated, including the recording of vital signs such as blood pressure, respiratory rate, heart rate, and oxygen saturation. Body composition was assessed via DXA, providing data on weight (kg), body mass index (kg/m²), fat, lean and bone mass (%), subcutaneous adipose tissue area (cm³), and bone mineral density in various anatomical regions (radius, femur, and spine). Participants were directed to consume a daily dose of 30 g of the supplement dissolved in water, a portion defined in the study design as practical, safe, and consistent with ranges reported in nutritional interventions (20–40 g/day) and commercial powdered supplements. Following the initial dose, a glucose tolerance test was performed to determine the glycemic index and glycemic load of the supplement. Daily supplementation continued for two months. At the end of the intervention, the DXA scan was repeated to assess post-intervention changes in body composition (Fig. 1).

2.2.4 Experimental design and data analysis

Experimental data of physicochemical properties were expressed as mean $\pm$ standard deviation, and the data of biological model were expressed as mean $\pm$ standard error due to the nature of the data. A one-way analysis of variance (ANOVA) was performed, followed by Tukey's post hoc test for multiple comparisons ($p < 0.05$ was considered statistically significant), using Statistica v12.1 software (StatSoft, Tulsa, OK, USA). Mixture homogeneity was assessed through analysis of skewness and kurtosis. T-scores and body composition variables were analyzed using the relative change method (Fold Change) via the MetaboAnalyst v6.0 platform.

3. Results and discussion

3.1 Physical properties of the supplement

The analyses were performed on the formulated supplement, and all results reflect the properties of the complete mixture (Table 1). Based on the data presented in Table 2, both mixing time and particle size had statistically significant effects ($p < 0.05$) on the specific evaluated responses. However, the analysis of variance showed that the interaction between mixing time and particle size did not significantly influence the results ($p > 0.05$), suggesting that each variable independently impacts the physical properties of the supplement. Regarding wettability, a higher water absorption capacity was observed in treatments with 600 μm particles, probably attributable to a lower specific surface area and increased porosity, potentially facilitating water penetration into the particle matrix. This property is essential, as powder reconstitution represents the initial stage of the process (Gaudel et al., 2023). Conversely, the decrease in wettability with increasing mixing time could be due to physical redistribution of the particles; in this case, the resulting values may represent a weighted average of the entire mixture (Ong et al., 2020).

In terms of solubility, the 600 μm particle size showed greater solubility compared to smaller sizes (25 % vs. 21 %) ($p < 0.05$). This behaviour can be attributed to the presence of mesquite flour, which is rich in carbohydrates that enhance molecular interactions, favouring system solubility. Although

mixing time did not exert a statistically significant effect on this parameter, its indirect influence may be related to the dispersion of soluble ingredients. These values were consistent with results reported by Lai et al. (2024) in alfalfa leaf powder mixtures. In particular, the results for bulk and compact density did not indicate statistically significant differences with respect to mixing time or particle size, indicating that these properties are more influenced by powder composition than by processing conditions.

To evaluate fluidity, the intermediate mixing time condition was selected to calculate the Carr and Hausner indices. The values obtained were favorable (Table 2), indicating that the presence of pea protein decreases the cohesion of the particles present in the supplement, promoting its handling and transport; therefore, the addition of ingredients that could enhance fluidity is not necessary. The Hausner index and the Carr index are two empirical parameters, closely related to each other, that are used to estimate the flowability of a powder. Despite the above, it is essential to mention that the Carr index was developed based on the concept that the more compressed a material is, the less flowable it will be. In contrast, the Hausner index was conceived as an indicator of the friction conditions between powders (Saker et al., 2019). Therefore, based on the data shown and the description above, the addition of an ingredient is not necessary.

Table 2. Rehydration and flow properties of the powders used to obtain the supplement

Tabla 2. Rehidratación y propiedades de fluidez de los polvos utilizados para obtener el suplemento

Time (s)	Particle size (mm)	Bulk density (g/cm ³)	Compact density (g/cm ³)	Carr index	Hausner index	Wettability (s)	Solubility index (%)
0	0.600	0.302±0.08	0.397±0.00	23.90±1.50	1.31±0.02	33.0±0.50	25.46±0.40
0	0.250	0.299±0.02	0.423±0.01	24.22±1.10	1.42±0.12	26.5±0.50	26.83±0.05
0	0.145	0.285±0.01	0.401±0.00	29.05±1.12	1.41±0.02	25.5±0.50	21.13±1.10
180	0.600	0.294±0.00	0.411±0.00	28.46±0.00	1.40±0.00	35.0±0.50	26.70±0.50
180	0.250	0.295±0.01	0.401±0.00	26.68±1.25	1.36±0.02	25.5±0.50	21.50±2.70
180	0.145	0.302±0.01	0.401±0.00	25.68±2.24	1.31±0.04	25.5±0.50	20.30±1.63
240	0.600	0.294±0.00	0.397±0.00	25.93±0.74	1.34±0.01	36.5±0.50	24.81±0.40
240	0.250	0.295±0.01	0.409±0.01	28.11±0.20	1.38±0.00	25.5±0.50	23.23±0.60
240	0.145	0.292±0.01	0.406±0.01	28.20±0.30	1.38±0.00	25.5±0.50	21.53±0.05

The results are expressed as mean ± standard deviation

The results in Table 3 show the foaming values at different times. In the case of foaming at time zero, it can be seen that mixing time has an influence, as a higher liquid fraction value (ϵ) was observed in the powders that were mixed (0.81 vs. 0.76, approximately), regardless of the foaming time applied. Although this behavior becomes insignificant over time (ϵ at 0 s vs. ϵ at 600 s), there is a tendency

for foam stability to improve in treatments with longer mixing times, as the liquid fraction remains constant.

Table 3. Foaming properties of reconstituted powder mixtures

Tabla 3. Propiedades espumantes de las mezclas de polvos reconstituidos

Time (s)	Particle size (mm)	ϵ_0 s	ϵ_{180} s	ϵ_{600} s	$(\epsilon-1)_0$ s	$(\epsilon-1)_{180}$ s	$(\epsilon-1)_{600}$ s
0	0.600	0.76 $\pm$ 0.02	0.77 $\pm$ 0.02	0.77 $\pm$ 0.02	0.24 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.02
0	0.250	0.77 $\pm$ 0.03	0.79 $\pm$ 0.02	0.79 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.03	0.21 $\pm$ 0.02	0.21 $\pm$ 0.02
0	0.145	0.80 $\pm$ 0.02	0.81 $\pm$ 0.01	0.81 $\pm$ 0.03	0.20 $\pm$ 0.02	0.19 $\pm$ 0.03	0.19 $\pm$ 0.03
180	0.600	0.81 $\pm$ 0.03	0.81 $\pm$ 0.01	0.81 $\pm$ 0.01	0.19 $\pm$ 0.03	0.19 $\pm$ 0.01	0.19 $\pm$ 0.01
180	0.250	0.78 $\pm$ 0.03	0.78 $\pm$ 0.02	0.78 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.03	0.22 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.02
180	0.145	0.80 $\pm$ 0.03	0.80 $\pm$ 0.03	0.80 $\pm$ 0.03	0.20 $\pm$ 0.03	0.20 $\pm$ 0.03	0.20 $\pm$ 0.03
240	0.600	0.80 $\pm$ 0.02	0.79 $\pm$ 0.02	0.80 $\pm$ 0.01	0.20 $\pm$ 0.02	0.21 $\pm$ 0.02	0.20 $\pm$ 0.01
240	0.250	0.77 $\pm$ 0.02	0.78 $\pm$ 0.02	0.77 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.02
240	0.145	0.76 $\pm$ 0.02	0.78 $\pm$ 0.01	0.78 $\pm$ 0.01	0.24 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.01	0.22 $\pm$ 0.01

The results are expressed as mean $\pm$ standard deviation

Regarding particle size, no significant influence was observed on the liquid or gas fraction of the foam, indicating that this variable does not directly impact the foam formation capacity or stability under the conditions evaluated. The drainage volume, calculated as the difference between the liquid fraction at 600 s and at 0 s, showed that the agitation time had a positive influence on foam stability (Fig. 2). No significant change was recorded in the agitated powders. In contrast, an increase in drainage volume was observed in the non-agitated powders. The homogenization of the powder can explain this behavior during agitation, which allows for a more uniform distribution of the protein in the system, favoring the formation of more stable bubbles (Narsimhan and Xiang, 2018). In addition, the inclusion of xanthan gum in the mixture may have contributed to the observed stability, as this polysaccharide supplies structural support to the foam formed by the protein, preventing premature collapse of the foam matrix (Sheng et al., 2021).

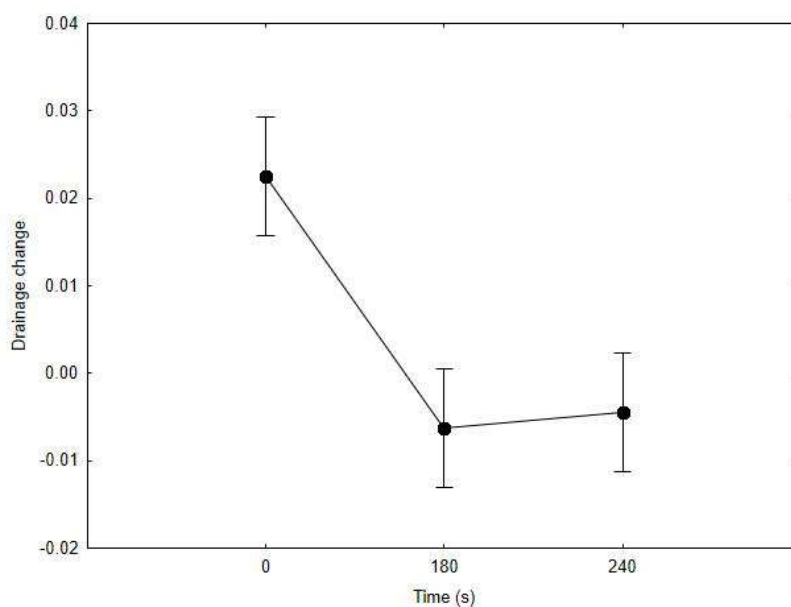


Figure 2. Effect of agitation time on the liquid drainage of the foam in the reconstituted supplement. The bars indicate the standard deviation, while the dots are the average values

Figura 2. Efecto del tiempo de agitación sobre el drenaje líquido de la espuma en el suplemento reconstituido. Las barras indican la desviación estándar, mientras que los puntos son los valores medios

3.2 Supplement formulation

The supplement formulation had a functional and phytochemical profile, as detailed in Table 4. The total caloric content was 366.03 kcal/100 g, with a macronutrient distribution of 29.53 g of carbohydrates, 58.59 g of protein, and 1.15 g of lipids. This composition primarily consists of a protein supplement, which may promote muscle protein synthesis processes and help regulate energy metabolism (Lim *et al.*, 2024). Micronutrient analysis revealed that the vitamin and mineral premix contained 430.93 mg/100 g, reinforcing its functional potential to contribute to physiological functions, including bone mineralization processes and electrolyte balance (Schiefermeier-Mach *et al.*, 2020).

As a complement to the formulation, the intervention study helped determine the glycemic index and glycemic load, with values of 11.18 and 5.59, respectively. This indicates a low glycemic response, which is proper for preventing metabolic sensitivity or the risk of insulin resistance (Yu *et al.*, 2025). These parameters are vital for preventing postprandial glucose and insulin spikes, especially in preventive contexts and in metabolic disorders such as type 2 diabetes mellitus or insulin resistance (Peres *et al.*, 2023).

Table 4. Nutritional statement for the dietary supplement developed from mesquite flour, agave fructans, agavins, cocoa, pea protein, and a blend of vitamins and minerals**Tabla 4.** Declaración nutricional del suplemento dietético elaborado a partir de harina de mezquite, fructanos de agave, agavinas, cacao, proteína de chícharo y una mezcla de vitaminas y minerales

Macronutrients	Amount per 100 g
Energy content	366.03 kcal
Total protein (g)	58.59
Pea protein	42.18
Total lipids (g)	1.51
Total carbohydrates (g)	29.53
Agave fructans	4.72
Micronutrients	Amount per 100 g
Total vitamins (mg/100 g)	430.993
Thiamine (B ₁)	2.33
Riboflavin (B ₂)	2.64
Pantothenic acid (B ₅)	10.88
Retinol (A)	1.55
Folic acid	311.11
Pyridoxine (B ₆)	3.11
Ascorbic acid (C)	91.33
Cholecalciferol (D ₃)	7.77
Biotin (H)	0.150
Vitamin K	0.120
Cyanocobalamin (B ₁₂)	0.003
Total minerals (mg/100 g)	1834.68
Calcium	871.27
Phosphorus	566.57
Potassium	244.70
Magnesium	137.25
Iron	5.88
Zinc	5.88
Copper	1.17
Manganese	1.96
Additional information	Amount per 100 g
Non-alkaline cocoa (g/100 g)	5.00

Total polyphenols ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	6608.57
Glycemic index (GI)	11.18
Glycemic load (GL)	5.59
The data correspond to the nutritional profile of the supplement used in the experimental trials described in this study	

Chemical characterization identified 35 polyphenolic compounds, with a total abundance of $6608.57 \pm 168.60\ \mu\text{g}/100\text{ g}$, predominantly hydroxycinnamic acids ($2597.12 \pm 106.65\ \mu\text{g}/100\text{ g}$), flavanols ($1606.77 \pm 65.85\ \mu\text{g}/100\text{ g}$), and flavonols ($1526.47 \pm 94.96\ \mu\text{g}/100\text{ g}$), identified for their antioxidant activity and modulating effects on inflammatory and metabolic pathways (Rudrapal et al., 2024). Flavanones ($9.84 \pm 0.73\ \mu\text{g}/100\text{ g}$) and flavones ($3.82 \pm 1.75\ \mu\text{g}/100\text{ g}$) were found in lower abundance, completing the bioactive profile of the supplement (Table 5). These compounds, together with the functional synergy of the base ingredients (pea protein, mesquite flour, agave fructans, cocoa, and the vitamin and mineral premix), support their potential impact in promoting advances in bone health and body recomposition (Bogdanis et al., 2023).

Table 5. Phytochemical profile of the supplement determined by LC-MS/MS

Tabla 5. Perfil fitoquímico del suplemento determinado por LC-MS/MS

No.	Compound	Nominal mass (g/mol)	Main transitions	RT (min)	λ_{max}	Abundance ($\mu\text{g}/100\text{g}$)
1.	Shikimate	173.18	111.07, 93.06	0.598	297.53	378.14 ± 34.04
2.	Gallic acid	169.15	125.05, 79.07	1.095	269.15	143.58 ± 8.54
3.	Protocatechuic acid	153.15	108.92, 81.09	2.159	293.53	98.82 ± 14.05
4.	p-salicylic acid	137.04	93.05, 65.09	3.221	254.53	20.18 ± 1.06
5.	Syringic acid	197.21	182.05, 153.11	4.152	273.53	4.42 ± 0.60
6.	Salicylic acid	137.04	93.05, 65.09	6.410	254.53	10.05 ± 0.67
7.	Benzoic acid	121.10	77.06	6.453	272.53	21.34 ± 2.56
8.	Quinic acid	191.20	93.06, 85.06	0.580	320.00	974.61 ± 44.35
9.	Neochlorogenic acid*	353.34	191.04, 85.05	2.616	324.53	9.15 ± 1.14
10.	Caffeic acid	179.19	135.08, 89.09	3.975	322.53	12.02 ± 1.08
11.	Chlorogenic acid	353.34	191.04, 85.05	3.565	324.53	1551.77 ± 81.60
12.	Cryptochlorogenic acid*	-	-	-	-	22.96 ± 2.35
13.	p-coumaric acid	163.24	119.08, 98.07	5.111	308.53	32.69 ± 2.51
14.	Ferulic acid	193.24	178.07, 134.04	5.720	322.53	18.17 ± 0.61
15.	Sinapic acid	223.24	164.06, 149.04	5.785	323.53	6.81 ± 0.88

16.	3,4-dicaffeoylquinic acid*	515.43	353.20, 179.06	6.638	323.53	0.35±0.11
17.	t-cinnamic acid	147.17	103.08, 77.07	8.574	275.53	8.55±2.79
18.	Gallocatechin*	305.33	125.02	2.646	273.53	1.54±0.16
19.	Procyanidin B1	577.44	407.21, 289.18	3.253	278.53	82.26±10.50
20.	Catechin	289.24	245.12, 123.03	3.608	278.53	664.73±40.39
21.	(<i>epi</i>)- catechin	289.24	245.12, 123.03	4.474	278.53	855.64±25.65
22.	(<i>epi</i>)- catechin gallate	441.27	169.04	6.080	276.53	2.58±0.15
23.	Rutin	609.28	300.24, 271.13	5.940	353.53	117.98±18.24
24.	Miquelianin	477.26	301.10, 151.03	6.059	353.53	1166.73±86.03
25.	Isoquercetin*	463.35	300.42, 271.11	6.086	353.53	78.15±8.57
26.	Astragalin*	447.34	284.24, 255.12	6.667	347.53	10.23±0.86
27.	Quercetin	301.20	179.04, 151.02	8.320	370.53	125.78±5.01
28.	Kaempferol	285.22	185.02, 151.02	9.345	363.53	27.58±8.46
29.	Apigenin	269.27	177.04, 148.58	9.151	335.53	3.82±1.75
30.	Hesperidin	609.40	301.15, 164.02	7.080	352.53	0.17±0.04
31.	Neohesperidin*	609.40	301.15, 164.02	7.080	352.53	0.10±0.01
32.	Naringenin	271.28	151.04, 119.06	9.135	288.53	9.57±0.75
33.	Taxifolin	303.03	285.00, 125.02	6.041	303.00	47.05±8.14
34.	Phloridzin	471.34	435.16, 273.15	7.43	283.53	9.86±1.05
35.	Phloretin	273.23	167.03, 123.08	9.233	284.53	118.69±1.00

Retention time; *Compounds identified based on their major transitions and peak spectra, abundance data are mean ± standard deviation (n=3)

3.3 The impact of supplement consumption on bone mineral density and body composition

The intervention model began with 32 participants (17 men and 15 women) and concluded with 26 active participants (15 women and 11 men). Despite this decrease, the final sample was statistically valid. The supplement showed different effects in women and men, especially in bone mineral density and visceral fat redistribution. Both groups maintained vital signs within normal ranges (Table 6).

Table 6. Health indicators and body composition of participants before and after the intervention**Tabla 6.** Indicadores de salud y composición corporal de los participantes antes y después de la intervención

Parameter	Women		Men	
	Beginning	End	Beginning	End
<i>n</i> =	15	15	17	11
Age (years)	28.26±1.94	28.26±1.94	24.45±1.08	24.45±1.08
Height (m)	1.62±0.01	1.62±0.01	1.71±0.01	1.71±0.01
Body weight (kg)	68.81±3.30	68.69±3.26	98.32±5.61	97.75±5.52
Body Mass Index (kg/m ²)	25.55±1.03	25.92±1.17	33.51±1.64	33.10±1.64
Heart rate	72.53±2.27	72.53±2.27	69.00±1.36	69.00±1.36
Respiratory frequency	17.6±0.17	17.6±0.17	18.18±0.07	18.18±0.07
Systolic pressure	111.93±2.20	111.93±2.20	129.27±2.60	129.27±2.60
Diastolic pressure	72.33±1.21	72.33±1.21	77.54±2.37	77.54±2.37
Oxygen saturation	97.66±0.12	97.66±0.12	97.63±0.13	97.63±0.13

Data showed are the mean ± standard error (SE).

DXA analysis showed improvements in body and radial T-scores after two months of intervention. In women, an increase in radial bone density was observed (-1.81 ± 0.17 to -1.50 ± 0.17), while in men, improvements were observed in radial (from -1.90 ± 0.17 to -1.45 ± 0.16) and femoral (from -0.07 ± 0.15 to 0.17 ± 0.11) densitometry (Table 7). These changes may be associated with the synergistic action of the supplement's ingredients. Cocoa has been reported to have effects on the femoral and lumbar regions by increasing levels of insulin-like growth factor 1 (IGF-I), which reduced bone turnover in rats (Sarmadi et al., 2020). On the other hand, agave fructans improved femoral calcium content and bone mineral density in calcium-deficient rats (Topolska et al., 2020). Additionally, peas and mesquite provide polyphenols such as quercetin, rutin, catechin, and epicatechin, and micronutrients such as calcium, phosphorus, zinc, and vitamin D, which help modulate physiological pathways implicated in osteoblastogenesis and bone remodeling (Shaghaghian et al., 2022; Tomczyk-Warunek et al., 2024).

With regard to body composition, a reduction in visceral fat was observed in both groups (Table 7). Specifically, in the women's group, visceral fat decreased from 656.04 ± 96.32 g to 603.07 ± 88.31 g, and in men, from 1310.59 ± 174.11 g to 1253.13 ± 154.55 g. This result can be explained by the plant proteins, dietary fiber, and antioxidant compounds present in mesquite, peas, and cocoa, which promote lipid oxidation and thermogenesis processes (Jean-Marie et al., 2021; Oliveira et al., 2021). On the other hand, agave fructans may have contributed to the observed effect by modulating the gut microbiota and enabling the production of microbial metabolites, such as butyrate, which is involved in bone and lipid metabolism (Ocampo et al., 2023).

Table 7. Body composition and mineral density of participants at beginning and at the end of the intervention study**Tabla 7.** Composición corporal y densidad mineral de los participantes al inicio y al final del estudio de intervención

Parameter	Women		Men	
	Beginning	End	Beginning	End
Fat mass (%)	39.66±1.28	40.05±1.35	38.09±1.27	38.35±1.21
Lean mass (%)	57.36±1.19	56.80±1.23	59.23±1.16	58.99±1.10
Bone mass (%)	2.96±0.10	2.95±0.10	2.70±0.11	2.66±0.11
Visceral adipose tissue area (cm ³)	135.30±13.13	128.87±12.87	208.40±22.66	203.96±19.99
Visceral adipose tissue mass (g)	656.04±96.32	603.07±88.31	1310.59±174.11	1253.13±154.55
Visceral adipose tissue volume (cm ³)	110.26±11.53	119.10±10.79	185.49±17.60	188.25±18.75
Body bone mineral density (T-score)	-1.22±0.15	-1.19±0.15	-1.72±0.07	-1.76±0.06
Radial mineral density (T-score)	-1.81±0.17	-1.50±0.17	-1.9±0.17	-1.45±0.16
Femoral mineral density (T-score)	-0.26±0.17	-0.23±0.15	-0.07±0.15	0.17±0.11
Spinal mineral density (T-score)	0.73±0.14	0.78±0.14	0.59±0.06	0.60±0.05

Data showed are the mean ± standard error (SE).

Likewise, multivariate Fold Change analysis confirmed and expanded upon the previous findings, showing significant variations in body and radial bone density, as well as in the redistribution of adipose tissue, particularly in the visceral area (Fig. 3ab). Positive values show patterns of tissue redistribution and improvement in bone mineral density, which may reflect the physiological impact of the supplement.

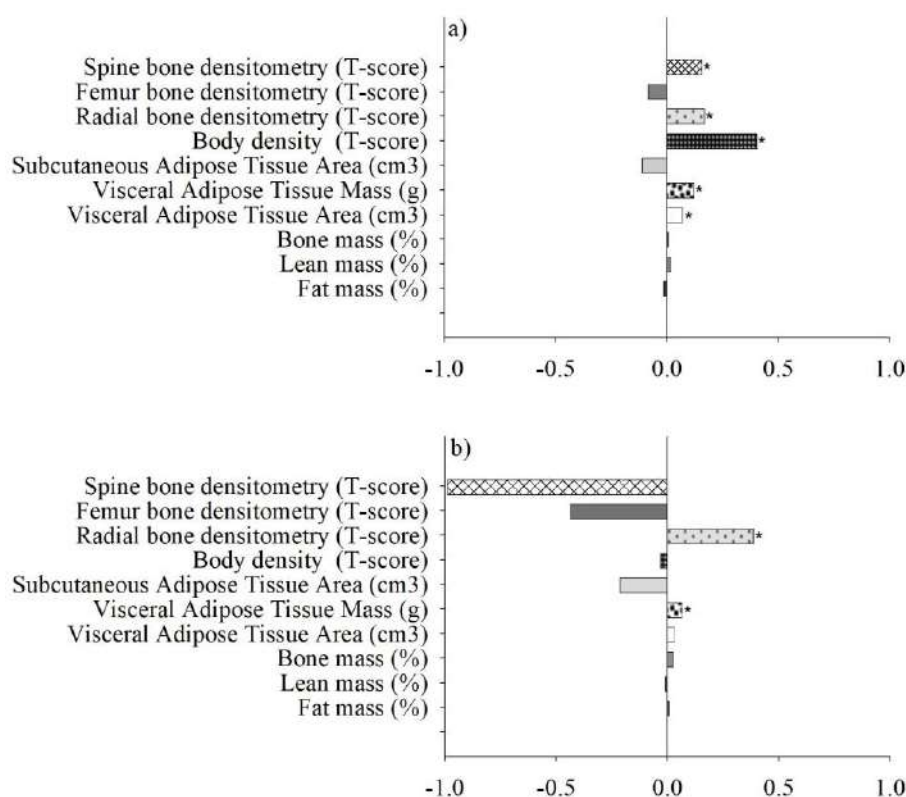


Figure 3. Fold Change analysis in anthropometric parameters and bone densitometry in women (a) and men (b). The bars represent the magnitude of change in each variable between comparative groups. The asterisk (*) indicates the variables with the greatest positive changes.

Figura 3. Análisis del cambio relativo en los parámetros antropométricos y la densitometría ósea en mujeres (a) y hombres (b). Las barras representan la magnitud del cambio en cada variable entre los grupos comparativos. El asterisco (*) indica las variables con los mayores cambios positivos.

4. Conclusions

The combination of functional ingredients enabled the development of a powdered supplement with favorable physical properties, including a particle size of 600 μm that ensured stability, solubility, and fluidity. Its nutritional composition provided sustained energy intake of 366.03 kcal/100 g, with 29.53 g/100 g of carbohydrates, 1.15 g/100 g of lipids, and a high protein content of 58.59 g/100 g, accompanied by an optimal glycemic index of 11.18 and a glycemic load of 5.59. The phytochemical profile revealed a polyphenol concentration of 6608.57 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, with hydroxycinnamic acids (2597.12 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), flavonols (1606.77 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), and flavanols (1526.47 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) as the most abundant subfamilies.

Consumption improved bone mineral density in both sexes. In women, radial bone density increased from -1.81 to -1.50, while in men improvements were observed both in radial (-1.90 to -1.45) and femoral regions (-0.07 to 0.17). Supplement intake also promoted body recomposition, as evidenced

by a reduction in visceral fat, with values in women decreasing from 656.04 g to 603.07 g, and in men from 1310.59 g to 1253.13 g.

Overall, these findings may suggest the potential of the supplement with implications for population health, particularly in supporting bone health and reducing visceral adiposity. Its innovative formulation and synergistic effects highlight its relevance for nutritional interventions and future research.

Contributions of the authors

Conceptualization, J.A.G.I. and K.M.H.R.; methodology, D.D.J.S.; software, K.M.H.R., J.A.G.I., N.E.R.G.; validation, K.M.H.R., J.A.G.I., N.E.R.G., M.R.M.J., and S.M.G.H.; formal analysis, J.A.G.I. and K.M.H.R.; research, D.D.J.S. and J.N.D.G.; resources, J.A.G.I.; data preservation, K.M.H.R. and J.A.G.I.; writing-drafting of the original manuscript, K.H.M.R., J.A.G.I., and N.E.R.G.; writing-revision and editing, K.M.H.R., J.A.G.I., N.E.R.G., M.R.M.J. and S.M.G.H.; visualization, K.M.H.R., J.A.G.I. and D.D.J.S.; supervision, J.A.G.I.; project management, K.M.H.R., J.A.G.I., N.E.R.G., M.R.M.J., and S.M.G.H.; funding acquisition, J.A.G.I., N.E.R.G., M.R.M.J., S.M.G.H. and K.M.H.R. All authors have read and accepted the published version of the manuscript.

Acknowledgements

The Master's students listed as co-authors gratefully acknowledge the financial support provided by CONAHCYT (currently SECIHTI). The mesquite samples were kindly donated by Dr. Julio César Ríos-Saucedo, a researcher at the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Coyoacán, Ciudad de México. Financial support for the project (ID: 16840.23-p) was also provided by Tecnológico Nacional de México.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest related to this research.

5. References

- Bogdanis, G. C., & Giannaki, C. D. (2023). Dietary Supplements and Musculoskeletal Health and Function. *Nutrients*, 15(20): 4404. <https://doi.org/10.3390/nu15204404>
- Camargo, N. S. S., Dantas, F. B. H., Alvim, I. D., de Oliveira Miguel, A. M. R., Dantas, S. T., & Alves, R. M. V. (2019). Stability of omega-3 enriched milk powder in different commercial packages stored under accelerated conditions of temperature and relative humidity. *International Dairy Journal*, 88: 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.07.013>
- De Santiago-Romero, J. A., Salas-Ramírez, C. A., Herrera-Rocha, K. M., Rocha-Guzmán, N. E., Rivas Arreola, M. J., Gallegos-Infante, J. A., González-Herrera, S., Moreno-Jiménez, M., & Galindo-

- Gallegos, M. A. (2024). Development of shake powdered food with cocoa, mesquite pod flour, oak extract and agave fructans, quality characteristics and glycemic index. *Nutrition & Food Science*, 54(5): 890-905. <https://doi.org/10.1108/NFS-01-2024-0028>
- Fideles, S. O. M., Ortiz, A. D. C., Reis, C. H. B., Buchaim, D. V., & Buchaim, R. L. (2023). Biological properties and antimicrobial potential of cocoa and its effects on systemic and oral health. *Nutrients*, 15(18): 3927. <https://doi.org/10.3390/nu15183927>
- Gaudel, N., M'Be, U., de Richter, S. K., Fournaise, T., Burgain, J., Jenny, M., Petit J., & Gaiani, C. (2023). Effect of stirring speed and particle size on couscous powder reconstitution. *Powder Technology*, 430: 119026. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2023.119026>
- Goula, A. M., & Adamopoulos, K. G. (2012). A new technique for spray-dried encapsulation of lycopene. *Drying technology*, 30(6): 641-652. <https://doi.org/10.1080/07373937.2012.655871>
- Herath, M., Cohen, A., Ebeling, P. R., & Milat, F. (2022). Dilemmas in the management of osteoporosis in younger adults. *Journal of Bone and Mineral Research Plus*, 6(1): e10594. <https://doi.org/10.1002/jbm4.10594>
- Jaimes-Morales, J., Marrugo-Ligardo, Y. A., & Acevedo-Correa, D. (2022). Analysis of mesquite (prosopis juliflora) protein concentrate for possible use as supplementary protein. *International Journal of Food Science*, 2022: 7621818. <https://doi.org/10.1155/2022/7621818>
- Jean-Marie, E., Bereau, D., & Robinson, J. C. (2021). Benefits of polyphenols and methylxanthines from cocoa beans on dietary metabolic disorders. *Foods*, 10(9): 2049. <https://doi.org/10.3390/foods10092049>
- Ji, J., Fitzpatrick, J., Cronin, K., Maguire, P., Zhang, H., & Miao, S. (2016). Rehydration behaviours of high protein dairy powders: The influence of agglomeration on wettability, dispersibility and solubility. *Food Hydrocolloids*, 58: 194-203. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.02.030>
- Lai, S., Cui, Q., Sun, Y., Liu, R., & Niu, Y. (2024). Effects of particle size distribution on the physicochemical, functional, and structural properties of alfalfa leaf powder. *Agriculture*, 14(4): 634. <https://doi.org/10.3390/agriculture14040634>
- Liaotrakoon, W., Liaotrakoon, V., & Wongsangthama, W. (2022). Impact of different drying methods on nutritional, colour change, solubility and microbial count of selected herbal plant powders. *International Journal of Food Studies*, 11(2): 275-286. <https://doi.org/10.7455/ijfs/11.2.2022.a2>
- Lim, C., Janssen, T. A. H., Currier, B. S., Paramanantharajah, N., McKendry, J., Abou Sawan, S., & Phillips, S. M. (2024). Muscle protein synthesis in response to plant-based protein isolates with and without added leucine versus whey protein in young men and women. *Current Developments in Nutrition*, 8(6): 103769. <https://doi.org/10.1016/j.cdnut.2024.103769>
- Macías-Cortés, E., Gallegos-Infante, J. A., Rocha-Guzmán, N. E., Moreno-Jiménez, M. R., Villanueva-Fierro, I., Ochoa-Martínez, L. A., & Gonzalez-Laredo, R. F. (2022). Spray drying conditions of antioxidant and anti-inflammatory polyphenols in microcapsules of ultrasound assisted extract of salvilla (Buddleja scordioides Kunth). *ACS Food Science & Technology*, 2(10): 1574-1585. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.2c00212>
- Marinova, K. G., Naydenova, K. T., Basheva, E. S., Bauer, F., Tropsch, J., & Franke, J. (2017). New surfactant mixtures for fine foams with slowed drainage. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 523: 54-61. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.03.050>

- Martiniakova, M., Babikova, M., Mondockova, V., Blahova, J., Kovacova, V., & Omelka, R. (2022). The role of macronutrients, micronutrients and flavonoid polyphenols in the prevention and treatment of osteoporosis. *Nutrients*, 14(3): 523. <https://doi.org/10.3390/nu14030523>
- Medina-Larqu , A. S., Rodríguez-Daza, M. C., Roquim, M., Dudonn , S., Pilon, G., Levy,  ., Marette, A., Roy, D., Jacques, H., & Desjardins, Y. (2022). Cranberry polyphenols and agave agavins impact gut immune response and microbiota composition while improving gut barrier function, inflammation, and glucose metabolism in mice fed an obesogenic diet. *Frontiers in Immunology*, 13: 871080. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.871080>
- Muhammad, D. R. A., Kongor, J. E., & Dewettinck, K. (2021). Investigating the effect of different types of cocoa powder and stabilizers on suspension stability of cinnamon-cocoa drink. *Journal of Food Science and Technology*, 58: 3933-3941. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04855-y>
- Narsimhan, G., & Xiang, N. (2018). Role of proteins on formation, drainage, and stability of liquid food foams. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9: 45-63. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030216-030009>
- Ocampo, M. L. A., Figueroa-Arriaga, I. C., Lopez-Salazar, H., Reyes, S. V.  ., Díaz, P. O., Rodríguez, M. A. O., & Camacho-Díaz, B. H. (2023). The effects of consumption of bread enriched with agave fructans, cyclodextrins and probiotics in growing mice. *Journal of Functional Foods*, 105: 105556. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105556>
- Oliveira, C. L. P., Boul , N. G., Berg, A., Sharma, A. M., Elliott, S. A., Siervo, M., Ghosh, S., & Prado, C. M. (2021). Consumption of a high-protein meal replacement leads to higher fat oxidation, suppression of hunger, and improved metabolic profile after an exercise session. *Nutrients*, 13(1): 155. <https://doi.org/10.3390/nu13010155>
- Ong, X. Y., Taylor, S. E., & Ramaioli, M. (2020). Rehydration of food powders: Interplay between physical properties and process conditions. *Powder Technology*, 371: 142-153. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2020.05.066>
- Peres, M., Costa, H. S., Silva, M. A., & Albuquerque, T. G. (2023). The Health Effects of Low Glycemic Index and Low Glycemic Load Interventions on Prediabetes and Type 2 Diabetes Mellitus: A Literature Review of RCTs. *Nutrients*, 15(24): 5060. <https://doi.org/10.3390/nu15245060>
- Rudrapal, M., Rakshit, G., Singh, R. P., Garse, S., Khan, J., & Chakraborty, S. (2024). Dietary polyphenols: review on chemistry/sources, bioavailability/metabolism, antioxidant effects, and their role in disease management. *Antioxidants*, 13(4): 429. <https://doi.org/10.3390/antiox13040429>
- Saker, A., Cares-Pacheco, M. G., Marchal, P., & Falk, V. (2019). Powders flowability assessment in granular compaction: What about the consistency of Hausner ratio? *Powder Technology*, 354: 52-63. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.05.032>
- Sánchez-Peña, M. J., Márquez-Sandoval, F., Ramírez-Anguiano, A. C., Velasco-Ramírez, S. F., Macedo-Ojeda, G., & González-Ortiz, L. J. (2017). Calculating the metabolizable energy of macronutrients: a critical review of Atwater's results. *Nutrition reviews*, 75(1): 37-48. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw044>
- Sarmadi, B., Ismail, A., Yusof, L., & Yunoh, M. F. M. (2020). Mechanism of action of cocoa on bone metabolism in calcium-and estrogen-deficient rat model of osteoporosis: Evidence for site and dose-related responses and involvement of IGF-I. *Journal of Functional Foods*, 66: 103793. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103793>

- Schiefermeier-Mach, N., Egg, S., Erler, J., Hasenegger, V., Rust, P., Koenig, J., & Purtscher, A. E. (2020). Electrolyte intake and major food sources of sodium, potassium, calcium and magnesium among a population in western Austria. *Nutrients*, 12(7): 1956. <https://doi.org/10.3390/nu12071956>
- Shaghaghian, S., McClements, D. J., Khalesi, M., Garcia-Vaquero, M., & Mirzapour-Kouhdasht, A. (2022). Digestibility and bioavailability of plant-based proteins intended for use in meat analogues: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 129: 646-656. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.11.016>
- Sheng, Y., Xue, M., Zhang, S., Wang, Y., Zhai, X., Ma, L., & Huang, X. (2021). Effect of xanthan gum and silica nanoparticles on improving foam properties of mixed solutions of short-chain fluorocarbon and hydrocarbon surfactants. *Chemical Engineering Science*, 245: 116952. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2021.116952>
- Tomczyk-Warunek, A., Winiarska-Mieczan, A., Blicharski, T., Blicharski, R., Kowal, F., Pano, I. T., Tomaszewska, E., & Muszyński, S. (2024). Consumption of phytoestrogens affects bone health by regulating estrogen metabolism. *The Journal of Nutrition*, 154(9): 2611-2627. <https://doi.org/10.1016/j.tjnut.2024.05.026>
- Topolska, K., Bienko, M., Ptaszek, P., Florkiewicz, A., Radzki, R. P., & Filipiak-Florkiewicz, A. (2022). When Incorporated into Fruit Sorbet Matrix, Are the Fructans in Natural Raw Materials More Beneficial for Bone Health than Commercial Formulation Added Alone? *Animals*, 12(9): 1134. <https://doi.org/10.3390/ani12091134>
- Wang, J., Kadyan, S., Ukhanov, V., Cheng, J., Nagpal, R., & Cui, L. (2022). Recent advances in the health benefits of pea protein (*Pisum sativum*): bioactive peptides and the interaction with the gut microbiome. *Current Opinion in Food Science*, 48: 100944. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100944>
- Yu, Y. T., Fu, Y. H., Chen, Y. H., Fang, Y. W., & Tsai, M. H. (2025). Effect of dietary glycemic index on insulin resistance in adults without diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Nutrition*, 12: 1458353. <https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1458353>

2026 TECNOCIENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Caracterización fisicoquímica y nutracéutica de galletas enriquecidas con amaranto germinado-extrudido

Physicochemical and nutraceutical characterization of enriched cookies with germinated-extruded amaranth

Evelia María Milán-Noris^{1,2}, Perla Guadalupe Araujo-Tellez¹, Jorge Milán-Carrillo^{1,3}, Alvaro Montoya-Rodríguez^{1,2} y Ada Keila Milán-Noris^{1,2,3*}

¹ Laboratorio de Nutraceuticos (18). Facultad de Ciencias Químico Biológicas (FCQB). Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS). Blv. de las Américas y Josefa Ortiz de Domínguez, S/N, Culiacán Sinaloa México.

² Posgrado en Ciencias de la Nutrición y Alimentos Medicinales. UAS. Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía, Av. Cedros S/N, Culiacán, Sinaloa México.

³ Programa integral para el Posgrado en Biotecnología. FCQB-UAS. Ciudad Universitaria, AP 1354, C.P. 80000, Culiacán, Sinaloa, México

*Correspondencia: Correo electrónico: keilamilan@uas.edu.mx (Ada Keila Milán-Noris)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v20i1.2171>

Recibido: 12 de diciembre de 2025; Aceptado: 14 de mayo de 2026

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editor de Sección: Dr. Armando Quintero-Ramos

Resumen

El amaranto posee buenas características nutricionales, nutracéuticas y además es libre de gluten, lo que lo hace interesante para ser incorporado en la industria alimentaria. Procesamientos como la extrusión y germinación modifican las características bioquímicas del amaranto. El objetivo de esta investigación fue caracterizar las propiedades fisicoquímicas, nutricionales y nutracéuticas en galletas de amaranto crudo, germinado, extrudido y germinado-extrudido. Las galletas se elaboraron con solo amaranto (100 %) o suplementadas con trigo (50 %). Se determinó composición proximal, color, actividad de agua (aw), compuestos fenólicos totales (CFT), capacidad antioxidante (CAoX) y digestión de proteína in vitro. La suplementación con amaranto procesado (germinado y extrudido 50 %) produjo cambios ($p < 0.05$) en el color de las galletas y se mantuvo la aw en niveles adecuados, donde se evita el crecimiento de microorganismos. Las galletas con amaranto presentaron valores más altos en el contenido de proteína (1.06 a 1.26 veces más), CFT (1.50 a 10 veces más) y CAoX (1.32 a 9.0 veces más), comparado con la galleta de trigo. La galleta con 100 % amaranto germinado (GAG100) tuvo los valores más altos de CFT y CAoX. La digestión de proteína de las galletas fue mejor en la galleta con amaranto extrudido suplementada con trigo al 50 % (GAET50). En conclusión, el amaranto procesado, tanto extrudido como germinado o ambos en

conjunto, resulta un ingrediente muy interesante para el desarrollo de galletas funcionales o libres de gluten.

Palabras clave: galletas, atributos fisicoquímicos, alimentos funcionales, germinación, extrusión.

Abstract

Amaranth has a high potential to be incorporated into the food industry due to its nutritional value, its nutraceutical characteristics and it is a gluten-free grain. Processing methods as extrusion and germination modify its biochemical characteristics. The aim of this work was to characterize the physicochemical, nutritional and nutraceutical properties of cookies of raw, extruded, germinated and germinated-extruded amaranth. The cookies were manufactured only with amaranth (100 %) or supplemented (50 %) with wheat. Proximate composition, color, water activity, total phenolic content (CFT), antioxidant capacity (CAoX) and in vitro protein digestibility were determined. The supplementation with processed amaranth (germinated and extruded at 50 %) produced changes ($p < 0.05$) in cookies color and water activity was maintained at adequate levels to prevent the growth of microorganism. The cookies with amaranth showed higher values in protein content (1.06 to 1.26 times plus), CFT (1.50 to 10 times plus) and CAoX (1.32 to 9.0 times plus), compared to control wheat cookie. The cookie of germinated amaranth (GAG100) has the highest CFT and CAoX levels. The cookie of extruded amaranth, supplemented with wheat at 50 % (GAET50) showed the best in vitro protein digestion value among cookies. In conclusion, processed amaranth, extruded, germinated or extruded-germinated, is a very interesting ingredient for the development of functional foods or gluten free cookies.

Keywords: cookies, physicochemical attributes, functional foods, germination, extrusion.

1. Introducción

Alrededor del mundo, los productos horneados como las galletas, son alimentos básicos que se distinguen por aportar un contenido energético alto y ser de baja humedad, lo que incrementa su vida de anaquel en comparación con otros alimentos (Díaz y Hernández, 2012). Hoy en día, la sociedad se caracteriza por una alimentación con alto consumo de alimentos con bajo valor nutricional, los cuales poseen grandes cantidades de grasas saturadas, azúcares refinados, aditivos, conservadores y presentan un alto contenido calórico (Hall, 2016). Las galletas son un tipo de producto con bastante aceptación en diferentes grupos de edades, ya que son bocadillos elaborados mayoritariamente a base de harina de trigo obtenidas mediante el proceso de cocción en horno. Estos productos presentan variaciones en su composición nutricional, lo cual está relacionado con la materia prima utilizada, por lo que incorporar ingredientes ricos en proteínas, antioxidantes y fibra (Martínez et al., 2017), aporta ventajas marcadas sobre las galletas convencionales caracterizadas por altos contenidos de azúcares y grasas.

Dichas ventajas dependerán directamente del grano a utilizar como base para la elaboración de galletas (como lo es el trigo y amaranto), ya que estas ventajas en componentes nutrimentales o nutraceuticos son inherentes a la materia prima desde su producción, hasta su consumo final. En el caso del amaranto, un grano popular desde las civilizaciones azteca, maya e inca, su potencial como

cultivo está basado en diferentes factores como su capacidad para crecer en diversas áreas con buenos rendimientos, su resistencia a las plagas, temperaturas altas y sequías, junto con su composición química atractiva y su alto valor nutricional en comparación con otros granos (Bressani, 1994). Dichas características hacen del amaranto un cultivo prometedor, ya que se puede producir en condiciones climáticas variables, haciéndolo una opción favorable para la producción y consumo en áreas marginadas del país. Además, puede ser incluido en una amplia gama de productos tales como granola, productos panificados, pastas y los alimentos extrudidos. Asimismo, su potencial uso como concentrado proteico y en la elaboración de barras energéticas y alimentos funcionales y nutricionales diseñados para mejorar la salud (Luis et al., 2018).

El amaranto es una de las fuentes más importantes de proteína vegetal, con un contenido proteico superior al de los cereales comunes (13 a 19 %), destacando principalmente por su buen balance de aminoácidos esenciales, por lo que su proteína es de una calidad excepcionalmente alta, particularmente por el contenido de lisina, el cual es aminoácido limitante en cereales como el maíz, trigo y arroz (Montoya-Rodríguez et al., 2015a). La proteína de amaranto también es relativamente rica en aminoácidos azufrados, los cuales son aminoácidos limitantes en las leguminosas (Segura-Nieto et al., 1994). Aunado a esto, el grano de amaranto está reconocido como alimento libre de gluten, siendo apto para consumo en pacientes con enfermedad celiaca (Mlakar et al., 2009). El amaranto es fuente rica de fibra soluble e insoluble, vitaminas y minerales, así como metabolitos secundarios como compuestos fenólicos y pigmentos tales como las betacianinas (Alegbejo, 2014; Miguel, 2018). Debido a sus cualidades nutricionales y nutraceuticas, se le ha atribuido al amaranto un potencial efecto benéfico a la salud, ya que se ha documentado tener actividad antioxidante, antiinflamatoria, anti aterosclerótica, entre otras (Montoya-Rodríguez et al., 2014a; Montoya-Rodríguez et al., 2014b; Suárez et al., 2016; Aragón-Gutiérrez et al., 2018).

Hoy en día, las necesidades de la sociedad radican en el interés por alimentos que aporten un efecto benéfico a la salud, encontrando una creciente preocupación por la conexión entre el estado de salud personal y el tipo de alimentación que se posee (Alvídrez-Morales et al., 2002). En este sentido, la adición de harina de amaranto en productos reposteros como las galletas, representa una opción para crear alimentos funcionales que ofrecen beneficios a la salud (Cavieres et al., 2016). La obtención de las harinas y mejora de sus propiedades puede lograrse mediante procesos complementarios como la germinación y la extrusión. Se ha reportado que el proceso de germinación produce un incremento en las propiedades nutraceuticas del amaranto, al liberar compuestos con potencial actividad antioxidante, pasando de 2.13 a 12.6 mmol equivalentes de Trolox por 100 g base seca (mmol ET/100 g, b. s.) para amaranto sin procesar y amaranto germinado, respectivamente (Perales-Sánchez et al., 2014; Chauhan et al., 2015).

Por otro lado, se ha documentado que el proceso de extrusión incrementa el potencial biológico del amaranto, al liberar péptidos con actividad biológica, aumentando la inhibición de marcadores pro-ateroscleróticos de un 0 % a un 27 % para amaranto sin procesar y amaranto extrudido, respectivamente (Montoya-Rodríguez et al., 2014b). El proceso de germinación, seguido del proceso de extrusión es una alternativa para producir una harina con potencial uso en la elaboración de productos de panificación, ya que dicha combinación de procesos ha mostrado que incrementa propiedades nutraceuticas y nutricionales de las harinas obtenidas (Madrigales-Reátiga et al., 2024). El reemplazo de cereales comunes con harinas germinadas-extrudidas de forma parcial o total podría representar una alternativa para el elaborar alimentos funcionales novedosos.

El objetivo de esta investigación fue caracterizar las propiedades fisicoquímicas, nutricionales y nutraceuticas de galletas de amaranto crudo, germinado, extrudido y germinado-extrudido. Las galletas elaboradas fueron de amaranto crudo, extrudido, germinado y germinado-extrudido al 100 %; así como también galletas de amaranto crudo, extrudido, germinado y germinado-extrudido suplementadas con 50 % de trigo.

2. Materiales y métodos

2.1 Materiales

Se utilizó amaranto con buenas características agronómicas, cosechado en 2022 en Temoac, Morelos, México. Los granos, después de su recolección, fueron limpiados y almacenados en recipientes herméticos (-20 °C) hasta su utilización. Los ingredientes para las galletas y la harina de trigo se compraron en un mercado local.

2.2 Métodos

2.2.1 Germinación y extrusión

Para germinar el amaranto se utilizó la metodología descrita por Sandoval-Sicairos et al., (2020). Las semillas se germinaron 78 h en periodos de luz/oscuridad (12 h/12 h) a 30 °C y 80 % de humedad relativa en una cámara de germinación (Percival Scientific DR36VL, Geneva Scientific Lab Equipment Solutions). Las muestras se secaron en un deshidratador a 55 °C por 24 h. Mientras que el proceso de extrusión se llevó a cabo de acuerdo con lo reportado por Montoya-Rodríguez (2011). La harina de amaranto sin procesar y germinado se sometieron a extrusión con las siguientes condiciones: humedad 28 %, temperatura de extrusión 105 °C y velocidad de tornillo 242 rpm, en un extrusor de tornillo simple Modelo 20 DN (CW Brabender Instruments, Inc., NJ, EUA) con un diámetro de tornillo de 19 mm longitud-diámetro 20:1, compresión nominal 2:1, utilizando un dado de salida de 3 mm y una velocidad de alimentación de 30 rpm. Las muestras de amaranto sin procesar, germinado, extrudido y germinado-extrudido se sometieron a molienda (UD Cyclone Sample Mill, UD Corp, Boulder, CO, EUA) hasta pasar a través de malla 80 (0.180 mm), las harinas obtenidas se empacaron en bolsas polietileno y se almacenaron a 4 °C hasta su utilización.

2.2.2 Elaboración de galletas

Las galletas se elaboraron de acuerdo con lo descrito por Mudgil et al. (2017) con ligeras modificaciones. La formulación base se muestra en la Tabla 1. Para iniciar, se pesaron todos los ingredientes. Después, en un recipiente se mezclaron los ingredientes secos, las harinas (de trigo, amaranto o las mezclas), polvo para hornear y sal. En otro recipiente se colocó la mantequilla y manteca vegetal con un huevo previamente batido y se agitó con la batidora (KitchenAid® 4.7 L, KSM150PSJP) mientras se añadía el azúcar, una vez mezclados, los ingredientes secos se fueron incorporados poco a poco a la mezcla. La masa ya preparada se colocó y se extendió en papel encerado. La masa estirada se cortó utilizando un molde de galletas (4 cm de diámetro) para dar

forma. Las galletas se colocaron en charolas (38 x 25 cm) y se hornearon por 10 min a 185 °C en horno convencional estufa MABE® previamente calentado, posteriormente las galletas se enfriaron a temperatura ambiente. Las galletas resultantes tuvieron un grosor de 0.51 a 0.62 cm y diámetro de 3.19 a 3.74 cm. Se elaboraron 30 galletas de cada grupo por duplicado para análisis posteriores.

Tabla 1. Formulación base de las galletas.

Table 1. Cookies formulation

Ingrediente (%)	GT	GACT 50	GAET 50	GAGT 50	GAGET 50	GAC 100	GAE 100	GAG 100	GAGE 100
Harina de trigo	53.5	26.75	26.75	26.75	26.75				
Harina de amaranto		26.75	26.75	26.75	26.75	53.5	53.5	53.5	53.5
Huevo	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Polvo de hornear	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Mantequilla	13	13	13	13	13	13	13	13	13
Manteca vegetal	13	13	13	13	13	13	13	13	13
Sal	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Azúcar	15	15	15	15	15	15	15	15	15

GT. Galleta control de trigo. GACT50. Galleta de trigo con amaranto crudo (50:50 p/p). GAET50. Galleta de trigo con amaranto extrudido (50:50 p/p). GAGT50. Galleta de trigo con amaranto germinado (50:50 p/p). GAGET50. Galleta de trigo con amaranto germinado extrudido (50:50 p/p). GAC100. Galleta de amaranto crudo. GAE100. Galleta de amaranto extrudido. GAG100. Galleta de amaranto germinado. GAGE100. Galleta de amaranto germinado extrudido.

GT. Control cookies of wheat. GACT50. Wheat cookie added with raw amaranth (50:50 w/w). GAET50. Wheat cookie added with extruded amaranth (50:50 w/w). GAGT50. Wheat cookie added with germinated amaranth (50:50 w/w). GAGET50. Wheat cookie added with germinated-extruded amaranth (50:50 w/w). GAC100. Raw amaranth cookie. GAE100. Extruded amaranth cookie. GAG100. Germinated amaranth cookie. GAGE100. Germinated-extruded amaranth cookie.

2.3 Propiedades fisicoquímicas

La actividad de agua (a_w) fue determinada utilizando un medidor de actividad de agua Aqua Lab Serie 3B (Decagono, Devices Inc, Pullman, WA, EUA). La lectura se realizó en 10 galletas de cada grupo (Shafi et al., 2016) por triplicado. El color se determinó utilizando un colorímetro Minolta (CR-400, Minolta LTD, Japón) usando el sistema de color CIE- $L^*a^*b^*$ (CIE-Lab). Se registraron los valores de color (L^* , a^* y b^*) de 25 galletas de cada grupo por triplicado (Kaderides et al., 2020). La diferencia total de color (ΔE) se calculó comparando con la galleta de trigo utilizando un mosaico blanco (Kaderides et al., 2020), aplicando la ecuación (Ec. 1):

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad \text{Ec. (1)}$$

Por otra parte, se calcularon el ángulo de color (H) y croma (C) usando las ecuaciones (Ecs. 2-4):

$$H = \arctan \frac{b^*}{a^*} \quad \text{Ec. (2)}$$

si $a^* < 0$ y $b^* > 0$ entonces

$$H = 180 + \arctan \frac{b^*}{a^*} \quad \text{Ec. (3)}$$

$$C = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{Ec. (4)}$$

2.4 Análisis proximal

Se utilizaron los siguientes métodos de la AOAC (1999) para la determinación de la composición proximal: secado a 105 °C durante 24 h, para determinar la humedad (Método 925.09 B); incineración a 550 °C, para cenizas (Método 923.03); desgrasado en aparato Soxhlet con éter de petróleo para lípidos (Método 920.39 C); microKjeldahl para proteína (Método 960.52). Se usó el Kit de ensayo Megazyme [Total Starch Assay Kit (AA/AMG)] para medir el contenido de almidón total. La absorbancia se midió a 510 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Visible (Thermo Scientific 201 Evolution, Multiskan GO, Madison, EUA) (Cornejo et al., 2019). Todas las evaluaciones se realizaron por triplicado y la determinación de otros carbohidratos se realizó por diferencia, de acuerdo con la ecuación (Ec. 5):

$$\text{Otros carbohidratos (\%)} = 100 - (\text{proteína} + \text{grasas} + \text{humedad} + \text{cenizas} + \text{almidón}) \quad \text{Ec. (5)}$$

El contenido de carbohidratos se presentó como otros carbohidratos, indicando la presencia de azúcares libres y fibra que podrían estar presente en las galletas dado que el contenido de almidón fue cuantificado.

2.5 Evaluación nutricional y nutraceutica

El contenido de fenólicos totales se determinó utilizando el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999), el cual se basa en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo de Folin-Ciocalteu, que consiste en una mezcla de ácido fosfomolibdico y ácido fosfotúngstico y los resultados se expresaron como µg equivalentes de ácido gálico por g de muestra en base seca (µg EAG/g bs). Para la determinación de la CAoX se prepararon extractos metanólicos siguiendo la metodología descrita por Milán-Noris et al. (2018). Para la medición de la CAoX se utilizó el método de decoloración del catión radical ABTS propuesto por Re et al. (1999), con las modificaciones de Quintero-Soto et al. (2021), y los datos fueron expresados como µmol equivalentes de trolox por 100 g de muestra en base seca (µmol ET/100 g, b. s.). Para la digestibilidad proteínica *in vitro*, se utilizó el método de caída de pH de Hsu et al. (1997) con algunas modificaciones, descrito por Tinus et al. (2012). Donde se utilizan las siguientes enzimas para la digestión: Quimiotripsina (C4129, alfa-quimiotripsina de páncreas bovino tipo II), tripsina (T0303, tripsina de páncreas porcino tipo IX-S) y proteasa (P5147, proteasa de *Streptomyces griseus* Tipo XIV) (Sigma-Aldrich). El porcentaje de digestibilidad de proteína (% DPIV) se calculó usando la ecuación (Ec. 6):

$$\% \text{ DPIV} = 65.66 + 18.10 (\Delta pH_{10min}) \quad \text{Ec. (6)}$$

Todas las evaluaciones, tanto de CFT, CAoX y DPIV se llevaron a cabo por triplicado.

2.6 Análisis estadístico

Se realizó un ANOVA de una sola vía y el análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el software JMP 14 utilizando la prueba de Tukey para comparación de medias con un valor de significancia de $p < 0.05$. Se consideraron como variables independientes el tipo de proceso y el porcentaje de suplementación, siendo las variables de dependientes las propiedades fisicoquímicas, la composición proximal, el % DPIV, el CFT y la CAoX.

3. Resultados y discusión

En la Tabla 2 se muestran los valores de a_w y color de las galletas. Los valores de a_w van en un rango entre 0.38 a 0.69 siendo la GAET50 la que presentó el valor más bajo, lo cual se podría explicar debido a que la extrusión al utilizar condiciones de temperatura y presión altas causa la evaporación del agua (Makowska et al., 2014; Shelar y Gaikwad, 2019). Mientras que en las galletas adicionadas con harina de amaranto germinada no se observa un cambio en el contenido de a_w con respecto a la harina de amaranto sin procesar. Resultados similares a lo reportado por Ramos-Pacheco et al. (2024) en quinoa germinada quienes reportaron valores de 0.23 y 0.24 para quinoa cruda y quinoa germinada, respectivamente. El proceso de germinación al mantener hidratada la muestra, mantiene los valores de a_w , contrario al efecto causado por el proceso de extrusión, ya que se utilizan alta temperatura y presión. Valores de a_w debajo de 0.75 se consideran valores aceptables para la prevención del crecimiento de microorganismos (Jan et al., 2017). Sin embargo, de acuerdo con Fontana (2000), valores bajos de a_w podría ocasionar una rápida oxidación de los lípidos presentes, comprometiendo la vida útil de los productos. La a_w de las galletas evaluadas se encuentra por debajo de los límites para bacterias (0.90), levaduras (0.85 – 0.88) y mohos (0.80) perjudiciales (Inglett et al., 2015). La a_w además de indicar riesgos microbiológicos, tiene un papel importante en la textura de los alimentos, asociando a los productos con baja a_w de presentar una textura crujiente (Carter et al., 2015).

Los valores de color se muestran en la Tabla 2. Los valores de a^* y b^* variaron de 1.17 a 5.01 y 11.67 a 14.53, respectivamente. Se observó que al mezclar amaranto crudo, extrudido, germinado y germinado-extrudido, el valor de a^* incrementó y se atribuye a la incorporación de amaranto en la formulación, como lo reportó Shukla et al. (2020), quienes observaron incrementos de a^* con el incremento de la cantidad de amaranto. Mientras que el valor de b^* también incrementó al añadir amaranto crudo, extrudido, germinado y germinado-extrudido a la formulación. Inglet et al. (2015), reportaron un decremento en b^* , atribuido a la formulación de galletas, lo cual es diferente a lo encontrado en este trabajo, lo cual está ligado a los ingredientes para elaborar las galletas. El valor de L^* ($p < 0.05$) varió significativamente con la adición de amaranto, lo cual generó galletas más oscuras. Cambios similares han sido reportados previamente en galletas de amaranto-avena, amaranto-trigo y amaranto-arroz, donde el incremento en harina de amaranto disminuyó la luminosidad de las galletas (Inglet et al., 2015; Chauhan et al., 2016; Shukla et al., 2020).

Tabla 2. Actividad de agua y color de las galletas de trigo y galletas de amaranto procesado**Table 2.** Water activity and color of wheat and processed amaranth cookies

Galletas	a_w	a^*	b^*	Color			
				L^*	H	C	ΔE
GT	0.45±0.013 ^c	-0.21±0.02 ⁱ	13.12±0.12 ^d	46.39±0.26 ^b	90.90±0.08 ^a	13.13±0.12 ^{ef}	0.23±0.14 ^h
GACT50	0.69±0.005 ^a	-0.02±0.03 ^h	14.53±0.08 ^a	50.56±0.37 ^a	90.13±0.13 ^b	14.53±0.08 ^b	4.41±0.37 ^f
GAET50	0.38±0.002 ^f	1.89±0.13 ^e	13.57±0.29 ^{cd}	40.75±0.65 ^d	82.06±0.56 ^e	13.70±0.28 ^{cd}	6.04±0.57 ^e
GAGT50	0.69±0.002 ^a	2.98±0.05 ^d	13.79±0.13 ^{bc}	42.69±0.54 ^c	77.79±0.20 ^f	14.11±0.13 ^{bc}	4.94±0.39 ^f
GAGET50	0.41±0.002 ^e	5.01±0.01 ^a	14.26±0.10 ^{ab}	37.90±0.16 ^e	70.65±0.14 ^h	15.11±0.09 ^a	10.02±0.1 ^c
GAC100	0.69±0.001 ^a	1.17±0.08 ^g	13.74±0.13 ^c	43.82±0.28 ^c	85.15±0.29 ^c	13.79±0.13 ^{cd}	2.98±0.18 ^g
GAE100	0.53±0.001 ^b	1.64±0.04 ^f	13.45±0.58 ^{cd}	38.94±1.41 ^e	83.04±0.25 ^d	13.55±0.58 ^{de}	7.71±1.28 ^d
GAG100	0.69±0.002 ^a	3.29±0.07 ^c	12.61±0.10 ^e	33.95±0.20 ^f	75.38±0.19 ^g	13.03±0.11 ^f	12.92±0.1 ^b
GAGE100	0.42±0.005 ^d	4.25±0.10 ^b	11.67±0.23 ^f	31.31±0.36 ^g	69.97±0.16 ⁱ	12.42±0.25 ^g	15.78±0.3 ^a

GT. Galleta control de trigo. GACT50. Galleta de trigo con amaranto crudo (50:50 p/p). GAET50. Galleta de trigo con amaranto extrudido (50:50 p/p). GAGT50. Galleta de trigo con amaranto germinado (50:50 p/p). GAGET50. Galleta de trigo con amaranto germinado extrudido (50:50 p/p). GAC100. Galleta de amaranto crudo. GAE100. Galleta de amaranto extrudido. GAG100. Galleta de amaranto germinado. GAGE100. Galleta de amaranto germinado extrudido. Los valores representan las medias ± la desviación estándar. Medias con letras diferentes por columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

GT. Control cookies of wheat. GACT50. Wheat cookie added with raw amaranth (50:50 w/w). GAET50. Wheat cookie added with extruded amaranth (50:50 w/w). GAGT50. Wheat cookie added with germinated amaranth (50:50 w/w). GAGET50. Wheat cookie added with germinated-extruded amaranth (50:50 w/w). GAC100. Raw amaranth cookie. GAE100. Extruded amaranth cookie. GAG100. Germinated amaranth cookie. GAGE100. Germinated-extruded amaranth cookie.

En la Fig. 1, se pueden observar las distintas galletas elaboradas, así como la apariencia y el color de cada una de ellas. El color de una galleta es el factor principal que afecta su aceptabilidad para consumo en el mercado (Al-Tarifi et al., 2020). La diferencia total de color (ΔE), se calculó tomando como referencia un mosaico blanco y se compararon todas las galletas con respecto a la GT. Los valores de ΔE fueron diferentes entre todas las galletas ($p < 0.05$), siendo las galletas GAG100 y GAGE100 las que presentaron mayores diferencias con respecto a la GT. El aumento de ΔE , marca la diferencia entre la muestra y el control, observándose una muestra más oscura cuando el ΔE es alto, y en este caso, este resultado está ligado con la disminución de L^* (pérdida de luminosidad), lo cual puede ser explicado que durante el proceso de extrusión puede ocurrir caramelización o reacciones de Maillard.

Este tipo de reacciones también se presentan en el proceso de germinación, ya que, al hidrolizarse las proteínas y el almidón, facilita la aparición de reacciones de Maillard, lo cual repercute en la apariencia (Menegassi et al., 2011; Nayak et al., 2011; Chauhan et al., 2016; Sánchez-Osuna et al., 2018). Los valores de C variaron de 12.42 a 15.11 lo que indica la saturación de color, es decir, las galletas presentaron mayor intensidad en color. Mientras que los valores de H variaron de 69.97 a 90.90, los cuales son valores cercanos al amarillo ($H=90$) (McGuire, 1992).

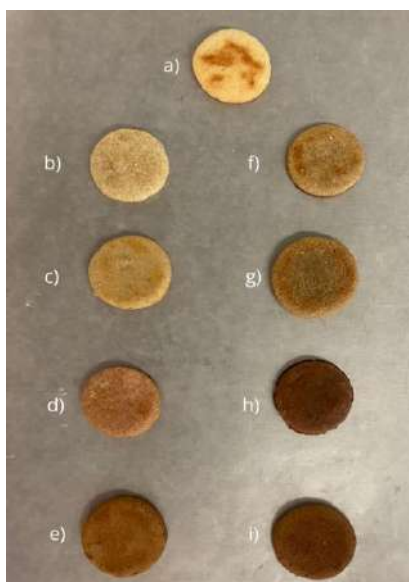


Figura 1. Apariencia de las galletas. GT. Galleta control de trigo (a). GACT50. Galleta de trigo con amaranto crudo (50:50 p/p) (b). GAET50. Galleta de trigo con amaranto extrudido (50:50 p/p) (c). GAGT50. Galleta de trigo con amaranto germinado (50:50 p/p) (d). GAGET50. Galleta de trigo con amaranto germinado extrudido (50:50 p/p) (e). GAC100. Galleta de amaranto crudo (f). GAE100. Galleta de amaranto extrudido (g). GAG100. Galleta de amaranto germinado (h). GAGE100. Galleta de amaranto germinado extrudido (i).

Figure 1. Cookies appearance. GT. Control cookies of wheat (a). GACT50. Wheat cookie added with raw amaranth (50:50 w/w) (b). GAET50. Wheat cookie added with extruded amaranth (50:50 w/w) (c). GAGT50. Wheat cookie added with germinated amaranth (50:50 w/w) (d). GAGET50. Wheat cookie added with germinated-extruded amaranth (50:50 w/w) (e). GAC100. Raw amaranth cookie (f). GAE100. Extruded amaranth cookie (g). GAG100. Germinated amaranth cookie (h). GAGE100. Germinated-extruded amaranth cookie (i).

3.2 Composición proximal

En la Tabla 3 se muestra la composición proximal de las galletas elaboradas. El proceso de germinación, así como la combinación de germinación-extrusión incrementó el contenido de proteína y esto puede deberse a la actividad enzimática durante este bioproceso, donde se digiere el almidón, liberando proteínas empaquetadas en la estructura de la semilla (Thakur et al., 2021), a la síntesis de proteínas (Uwaegbute et al., 2000; Chaparro-Rojas et al., 2010; Chauhan et al., 2015) o la descomposición de los componentes peptídicos en aminoácidos por proteasas, resultando en un mayor contenido de proteína en los germinados (Narsih et al., 2012). La galleta con menor porcentaje de proteína fue la GT ($p < 0.05$) comparada con el resto de las galletas, observándose un incremento significativo ($p < 0.05$) al incorporar harina de amaranto, debido a que el amaranto posee más proteína que el trigo. Las galletas adicionadas con amaranto germinado o germinado-extrudido presentaron valores más altos ($p < 0.05$) de contenido de proteína, siendo la GAG100 la de mayor contenido de proteína. La combinación de procesos, así como la germinación sola, tuvieron un efecto positivo al incrementar el contenido de proteína de las harinas usadas en las formulaciones de las galletas.

Los resultados de contenido de cenizas de las galletas se observan en la Tabla 3. Este parámetro fue mayor en las galletas suplementadas con amaranto y las elaboradas solo de amaranto, debido a que el amaranto presenta mayor contenido de minerales que el trigo (Rastogi y Shukla, 2013). Las galletas

que contienen harina de amaranto germinado muestran un contenido de cenizas más alto, lo que coincide con lo reportado por Chauhan et al. (2015) quienes observaron que la harina de amaranto germinado mostró un contenido más alto de cenizas en comparación con la de amaranto crudo. Los resultados de las galletas con harina germinada coinciden con lo reportado por Guardianelli et al. (2019), quienes observaron un aumento en el contenido de proteína (de 14.4 a 15.5 %) y cenizas (de 2.71 a 3.11 %) al comparar con galleta control. Estos resultados indican buena presencia de minerales en las galletas elaboradas suplementadas con amaranto procesado (germinado, germinado-extrudido).

Tabla 3. Composición química de las galletas de trigo y de amaranto procesado

Table 3. Chemical composition of wheat and processed amaranth cookies

Galletas	Proteína (%)	Cenizas (%)	Lípidos (%)	Almidón (%)	Otros carbohidratos (%)
GT	7.98 ± 0.26 ^d	0.89 ± 0.01 ^d	27.06 ± 0.69 ^a	51.89 ± 2.64 ^a	14.23 ± 0.80 ^d
GACT50	8.92 ± 0.08 ^b	1.50 ± 0.01 ^{cd}	26.72 ± 0.13 ^{ab}	45.64 ± 0.81 ^c	16.23 ± 0.13 ^{bcd}
GAET50	8.49 ± 0.04 ^c	1.61 ± 0.18 ^{bcd}	26.28 ± 0.03 ^{ab}	50.4 ± 0.53 ^{ab}	15.42 ± 0.05 ^{cd}
GAGT50	9.07 ± 0.03 ^b	1.77 ± 0.06 ^{bc}	26.52 ± 0.09 ^{ab}	46.86 ± 3.34 ^{bc}	16.83 ± 0.01 ^{bc}
GAGET50	9.02 ± 0.19 ^b	1.71 ± 0.09 ^{bc}	27.26 ± 0.02 ^a	48.06 ± 0.93 ^{abc}	16.60 ± 0.76 ^{bcd}
GAC100	9.21 ± 0.23 ^b	2.11 ± 0.49 ^{abc}	26.71 ± 0.59 ^{ab}	45.23 ± 1.32 ^c	15.28 ± 0.91 ^{cd}
GAE100	9.14 ± 0.03 ^b	2.31 ± 0.08 ^{ab}	22.32 ± 0.78 ^c	48.54 ± 1.77 ^{abc}	18.47 ± 1.00 ^b
GAG100	10.09 ± 0.00 ^a	2.54 ± 0.05 ^a	25.42 ± 0.12 ^b	36.65 ± 1.33 ^d	24.90 ± 0.37 ^a
GAGE100	9.82 ± 0.00 ^a	2.50 ± 0.09 ^a	23.15 ± 0.21 ^c	39.65 ± 0.50 ^d	26.25 ± 0.26 ^a

GT. Galleta control de trigo. GACT50. Galleta de trigo con amaranto crudo (50:50 p/p). GAET50. Galleta de trigo con amaranto extrudido (50:50 p/p). GAGT50. Galleta de trigo con amaranto germinado (50:50 p/p). GAGET50. Galleta de trigo con amaranto germinado extrudido (50:50 p/p). GAC100. Galleta de amaranto crudo. GAE100. Galleta de amaranto extrudido. GAG100. Galleta de amaranto germinado. GAGE100. Galleta de amaranto germinado extrudido. Los valores representan las medias ± la desviación estándar. Medias con letras diferentes por columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

GT. Control cookies of wheat. GACT50. Wheat cookie added with raw amaranth (50:50 w/w). GAET50. Wheat cookie added with extruded amaranth (50:50 w/w). GAGT50. Wheat cookie added with germinated amaranth (50:50 w/w). GAGET50. Wheat cookie added with germinated-extruded amaranth (50:50 w/w). GAC100. Raw amaranth cookie. GAE100. Extruded amaranth cookie. GAG100. Germinated amaranth cookie. GAGE100. Germinated-extruded amaranth cookie.

Por otro lado, el contenido de lípidos fue menor ($p < 0.05$) en galletas de amaranto extrudido (GAE100) y geminado-extrudido (GAGE100). Esto podría deberse a que, durante el proceso de extrusión, la temperatura y velocidad de tornillo causan una posible degradación de los lípidos, además de que los ácidos grasos pueden formar complejos con la amilosa, dificultando su cuantificación (Tovar-Hernández et al., 2017). El contenido de almidón disminuyó por la adición de amaranto, debido a que el amaranto posee menos almidón que el trigo (Singh y Liu, 2021). A pesar de esto no se encontraron diferencias significativas en el contenido de almidón en galletas con amaranto crudo (GACT50/GAC100).

Las galletas con amaranto germinado y germinado-extrudido mostraron los valores más bajos de almidón al compararse con las otras galletas. Estos resultados podrían explicarse por incrementos en la actividad de la α -amilasa durante la germinación, lo cual provoca una descomposición del gránulo de almidón (Thakur et al., 2021). Además, durante el proceso de extrusión el almidón se gelatiniza y con el trabajo mecánico se produce un aumento en la fragmentación del almidón mejorando su

digestibilidad, al igual que el cizallamiento del proceso puede ocasionar la retrogradación del almidón (Menegassi et al., 2011; Ye et al., 2018; Dupuis et al., 2014). La diferencia en el contenido de otros carbohidratos, es debido a que el análisis proximal (composición química) de las galletas fue diferente y los carbohidratos se calcularon por diferencia como se indicó en la ecuación (Ec. 5).

A pesar de que el amaranto suele tener más fibra que el trigo (Liu y Chen, 2023), solo las galletas suplementadas con amaranto germinado al 50 % (GAGT50) y las de amaranto extrudido (GAE100), germinado (GAG100) y geminado-extrudido (GAGE100) se observó una diferencia significativa. En algunos estudios se ha reportado el aumento de fibra por el proceso de extrusión y germinación (Gámez-Valdez et al., 2021; Thakur et al., 2021).

3.2 Capacidad nutracéutica y nutricional

3.2.1 Compuestos fenólicos totales (CFT)

La adición de amaranto procesado (extrudido, germinado y germinado-extrudido) a la formulación de las galletas incrementó el CFT entre 1.5 y 6.0 veces más al compararla con la galleta control de trigo (GT). Mientras que al compararla con las galletas de amaranto extrudido y amaranto germinado (100 %) incrementó 1.97 y 10.0 veces más el CFT, respectivamente (Fig. 2).

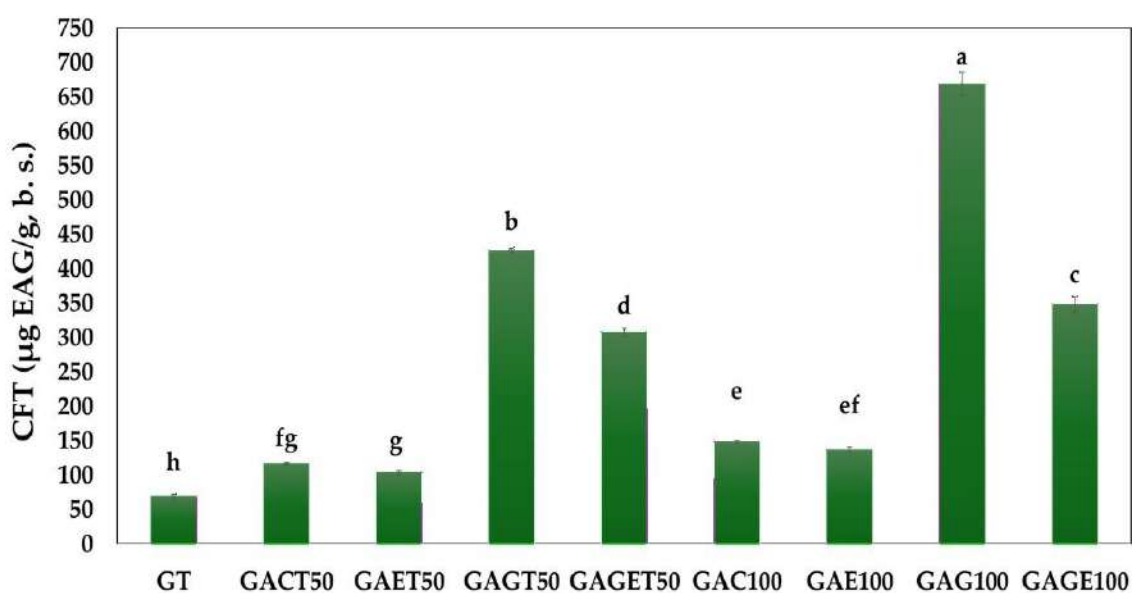


Figura 2. Contenido de compuestos fenólicos totales (μg EAG/g) en las galletas de amaranto procesado. CFT. Compuestos fenólicos totales. GT. Galleta control de trigo. GACT50. Galleta de trigo con amaranto crudo (50:50 p/p). GAET50. Galleta de trigo con amaranto extrudido (50:50 p/p). GAGT50. Galleta de trigo con amaranto germinado (50:50 p/p). GAGET50. Galleta de trigo con amaranto germinado extrudido (50:50 p/p). GAC100. Galleta de amaranto crudo. GAE100. Galleta de amaranto extrudido. GAG100. Galleta de amaranto germinado. GAGE100. Galleta de amaranto germinado extrudido.

Figure 2. Total phenolic compound content ($\mu\text{g GAE/g}$) in processed amaranth cookies. CFT. Total phenolic content GT. Control cookies of wheat. GACT50. Wheat cookie added with raw amaranth (50:50 w/w). GAET50. Wheat cookie added with extruded amaranth (50:50 w/w). GAGT50. Wheat cookie added with germinated amaranth (50:50 w/w). GAGET50. Wheat cookie added with germinated-extruded amaranth (50:50 w/w). GAC100. Raw amaranth cookie. GAE100. Extruded amaranth cookie. GAG100. Germinated amaranth cookie. GAGE100. Germinated-extruded amaranth cookie.

Por otro lado, las galletas con amaranto germinado (GAGT50 y GAG100) tuvieron los valores más altos de CFT ($p < 0.05$), presentando valores de 426.02 y 699.09 $\mu\text{g EAG/g b. s.}$, respectivamente. Perales-Sánchez et al. (2014) reportaron que el incremento de CFT en amaranto después de la germinación, está asociado a la activación de las enzimas que degradan la pared celular, provocando la liberación de los compuestos fenólicos. Además, se observó que el contenido de CFT disminuye ($p < 0.05$) en las galletas con amaranto germinado-extrudido (GAGET50 y GAGE100) al compararse con su contraparte germinada (GAGT50 y GAG100), lo cual se puede explicar debido a que la temperatura utilizada durante el proceso de extrusión causa degradación de compuestos fenólicos y la liberación de composiciones fenólicas unidas (Xu y Chang, 2008).

3.2.2 Capacidad antioxidante (CAoX)

En la Fig. 3 se observan los resultados de CAoX de las galletas de amaranto procesado. De las galletas suplementadas con amaranto procesado al 50 % (GAET50, GAGT50 y GAGET50), la galleta GAGT50 incrementó 2.64 veces más ($p < 0.05$) en CAoX con respecto a GT. Mientras que al comparar la GT con las galletas de amaranto procesado 100 % (GAE y GAG), la CAoX incrementó 2.0 y 9.0 veces más para GAE y GAG, respectivamente. Similar a lo observado con CFT, la CAoX disminuyó en galletas con amaranto germinado-extrudido (GAGET50, 755.77 $\mu\text{mol ET/100 g, b. s.}$ y GAGE100, 2324.37 $\mu\text{mol ET/100 g, b. s.}$) al compararse con su contraparte germinada (GAGT50, 1332.55 $\mu\text{mol ET/100 g, b. s.}$ y GAG100, 4537.83 $\mu\text{mol ET/100 g, b. s.}$), así como las galletas de amaranto extrudido (GAE100) comparado con galleta de amaranto crudo (GAC100). Esto se le puede atribuir a las reacciones de polimerización de compuestos fenólicos durante el procesamiento de extrusión, lo que los hace menos extraíbles, provocando que presenten una menor contribución a la actividad antioxidante cuantificable (Almirudis-Echeverría et al., 2020). Por su parte, el proceso de germinación (GAG100) incrementó la CAoX y se puede atribuir a los cambios metabólicos que se producen durante la germinación de las semillas, debido principalmente a un aumento en la actividad de la enzima hidrolítica endógena, tales como la enzima degradadora de pared celular y la fenilalanina amonio liasa (Perales-Sánchez et al., 2014; Chauhan et al., 2015). Esto se ve reflejado en la CAoX de las galletas con amaranto germinado como GAGT50, GAGE100 y GAG100, siendo ésta última la que presentó el valor más alto ($p < 0.05$), mostrando un valor de 4537.83 $\mu\text{mol ET/100 g, b. s.}$

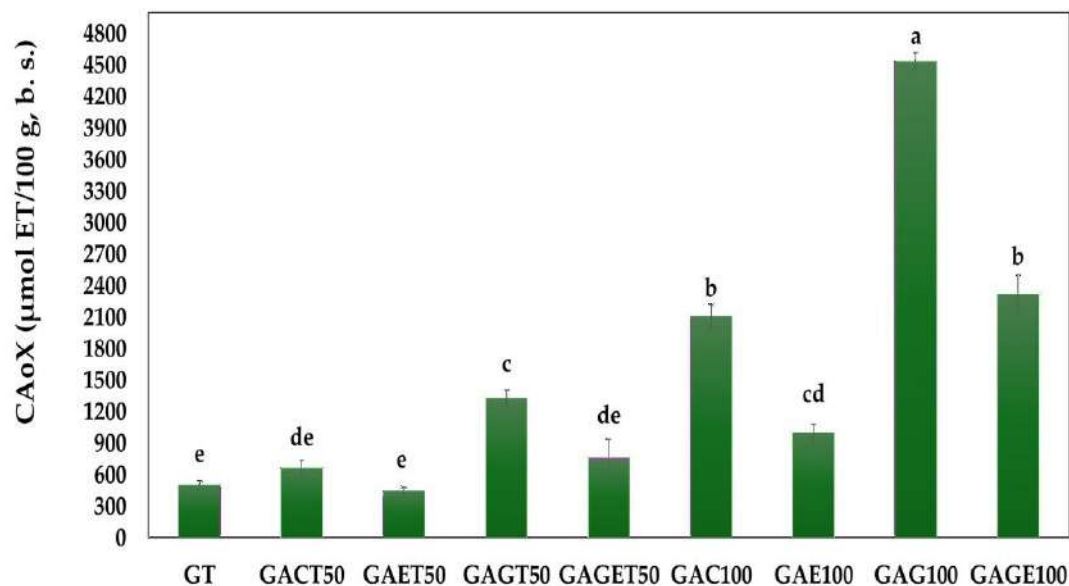


Figura 3. Capacidad antioxidante de las galletas de amaranto procesado. ABTS. Ensayo basado en cationes radicales 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico). GT. Galleta control de trigo. GACT50. Galleta de trigo con amaranto crudo (50:50 p/p). GAET50. Galleta de trigo con amaranto extrudido (50:50 p/p). GAGT50. Galleta de trigo con amaranto germinado (50:50 p/p). GAGET50. Galleta de trigo con amaranto germinado extrudido (50:50 p/p). GAC100. Galleta de amaranto crudo. GAE100. Galleta de amaranto extrudido. GAG100. Galleta de amaranto germinado. GAGE100. Galleta de amaranto germinado extrudido.

Figure 3. Antioxidant capacity of processed amaranth cookies. ABTS. Assay based on radicals' cations 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonic) GT. Control cookies of wheat. GACT50. Wheat cookie added with raw amaranth (50:50 w/w). GAET50. Wheat cookie added with extruded amaranth (50:50 w/w). GAGT50. Wheat cookie added with germinated amaranth (50:50 w/w). GAGET50. Wheat cookie added with germinated-extruded amaranth (50:50 w/w). GAC100. Raw amaranth cookie. GAE100. Extruded amaranth cookie. GAG100. Germinated amaranth cookie. GAGE100. Germinated-extruded amaranth cookie.

3.2.3 Digestibilidad proteínica *in vitro*

Los resultados de la digestibilidad proteínica *in vitro* (% DPIV) se muestran en la Tabla 4. La galleta GAET50 presentó el valor de % DPIV más alto, esto podría deberse a la complementariedad de los aminoácidos entre ambos granos (Poutanen et al., 2022) y a que durante el proceso de extrusión se pueden inactivar compuestos antinutricionales (ácido fítico, inhibidores de α -amilasa, taninos, saponinas) presentes en el amaranto crudo, lo que permite una mayor biodisponibilidad de las proteínas, así como para los minerales como el hierro, zinc y calcio, que se ven afectados por antinutrientes, sumado a la desnaturalización parcial de las proteínas por consecuencia del proceso (Olawoye y Gbadamosi, 2017; Almirudis-Echeverria et al., 2020).

Las galletas con amaranto germinado (GAGT50/GAG100) y germinado-extrudido (GAGE100) presentaron los valores más bajos de % DPIV con respecto a las galletas control (GT o GAC100). El proceso de germinación libera compuestos fenólicos los cuales podrían estar interfiriendo con la acción de las proteasas y disminuyendo la digestibilidad proteínica (Cirkovic-Velickoc y Stanic-Vucinic, 2018).

Tabla 4. Digestibilidad proteínica *in vitro* (% DPIV) de las galletas de amaranto procesado

Table 4. *In vitro* protein digestibility (% IVPD) of processed amaranth cookies

Galletas	DPIV (%)
GT	80.59 ± 0.38 ^{bc}
GACT50	79.24 ± 0.26 ^{bcd}
GAET50	83.76 ± 0.00 ^a
GAGT50	74.98 ± 0.13 ^f
GAGET50	78.51 ± 0.77 ^{cde}
GAC100	81.41 ± 0.77 ^{ab}
GAE100	81.05 ± 0.26 ^{bc}
GAG100	76.16 ± 1.54 ^{ef}
GAGE100	77.33 ± 0.13 ^{def}

GT. Galleta control de trigo. GACT50. Galleta de trigo con amaranto crudo (50:50 p/p). GAET50. Galleta de trigo con amaranto extrudido (50:50 p/p). GAGT50. Galleta de trigo con amaranto germinado (50:50 p/p). GAGET50. Galleta de trigo con amaranto germinado extrudido (50:50 p/p). GAC100. Galleta de amaranto crudo. GAE100. Galleta de amaranto extrudido. GAG100. Galleta de amaranto germinado. GAGE100. Galleta de amaranto germinado extrudido. Los valores representan las medias ± la desviación estándar. Medias con letras diferentes por columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

GT. Control cookies of wheat. GACT50. Wheat cookie added with raw amaranth (50:50 w/w). GAET50. Wheat cookie added with extruded amaranth (50:50 w/w). GAGT50. Wheat cookie added with germinated amaranth (50:50 w/w). GAGET50. Wheat cookie added with germinated-extruded amaranth (50:50 w/w). GAC100. Raw amaranth cookie. GAE100. Extruded amaranth cookie. GAG100. Germinated amaranth cookie. GAGE100. Germinated-extruded amaranth cookie.

4. Conclusiones

La suplementación de galletas de trigo con harina de amaranto germinado y harina de amaranto germinado-extrudido incrementó su contenido de proteínas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Se observaron los valores más altos para estos atributos en galletas elaboradas con amaranto germinado o germinado-extrudido. La digestibilidad proteínica fue mayor en galletas preparadas con amaranto extrudido y trigo al 50 % (GAET50), debido al proceso de extrusión y a la complementariedad de los granos en cuanto al contenido de aminoácidos. Por lo tanto, el amaranto procesado, ya sea extrudido, germinado o germinado-extrudido, es una interesante alternativa tecnológica y nutricional para desarrollar productos de panificación con potencial nutraceutico. Asimismo, su potencial aplicación para alimentos libres de gluten lo hace una alternativa para el desarrollo de alimentos para este nicho especializado de la industria alimentaria.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: A.K.M.N.; metodología: E.M.M.N.; investigación: A.M.R., P.G.A.T., A.K.M.N., E.M.M.N.; recursos: J.M.C.; redacción del borrador original: E.M.M.N., P.G.A.T., A.M.R., A.K.M.N.; redacción-revisión y edición: E.M.M.N., A.M.R., J.M.C., A.K.M.N.

Conflicto de interés

Los autores manifiestan que no tienen conflicto de interés con la publicación de los resultados de la revisión.

5. Referencias

- Alegbejo, J. (2014). Nutritional Value and Utilization of Amaranthus (Amaranthus spp.) – A Review. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 6(1), 136-143. <https://doi.org/10.4314/bajopas.v6i1.27>
- Almirudis-Echeverria, S. J., Ramírez-Wong, B., Medina-Rodríguez, C. L., Magaña-Barajas, E., Torres-Chávez, P. I., & Ledesma-Osuna, A. I. (2020). Actividad antioxidante de harinas de amaranto obtenidas por extrusión y análisis parcial de su calidad proteica in vivo. *Biotecnia*, 22(1), 24-31. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i1.1121>
- Al-Tarifi, B. Y., Mahmood, A., Assaw, S., & Sheikh, H. I. (2020). Application of astaxanthin and its lipid stability in bakery product. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 8(3), 962-974. <https://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.8.3.24>
- Alvídrez-Morales, A., González-Martínez, B. E., & Jiménez-Salas Z. (2002). Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. *Revista salud pública y Nutrición*, 3(3). <https://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/view/91>
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (1999). Official methods of analysis. 16th Edition, 5th Revision, Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Aragón-Gutiérrez, C., Ramírez-Valverde, B., Montero-Simó, M. J., Araque-Padilla, R. Á., & Pérez-Barea, J. J. (2018). Valoración por el consumidor de las características hedónicas, nutritivas y saludables del amaranto. *Entreciencias: diálogos en la sociedad del conocimiento*, 6(16), 1-14. <https://doi.org/10.22201/enesl.20078064e.2018.16.62956>
- Bressani, R. (1994). Composition and nutritional properties of amaranth. In: Paredes-Lopez, O. (Ed.) *Amaranth—Biology, Chemistry, and Technology* (pp. 185–206). London: CRC Press.
- Carter, B. P., Galloway, M. T., Campbell, G. S., & Carter, A. H. (2015). The critical water activity from dynamic dewpoint isotherms as an indicator of crispness in low moisture cookies. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 9(3), 463–470. <https://doi.org/10.1007/s11694-015-9254-3>
- Cavieres, E., Piñeira, M. B., & Negrete, C. (2016). Impacto de la incorporación de harina de amaranto en las propiedades físicas y sensoriales en galletas. *Contribuciones científicas y tecnológicas*, 41, 41-47. <https://revistaschilenas.uchile.cl/handle/2250/133274>
- Chaparro-Rojas, D. C., Pismag-Portilla, R. Y., Elizalde-Correa, A., Vivas-Quila, N. J., & Erazo-Cacedo C. A. (2010). Efecto de la germinación sobre el contenido y digestibilidad de proteína en semillas de amaranto, quinua, soya y guandul. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 9(1), 51-59. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=380878962008>

- Chauhan, A., Saxena, D. C., & Singh S. (2015). Total dietary fibre and antioxidant activity of gluten free cookies made from raw and germinated amaranth (*Amaranthus* spp.) flour. *LWT - Food Science and Technology*, 63(2), 939–945. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.115>
- Chauhan, A., Saxena, D. C., & Singh, S. (2016). Physical, textural, and sensory characteristics of wheat and amaranth flour blend cookies. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1125773>
- Cirkovic Velickovic, T. D., & Stanic-Vucinic, D. J. (2018). The Role of Dietary Phenolic Compounds in Protein Digestion and Processing Technologies to Improve Their Antinutritive Properties. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(1), 82-103. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1541-4337.12320>
- Cornejo, F., Novillo, G., Villacrés, E., & Rosell, C. M. (2019). Evaluation of the physicochemical and nutritional changes in two amaranth species (*Amaranthus quitensis* and *Amaranthus caudatus*) after germination. *Food Research International*, 121, 933-939. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.022>
- De la Barca, A. M. C., Rojas-Martínez, M. E., Islas-Rubio, A. R., & Cabrera-Chávez, F. (2010). Gluten-Free Breads and Cookies of Raw and Popped Amaranth Flours with Attractive Technological and Nutritional Qualities. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(3), 241–246. <https://doi.org/10.1007/s11130-010-0187-z>
- Desalegn, B. B. (2015). Effect of soaking and germination on proximate composition, mineral bioavailability and functional properties of chickpea flour. *Food and Public Health*, 5 (4), 108-113. <http://article.sapub.org/10.5923.j.fph.20150504.02.html>
- Díaz, S. O. & Hernández, G. M. S. (2012). Elaboración de galletas como alternativa para la soberanía alimentaria en la región amazónica colombiana. *Vitae*, 19(1), s273-s275. chrome-extension://efaidnbnmnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.redalyc.org/pdf/1698/Resumenes/Resumen_169823914083_1.pdf
- Dupuis, J. H., Liu, Q., & Yada, R. Y. (2014). Methodologies for Increasing the Resistant Starch Content of Food Starches: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(6), 1219–1234. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12104>
- Emire, S. A., & Arega, M. (2012). Value added product development and quality characterization of amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) grown in East Africa. *African Journal of Food Science and Technology*, 3(6), 129-141. <https://www.interestjournals.org/archive/ajfst-volume-3-issue-6-year-2012.html>
- Fontana, A. J. (2000). Understanding the importance of water activity in food. *Cereal Foods World*. 45(1), 7–10. <https://scispace.com/papers/understanding-the-importance-of-water-activity-in-food-1pksznw46y>
- Gómez-Valdez, L., Gutiérrez-Dorado, R., Gómez-Aldapa, C. A., Perales-Sánchez, J. X. K., Milán-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E. O., Mora-Rochín, S., & Reyes-Moreno, C. (2021). Effect of the extruded amaranth flour addition on the nutritional, nutraceutical and sensory quality of tortillas produced from extruded creole blue maize flour. *Biotechnia*, 23(2), 103-112. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v23i2.1385>
- Guardianelli, L. M., Salinas, M. V., & Puppo M. C. (2019). Chemical and thermal properties of flours from germinated amaranth seeds. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 1078–1088. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-00023-1>
- Hall, P. A. (2016). Executive-Control Processes in High-Calorie Food Consumption. *Current Directions in Psychological Science*, 25(2), 9198. <https://doi.org/10.1177/0963721415625049>

- Hsu, H. W., Vavak, D. L., Satterlee, L. D., & Miller, G. A. (1977). A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *Journal of Food Science*, 42(5), 1269–1273. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb14476.x>
- Inglett, G. E., Chen, D., & Liu S. X. (2015). Physical properties of gluten-free sugar cookies made from amaranth–oat composites. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.056>
- Jan, R., Saxena, D. C., & Singh S. (2017). Effect of storage conditions and packaging materials on the quality attributes of gluten-free extrudates and cookies made from germinated chenopodium (*Chenopodium album*) flour. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(3), 1071–1080. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9484-7>
- Liu, S. X., & Chen, D. (2023). Novel gluten-free amaranth and oat flour cookies fortified with soybean hulls. *Food and Nutrition Sciences*, 14(8), 699–719. <https://doi.org/10.4236/fns.2023.148046>
- Luis, G. M., Hernández, B. R. H., Caballero, V. P., López, N. G. T., Espinoza, V., & Pacheco L. R. (2018). Usos actuales y potenciales del Amaranto (*Amaranthus* spp.). *Journal of Negative and No Positive Results: JONNPR*, 3(6), 423–436. <https://doi.org/10.19230/jonnpr.2410>
- Madrigales-Reátiga, L. F., Castro-Montoya, Y. A., Reyes-Moreno, C., Gutiérrez-Dorado, R., Salas-López, F., & Peráles-Sánchez, J. X. K. (2024). Chia seed germination and extrusion to increase nutritional value, phenolic compounds, gaba, antioxidant activity, and in vitro antihypertensive potential. *Agrociencia*, 58(4): 1-15. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v58i4.3043>
- Makowska, A., Cais-Sokolińska, D., & Lasik, A. (2014). Effect of Technological Factors on Water Activity of Extruded Corn Product with an Addition of Whey Proteins. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 13(3), 243–247. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2014.3.2>
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*, 27(12): p. 1254–1255. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1254>
- Man, S., Păfucean, A., Muste, S., ChiÈ, M.S., Pop A., & Căflian, I. D. (2017). Assessment of amaranth flour utilization in cookies production and quality. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 23(2), 97–103. <https://journal-of-agroalimentary.ro/journal-of-agroalimentary-processes-and-technologies-2017-23-2/assessment-of-amaranth-flour-utilization-in-cookies-production-and-quality>
- Martínez, N. S., Ruíz, O. C., Castillejos, G. R., Perales-Torres, A., & Pérez, A. L. G. (2017). Análisis proximal, de textura y aceptación de las galletas de trigo, sorgo y frijol. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 67(3), 227–234. <https://www.alanrevista.org/ediciones/2017/3/art-8>
- Menegassi, B., Pilosof, A. M. R., & Arêas, J. A. G. (2011). Comparison of properties of native and extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L. – BRS Alegria) flour. *LWT - Food Science and Technology*, 44(9), 1915–1921. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.04.008>
- Miguel, M.G. (2018). Betalains in Some Species of the Amaranthaceae Family: A Review. *Antioxidants*, 7(4), 53. <https://doi.org/10.3390/antiox7040053>
- Milán-Noris, A. K., Gutiérrez-Urbe, J. A., Santacruz, A., Serna-Saldívar S. O., & Martínez-Villaluenga, C. (2018). Peptides and isoflavones in gastrointestinal digests contribute to the anti-inflammatory potential of cooked or germinated desi and kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Food Chemistry*, 268, 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.068>
- Mlakar, G. S., Turinek, M., Jakop, M., Bavec, M., & Bavec, F. (2009). Nutrition value and use of grain amaranth potential future application in bread making. *Agricultural and Food Sciences*, 6, 43–53. <https://www.semanticscholar.org/paper/Nutrition-value-and-use-of-grain-amaranth%3A-future-Mlakar-Turinek/b28f73042370dd0de5a1cf4919a8a5fd55e79504>
- Montoya-Rodríguez, A. (2011). Nuevos Productos Alimenticios a Partir de Amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) Integral. Efecto del Proceso Extrusión / Cocción Sobre la Capacidad

- Antioxidante y Niveles de Fitoquímicos (*Tesis de Maestría*, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México).
- Montoya-Rodríguez, A., Milán-Carrillo, J., Dia, V. P., Reyes-Moreno, C., & González de Mejía, E. (2014). Pepsin-pancreatin protein hydrolysates from extruded amaranth inhibit markers of atherosclerosis in LPS-induced THP-1 macrophages-like human cells by reducing expression of proteins in LOX1 signaling pathway. *Proteome Science*, 12(1), 30. <https://doi.org/10.1186/1477-5956-12-30>
- Montoya-Rodríguez, A., Gómez-Favela, M. A., Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo, J. & González de Mejía, E. (2015). Identification of Bioactive Peptide Sequences from Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) Seed Proteins and Their Potential Role in the Prevention of Chronic Diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(2): 139-158. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12125>
- Mubarak, A. E. (2005). Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. *Food Chemistry*, 89(4), 489–495. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.007>
- Mudgil, D., Barak, S., & Khatkar, B. S. (2017). Cookie texture, spread ratio and sensory acceptability of cookies as a function of soluble dietary fiber, baking time and different water levels. *LWT-Food Science and Technology*, 80, 537–542. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.009>
- Narsih, N., Yunianta, Y., & Harijono, H. (2012). The study of germination and soaking time to improve nutritional quality of sorghum seed. *International Food Research Journal*, 19 (4), 1429-1432. <https://scispace.com/papers/the-study-of-germination-and-soaking-time-to-improve-3gm2k78b4c>
- Nayak, B., Berrios, J. D. J., Powers, J. R., & Tang, J. (2011). Effect of Extrusion on the Antioxidant Capacity and Color Attributes of Expanded Extrudates Prepared from Purple Potato and Yellow Pea Flour Mixes. *Journal of Food Science*, 76(6), C874-C883. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02279.x>
- Olawoye, B. T., & Gbadamosi, S. O. (2017). Effect of different treatments on in vitro protein digestibility, antinutrients, antioxidant properties and mineral composition of *Amaranthus viridis* seed. *Cogent Food & Agriculture*, 3(1): 1296402. <https://doi.org/10.1080/23311932.2017.1296402>
- Patrignani, M., & Lupano, C. E. (2016). Incorporación de saborizantes naturales a galletitas: efecto sobre el poder antioxidante del producto final. En: Análisis físico-químicos y sensoriales de los alimentos: trabajos completos. Pp. 345-354. *VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016*. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/90752>
- Perales-Sánchez, J. X. K., Reyes-Moreno, C., Gómez-Favela, M. A., Milán-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E. O., Valdez-Ortiz, A., & Gutiérrez-Dorado, R. (2014). Increasing the Antioxidant Activity, Total Phenolic and Flavonoid Contents by Optimizing the Germination Conditions of Amaranth Seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69(3), 196–202. <https://doi.org/10.1007/s11130-014-0430-0>
- Poutanen, K. S., Kårlund, A. O., Gómez-Gallego, C., Johansson, D. P., Scheers, N. M., Marklinder, I. M., Eriksen, A. K., Silventoinen, P. C., Nordlund, E., Sozer, N., Hanhineva, K. J., Kolehmainen, M., & Landberg, R. (2022). Grains - a major source of sustainable protein for health. *Nutrition Reviews*. 80(6), 1648-1663. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuab084>
- Quintero-Soto, M. F., Chávez-Ontiveros, J., Garzón-Tiznado, J. A., Salazar-Salas, N. Y., Pineda-Hidalgo, K. V., Delgado-Vargas, F., & López-Valenzuela, J. A. (2021). Characterization of peptides with antioxidant activity and antidiabetic potential obtained from chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein hydrolyzates. *Journal of Food Science*, 86(7), 2962-2977. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15778>

- Ramos-Pacheco, B. S., Choque-Quispe, D., Ligarda-Samanez, C. A., Solano-Reynoso, A. M., Palomino-Rincón, H., Choque-Quispe, Y., Peralta-Guevara, D. E., Moscoso-Moscoso, E., & Aiquipa-Pillaca, Á. S. (2024). Effect of Germination on the Physicochemical Properties, Functional Groups, Content of Bioactive Compounds, and Antioxidant Capacity of Different Varieties of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Grown in the High Andean Zone of Peru. *Foods*, 13(3), 417. <https://doi.org/10.3390/foods13030417>
- Rastogi, A., & Shukla, S. (2013). Amaranth: A New Millennium Crop of Nutraceutical Values. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(2), 109–125. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.517876>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Sánchez-Osuna, M. F., Gutiérrez-Dorado, R., Cuevas-Rodríguez, E. O., Milán-Carrillo, J., Perales-Sánchez, J., & Reyes-Moreno, C. (2018). Propiedades Fisicoquímicas y Nutracéuticas de Granos Integrales (Amaranto/Chía) Procesados en Condiciones Óptimas de Germinación. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3, 639-644.
- Sandoval-Sicairos, E. S., Domínguez-Rodríguez M., Montoya-Rodríguez A., Milán-Noris A. K., Reyes-Moreno C., & Milán-Carrillo J. (2020). Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity Modified by Germination and Hydrolysis in Mexican Amaranth. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75: 192-199. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00798-z>
- Segura-Nieto, M., Barba de la Rosa, A. P., & Paredes-López, O. (1994). Biochemistry of Amaranth Proteins. In: Paredes-López, O. (Ed.), *Amaranth: Biology, Chemistry and Technology*, (pp. 75-106). Boca Raton: CRC Press.
- Shelar, G. A., & Gaikwad, S. T. (2019). Extrusion in food processing: An overview. *The Pharma Innovation Journal*, 8(2), 562-568. <https://www.thepharmajournal.com/archives/?year=2019&vol=8&issue=2&ArticleId=3076>
- Sindhuja, A., Sudha, M. L., & Rahim, A. (2005). Effect of incorporation of amaranth flour on the quality of cookies. *European Food Research and Technology*, 221(5), 597–601. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0039-5>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152–178. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99017-1)
- Suarez, P. A., Martínez, J. G., & Hernández, J. R. (2016). El amaranto y sus efectos terapéuticos. *Tlatemoani: revista académica de investigación*, 7(21), 55-73. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7298394>
- Shukla, U., Sehar, M., Tongbram, T., Yaseen, M., & Bora, J. (2020). Physical and sensory characteristics of cookies from rice and amaranth flour blends. *European Food Science and Engineering*, 1(1), 24-29. <https://izlik.org/JA64ZH74KW>
- Singh, M., & Liu, S. X. (2021). Evaluation of amaranth flour processing for noodle making. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(4): e15270. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15270>
- Thakur, P., Kumar, K., Ahmed, N., Chauhan, D., Rizvi, Q. U. E. H., Jan, S., Singh, P. T., & Dhaliwal, H. S. (2021). Effect of soaking and germination treatments on nutritional, anti-nutritional, and bioactive properties of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.), quinoa (*Chenopodium quinoa* L.), and buckwheat (*Fagopyrum esculentum* L.). *Current Research in Food Science*, 4, 917-925. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.11.019>
- Tovar-Hernández, C. E., Perafán-Gil, E. A., Enríquez-Collazos, M. G., Pismag-Portilla, Y., & Ceron-Fernandez, L. (2017). Evaluación del efecto del proceso de extrusión en harina de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) normal y germinada. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y*

- Agroindustrial*, 15(2), 30-38.
<https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/560>
- Uwaegbute, A. C., Iroegbu, C. U., & Eke, O. (2000). Chemical and sensory evaluation of germinated cowpeas (*Vigna unguiculata*) and their products. *Food Chemistry*, 68(2), 141–146. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00134-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00134-X)
- Xu, B., & Chang, S. K. C. (2008). Total Phenolics, Phenolic Acids, Isoflavones, and Anthocyanins and Antioxidant Properties of Yellow and Black Soybeans As Affected by Thermal Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16), 7165–7175. <https://doi.org/10.1021/jf8012234>
- Ye, J., Hu, X., Luo, S., Liu, W., Chen, J., Zeng, Z., & Liu, C. (2018). Properties of starch after extrusion: A review. *Starch-Stärke*, 70(11-12), 1700110. <https://doi.org/10.1002/star.201700110>

2026 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Application of Chickpea Glutelin Hydrolysates in the Green Synthesis of Selenium Nanoparticles

Aplicación de hidrolizados de glutelina de garbanzo en la síntesis verde de nanopartículas de selenio

Maritza G. Castro-Quintero^{1,2}, Sayra N. Serrano-Sandoval³, Ada Keila Milán-Noris^{1,2}, Julio Montes-Ávila², Daniela Guardado-Félix^{1,2*}

¹ Laboratorio de Nutraceuticos (18), Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Ciudad Universitaria, Blv. de las Américas y Josefa Ortiz de Domínguez, S/N. Culiacán 80013, Sinaloa, Mexico

² Programa de Posgrado Integral en Biotecnología, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán 80013, Sinaloa, México;

³ Tecnológico de Monterrey, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Av. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, 64849 Monterrey, NL, Mexico;

*Correspondencia: Correo electrónico: daniela.guardado@uas.edu.mx (Daniela Guardado Félix)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v20i1.2172>

Recibido: 08 de diciembre de 2025; Aceptado: 15 de abril de 2026

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editor de Sección: Dr. René Renato Balandrán-Quintana

Abstract

This study evaluated the potential of total chickpea protein (TP), the glutelin fraction (Glu), and their <10 kDa hydrolysates (TPH and GluH) as functionalizing agents in the green synthesis of selenium nanoparticles (SeNPs). Physicochemical parameters, including particle size, zeta potential, polydispersity index, surface plasmon resonance (SPR), and antioxidant activity, were analyzed using ORAC and ABTS assays. The results showed that the hydrolysates interacted more efficiently with SeNPs than the intact proteins, generating more defined spectral profiles. SeNPs functionalized with TP and Glu did not exhibit higher antioxidant activity than their parent proteins. In contrast, SeNPs functionalized with GluH and TPH displayed significantly greater antioxidant activity (+53 % and +21 % in ORAC and ABTS, respectively) compared to the hydrolysates. GluHSeNPs reached a particle size of 136 nm, while TPHSeNPs formed aggregates larger than 1 μ m, demonstrating low colloidal stability. Both systems exhibited low zeta potentials (-9 to -13 mV). These findings indicate that <10 kDa chickpea glutelin hydrolysates are promising materials for the synthesis of

nanostructures with high antioxidant activity, with potential applications in functional foods and biomedicine.

Keywords: Selenium nanoparticles, green synthesis, Chickpea proteins, antioxidant activity, glutelin protein

Resumen

Este estudio evaluó el potencial de la proteína total de garbanzo (TP), la fracción de glutelina (Glu) y sus hidrolizados de <10 kDa (TPH y GluH) como agentes funcionalizantes en la síntesis verde de nanopartículas de selenio (SeNPs). Se analizaron parámetros fisicoquímicos, incluyendo tamaño de partícula, potencial zeta, índice de polidispersidad, resonancia de plasmón superficial (SPR) y actividad antioxidante mediante los ensayos ORAC y ABTS. Los resultados mostraron que los hidrolizados interactúan más eficientemente con las SeNPs que las proteínas intactas, generando perfiles espectrales más definidos. Las SeNPs funcionalizadas con TP y Glu no presentaron mayor actividad antioxidante que sus proteínas de origen. En contraste, las SeNPs funcionalizadas con GluH y TPH exhibieron una actividad antioxidante significativamente superior (+53 % y +21 % en ORAC y ABTS, respectivamente) en comparación con los hidrolizados. GluHSeNPs alcanzaron dimensiones de 136 nm, mientras que TPHSeNPs formaron agregados >1 μm , evidenciando baja estabilidad coloidal. Ambos sistemas presentaron bajos potenciales zeta (-9 a -13 mV). Estos hallazgos indican que los hidrolizados <10 kDa de glutelina de garbanzo son materiales prometedores y novedosos para la síntesis de nanomateriales con elevada actividad antioxidante, con potencial aplicación en alimentos funcionales y medicina.

Palabras clave: nanopartículas de selenio, síntesis verde, proteínas de garbanzo, actividad antioxidante, glutelina proteínas

1. Introduction

Selenium is a vital trace element involved in protecting against oxidative damage, regulating thyroid hormone metabolism, and modulating immune function (Zhou et al., 2022). Dietary Se deficiency has been linked to increased susceptibility to oxidative stress, cardiovascular diseases, cancer, and impaired immune function (Shimada et al., 2021). Inorganic Se salts, such as sodium selenite, are widely used as supplements but present limitations due to narrow safety margins, low bioavailability, and potential toxicity at higher doses (EFSA Panel, 2023). Recently, selenium nanoparticles (SeNPs) have gained attention as promising alternatives because they can improve bioavailability, decrease toxicity, and provide controlled release characteristics (Waqar, 2025).

Nowadays, green synthesis of nanoparticles using biomolecules from plants and food proteins has gained increasing attention as a sustainable and safe approach compared to conventional chemical methods (Osman et al., 2024). Proteins and peptides can act as both reducing and stabilizing agents, conferring colloidal stability and bioactivity to nanoparticles (Spicer et al., 2018). Legume proteins, particularly from chickpea (*Cicer arietinum* L.), are abundant, and rich in bioactive peptides with antioxidant, antihypertensive, and immunomodulatory properties (Kumar et al., 2025). Enzymatic hydrolysis of chickpea proteins releases low molecular weight peptides with enhanced solubility

and radical scavenging activity (Ghribi et al., 2015; Xu et al., 2020), which may improve the stabilization and functionality of SeNPs.

Glutelin from germinated chickpeas in the presence of selenium has been identified as the protein fraction with the greatest capacity for accumulating this micronutrient, surpassing albumin and globulin (Serrano-Sandoval et al., 2019; Hernández-Grijalva et al., 2022). Furthermore, selenized glutelin has demonstrated superior emulsifying and antioxidant capacity, as well as greater colloidal stability compared to other protein fractions (Hernández-Grijalva et al., 2022; Milán-Noris et al., 2025). These properties offer significant advantages for the design of nanostructured systems with applications in functional foods, nutraceuticals, and cosmetics, where the combination of SeNPs with plant proteins can enhance bioactivity and protection against oxidative stress.

Despite the growing interest in legume derived peptides their application in the synthesis and functionalization of SeNPs remains poorly explored. Accordingly, this study aimed to develop SeNPs produced and functionalized through a green approach using chickpea proteins and their hydrolysates, to characterize their physicochemical properties and antioxidant activity. Overall, this research offers novel insights into chickpea derived peptides as sustainable biomaterials for designing functional foods enriched with Se based nanoparticles.

2. Materials and methods

2.1 Chickpea flour production

Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds were sourced from Angostura, Sinaloa, Mexico. Seeds were disinfected with 200 mL of a 0.2 % sodium hypochlorite solution, rinsed three times with distilled water, spread on a metal tray and dried in a convection oven (UNOX, Padua, Italy) at 50 ± 1 °C for 24 h. Once dried, the seeds were ground using Standard Model No. 5 Wiley Mill (Swedesboro, NJ, USA) and sieved through a No. 60 mesh; the resulting flour was packed in plastic bags and stored at 4 °C until needed (Guardado-Félix et al., 2017).

2.2 Total protein extraction

Total protein was extracted from chickpea flour following Serrano-Sandoval et al. (2019). In short, the flour was defatted with hexane (1:4, w/v) under continuous agitation at 50 °C for 12 h, replacing the solvent after 6 h. Then 20 g of flour were mixed with 200 mL of distilled water, and the pH was raised to 8.5 with 1 M NaOH. The suspension was stirred for 2 h and centrifuged at $10,000 \times g$ for 20 min at 4 °C (Eppendorf AG, Hamburg, Germany). Supernatant and pellet were separated; the supernatant was kept at 3 °C, while the pellet was resuspended in distilled water (1:5, w/v) and centrifuged under the same conditions. The supernatant from this second spin was pooled with the first, the pH was lowered to 4.5 using 1 M HCl, the mixture was stirred for 2 h and centrifuged again. The final pellet was freeze dried and stored for subsequent analyses.

2.3 Glutelin extraction

The glutelin (Glu) fraction was extracted sequentially following Serrano et al. (2019). Defatted chickpea flour was suspended in distilled water (1:4 w/v) and stirred at 3000 rpm for 2 h, then centrifuged at $10,000 \times g$ for 20 min. The pellet was resuspended in 5 % NaCl (1:4 w/v), stirred for 2 h and centrifuged again under the same conditions. The final residue was solubilized in 0.1 M NaOH and stirred for 2 h; precipitation was induced by adjusting the pH to 4.8 with 1 M HCl, followed by centrifugation at $10,000 \times g$ for 20 min. The resulting pellet, corresponding to the Glu fraction, was lyophilized and stored at -20°C until analysis.

2.4 In vitro enzymatic digestion

The protein extracts were hydrolyzed according to the protocol reported by Serrano-Sandoval et al. (2019). The protein solution (5 % w/v, in distilled and deionized water with 0.02 % sodium azide) was adjusted to pH 2.0 with 1M HCl before pepsin (4 % w/w, protein base) was added. The solution was incubated at 37°C for 1 h and then the pH was adjusted to 5.3 with 0.9M NaHCO_3 . Pancreatin (4% w/w, protein base) was added, and the pH was adjusted to 7.5 with 1M NaOH. The solution was further incubated at 37°C for 2 h and subsequently immersed in boiling water to terminate the digestion. The digested protein was centrifuged at $16,000 \times g$ for 10 min, and the supernatant, containing the peptides of interest, was collected. Finally, the hydrolysates were freeze-dried and stored at 4°C until further use.

2.5 Preparation of hydrolysates <10 kDa by ultrafiltration

The supernatants from the enzymatic digestion were processed using Amicon® Ultra-15 centrifugal filters (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and centrifuged at 5,000 rpm for 30 min (Eppendorf Centrifuge 5804 R, Germany). Filtrates containing peptides <10 kDa were collected, lyophilized, and stored for later use.

2.6 Quantification of total soluble protein

Total soluble protein in TPH and GluH was measured using the Pierce BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) according to the manufacturer's protocol. A standard curve prepared with bovine serum albumin (BSA) was employed, and results were expressed in $\mu\text{g/mL}$.

2.7 Obtaining methanolic extracts of GluH and TPH (<10 kDa)

Extracts were prepared following Guardado-Félix et al. (2017). Briefly, 50 mg of chickpea hydrolysate were combined with 1 mL of 80 % methanol, stirred for 10 min, and centrifuged at 3,000 rpm for 15 min at 4°C (Eppendorf Centrifuge 5804 R, Germany). The precipitate was removed and the supernatant was dried to completeness under reduced pressure at 45°C in a Carbolite PF 200

oven (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). The dried residue was subsequently reconstituted in 200 μ L of 80 % methanol for the quantification of total phenolic compounds.

2.8 Quantification of phenolic compounds in GluH and TPH

Total phenolic content in the methanolic extracts was measured by the Folin Ciocalteu colorimetric assay. In brief, 20 μ L of each sample were placed into a 96 well plate, and to both the gallic acid standard (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and the samples were added 180 μ L of Folin Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and 50 μ L of 7 % Na_2CO_3 . After incubating the mixtures at 25 °C for 90 min, absorbance was read at 750 nm on a microplate reader (Synergy HT, Biotek Instruments), using methanol as the blank. Total phenolic content was reported as μ g of gallic acid equivalents (GAE) per mL of sample.

2.9 Synthesis of Se nanoparticles functionalized with Glu and TP

SeNPs functionalized with either chickpea total protein (TP) or glutelin (Glu) were prepared based on Zhang et al. (2018) with slight modifications. Ascorbic acid was used as the reducing agent and functionalization was performed with GluH or TPH. In brief, 1 mL of a 1 % (w/v) hydrolyzed protein solution was combined with 5 mL of 0.3 M ascorbic acid and 3 mL of deionized water while stirring at 600 rpm. Then 1 mL of 0.06 M sodium selenite (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) was added under 300 rpm stirring to trigger reduction; the development of a red color signaled nanoparticle formation, and the mixture was stirred for another 30 min at 25 °C to homogenize. The pH was adjusted to 3.5. The nanoparticle suspension was filtered through a 0.45 μ m membrane, centrifuged at 5,000 rpm for 15 min at 4 °C, and stored at 4 °C until use.

2.10 Synthesis of SeNPs functionalized with Glu and TP hydrolysates (<10 kDa)

GluHSeNPs and TPHSeNPs were synthesized following the method of Ye et al. (2020) with minor modifications. Ascorbic acid served as the reducing agent, while <10 kDa hydrolysates derived from total chickpea protein (TPH) or glutelin (GluH) were employed as stabilizing agents. Briefly, 4 mL of 4 mM ascorbic acid, 4 mL of 1 mM sodium selenite (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), and 1 mL of <10 kDa hydrolysates (600 μ g/mL) were combined in a 50 mL Erlenmeyer flask. The mixture was agitated at 150 rpm for 1 h at 55 °C, and pH was adjusted to 8. The change from a clear to an orange solution signaled the formation of nanoparticles. The resulting SeNPs were stored at 4 °C until further use.

2.11 Surface plasmon resonance characterization, droplet size, polydispersity index, and zeta potential of SeNPs

The surface plasmon resonance (SPR) of SeNPs was analyzed using a UV-Vis spectrophotometer (Multiskan GO, Thermo Scientific) over a wavelength range of 200-800 nm. Droplet size, polydispersity index (PDI), and zeta potential of the SeNPs were measured by dynamic light scattering (DLS) using a Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK) at room temperature

(25 ± 0.5 °C). Measurements were taken at a scattering angle of 173° . For the analysis, the nanoparticle suspensions were diluted in deionized water (1:20, v/v) and placed into a disposable DTS1070 cell (Malvern Instruments, UK).

2.12 Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) assay

The ORAC assay was conducted following Ou et al. (2001) with minor adjustments. Fluorescein was used as the fluorescent probe, AAPH (2,2'-Azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride) acted as the radical generator, and Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) served as the standard. Samples, Trolox standards, and AAPH were diluted in 75 mM sodium phosphate buffer (pH 7.4). Aliquots of 25 μ L were loaded into a 96 well plate and measured with a Synergy HT microplate reader (BioTek Instruments). Kinetic readings were taken every 2 min for 60 min with excitation at 485 nm and emission at 538 nm. Antioxidant activity was determined from the difference in area under the curve (AUC) of fluorescein decay between the blank and each sample, and results were reported as μ mol Trolox equivalents (TE) per mL.

2.13 Determination of antioxidant activity by ABTS assay

The ABTS radical cation assay (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) was carried out according to Re et al. (1999). A stock ABTS+ solution was generated by reacting ABTS with 2.45 mM potassium persulfate and kept in the dark for 12-16 h prior to use. This solution was diluted with PBS to reach an absorbance of 0.70 ± 0.02 at 734 nm. Aliquots of 7.5 μ L of blanks, samples, and standards were placed into a 96-well plate, then 292.5 μ L of the ABTS+ solution was added to start the reaction. After incubating the plate at room temperature for 10 min, absorbance at 734 nm was recorded using a Multiskan GO spectrophotometer (Thermo Scientific). The decrease in absorbance was calculated against the blank, and antioxidant capacity was reported as μ mol Trolox equivalents (TE) per mL of sample.

2.14 Statistical analysis

All experiments were carried out with at least three independent replicates. Results are reported as mean $\pm$ standard deviation (SD). Statistical analysis was performed by ANOVA, and mean comparisons were made using Tukey's test with a significance level of $p < 0.05$. Analyses were conducted using JMP version 14 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3. Results and discussion

3.1 Soluble protein, total phenolic content, and antioxidant activity of GluH and TPH

Table 1 displays the soluble protein content, total phenolic content, and antioxidant activities (ORAC and ABTS) for the <10 kDa fractions of GluH and TPH. Although both treatments showed similar amounts of soluble protein, GluH exhibited a 51 % higher concentration of phenolic compounds than TPH, resulting in a greater abundance of bioactive metabolites in the glutelin fraction.

Regarding antioxidant activity, GluH showed higher ORAC values (16.88 %) than TPH, treatments, whereas ABTS values were not statistically different between treatments. This difference between methods may be attributed to the chemical nature of the radicals assessed: ORAC measures the ability to neutralize peroxy radicals, whereas ABTS measures the ability to act against cationic radicals (Munteanu & Apetrei, 2021). The higher ORAC activity in GluH may be related to the presence of phenolic compounds and low-molecular-weight antioxidant peptides. These findings align with previous studies reporting enhanced antioxidant bioactivity following protein hydrolysis in plant sources such as *Brassica napus* and lentil (Hernández-Jabalera et al., 2015; Rezvankhah et al., 2021).

Table 1. Soluble protein, total phenolic content, and antioxidant activity (ABTS and ORAC) of hydrolysates <10 kDa of GluH and TPH.

Tabla 1. Proteína soluble, contenido fenólico total y actividad antioxidante (ABTS y ORAC) de los hidrolizados <10 kDa de GluH y TPH.

Sample	Soluble protein ($\mu\text{g/mL}$)	Total phenolic content ($\mu\text{g/mL}$)	ORAC (μmol TE/mL)	ABTS (μmol TE/mL)
TPH	897.27 $\pm$ 34.71 ^a	1746.45 $\pm$ 82.11 ^b	15.4 $\pm$ 0.35 ^b	1.62 $\pm$ 0.05 ^a
GluH	953.18 $\pm$ 9.64 ^a	2636.77 $\pm$ 55.63 ^a	18.0 $\pm$ 0.2 ^a	1.72 $\pm$ 0.18 ^a

Values are expressed as mean $\pm$ standard deviation (SD) of three replicates. Different letters within the column for each type of protein hydrolysate indicate significant differences according to Tukey's HSD test ($p < 0.05$). GluH: hydrolysate of chickpea glutelin; TPH: hydrolysate of chickpea total protein.

3.2 Surface plasmon resonance (SPR) of Se nanoparticles

The UV-Vis spectra presented in Fig. 1 confirms the successful formation of Se nanoparticles (SeNPs) functionalized with chickpea proteins and their hydrolysates, with apparent differences

observed between intact proteins and hydrolyzed fractions. Selenium nanoparticles functionalized with (A) glutelin and (B) total protein displayed broader, less defined absorption bands, which is indicative of a heterogeneous size distribution and partial aggregation; whereas those functionalized with (C) glutelin hydrolysate and (D) total protein hydrolysate showed sharper, and more intense bands. These spectral features are consistent with the formation of smaller, more uniformly dispersed nanoparticles and improved colloidal stability.

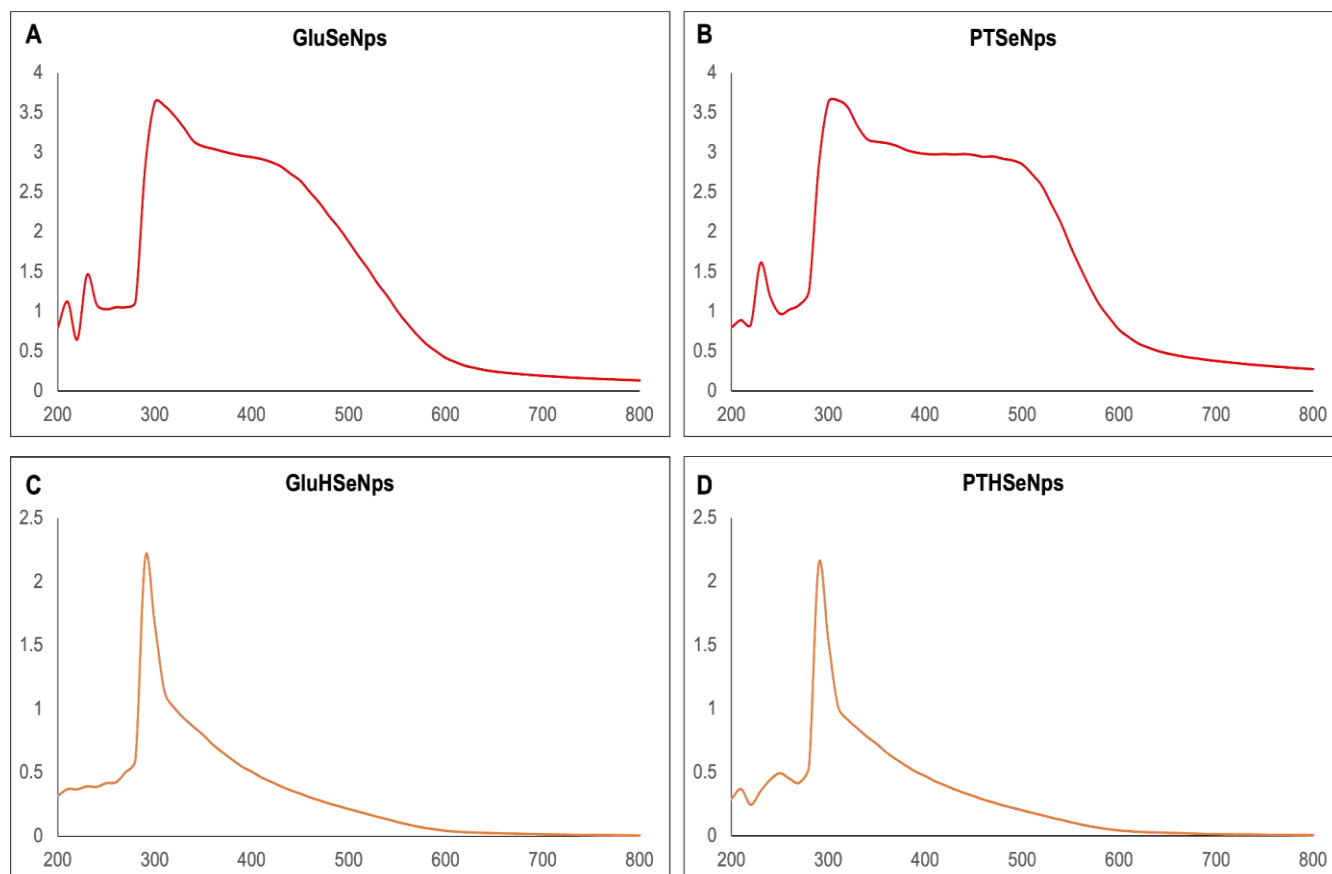


Figure 1. Surface plasmon resonance of Se nanoparticles functionalized with chickpea proteins and hydrolysates <10 kDa. (A) GluSeNPs: Se nanoparticles functionalized with chickpea glutelin, (B) PTSeNPs: Se nanoparticles functionalized with chickpea total protein, (C) GluHSeNPs: Se nanoparticles functionalized with hydrolysate of chickpea glutelin, (D) PTSeNPs: Se nanoparticles functionalized with hydrolysate of chickpea total protein.

Figura 1. Resonancia plasmónica superficial de nanopartículas de selenio funcionalizadas con proteínas y hidrolizados de garbanzo de menos de 10 kDa. (A) GluSeNPs: nanopartículas de selenio funcionalizadas con glutelina de garbanzo, (B) PTSeNPs: nanopartículas de selenio funcionalizadas con proteína total de garbanzo, (C) GluHSeNPs: nanopartículas de selenio funcionalizadas con hidrolizado de glutelina de garbanzo, (D) PTSeNPs: nanopartículas de selenio funcionalizadas con hidrolizado de proteína total de garbanzo.

These variations can be explained by the presence of low molecular weight peptides and phenolic compounds in the hydrolysates, which introduce additional functional groups (-OH, -COOH, amide) capable of coordinating with surfaces. This enhanced interaction reduces nanoparticle aggregation and stabilizes smaller particles. Similar stabilization mechanisms have been reported in green synthesis approaches. For instance, Alhawiti (2022) described SeNPs synthesized with citric acid and alginate, showing a distinct surface plasmon resonance and at 296 nm and high stability due to hydroxyl and carboxyl groups acting as capping agents. Likewise, Alagesan and Venugopal (2019) reported that SeNPs were obtained using a *Withania somnifera* extract, with an SPR maximum at 320 nm, in which flavonoids and tannins served as reducing and stabilizing agents, thereby enhancing antioxidant activity. Taken together, these findings suggest that chickpea hydrolysates act in a manner comparable to plant derived extracts or biopolymers, providing effective stabilization of SeNPs.

3.3 Antioxidant activity of SeNPs functionalized with proteins and hydrolysates <10 kDa

For the synthesis of nanoparticles using intact proteins (PT and Glu) and their respective hydrolysates (PTH and GluH), the concentrations of ascorbic acid, sodium selenite, protein, and pH conditions differed. Although a direct comparison of antioxidant activity between the two systems is not feasible, the activity of each component can be evaluated in relation to the synthesized nanoparticles. Fig. 2, panel A) shows the antioxidant activity of nanoparticles functionalized with <10 kDa PTH and GluH, together with ascorbic acid (4 mM), sodium selenite (1 mM), hydrolysates (600 µg/mL), and their combinations. Panel B) shows the antioxidant activity of nanoparticles functionalized with PT and Glu fraction, as well as their components: ascorbic acid (0.3 mM), sodium selenite (0.06 mM), 1 % (w/v) protein, and respective combinations.

The results showed that in both ORAC and ABTS assays, nanoparticles functionalized with <10 kDa PTH and GluH (PTHSeNPs and GluHSeNPs) exhibited 53 % higher antioxidant activity than ascorbic acid alone or in combination with PTH, GluH, and sodium selenite (Fig. 2, panel A). A similar trend was observed in the ABTS assay, where PTHSeNPs and GluHSeNPs displayed more than 21 % higher antioxidant activity compared to ascorbic acid and its combinations. Sodium selenite, in contrast, showed no antioxidant activity in either assay. PTH and GluH alone exhibited significantly lower activity than both nanoparticles and ascorbic acid (Fig. 2, panel A). These findings indicate that SeNPs functionalized with <10 kDa hydrolysates of PT and Glu generate nanostructures with enhanced antioxidant capacity, surpassing the properties of their hydrolysates and ascorbic acid. Furthermore, no significant difference was observed between the antioxidant activity of PTHSeNPs and GluHSeNPs.

Panel B of Fig. 2 shows the antioxidant activity, measured by ORAC and ABTS, of nanoparticles functionalized with TP and Glu fraction of chickpeas. In the ORAC assay, the highest activity was observed for combinations of ascorbic acid with PT and Glu, exhibiting up to 39.2 % higher activity than PTSeNPs and GluSeNPs. A similar trend was observed in the ABTS assay, where ascorbic acid and its combinations with protein fractions and sodium selenite, as well as PTSeNPs and GluSeNPs, showed the highest activities.

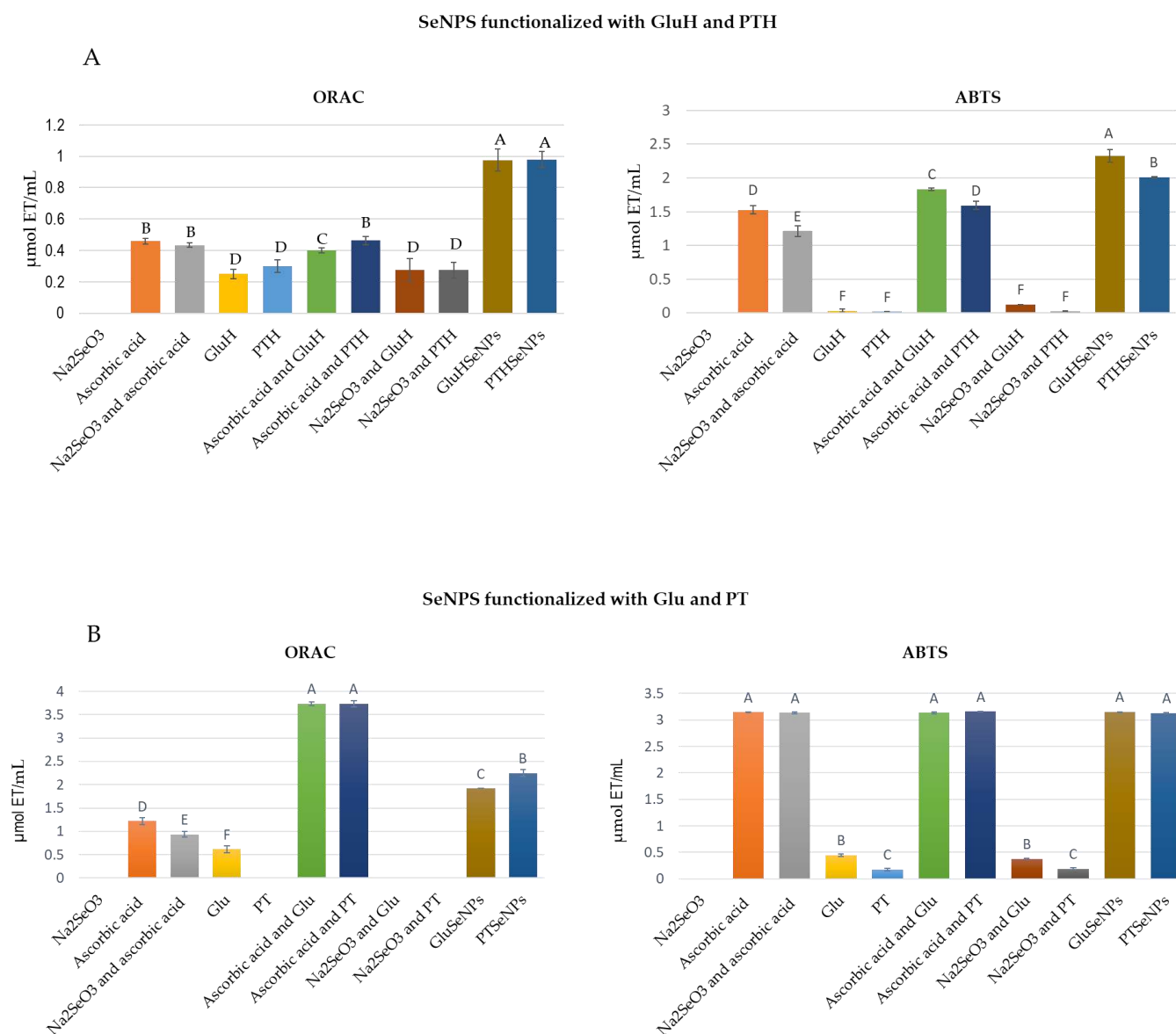


Figure 2. Antioxidant activity of SeNPs functionalized with proteins and hydrolysates <10 kDa. PT: Chickpea total protein, Glu: chickpea glutelin, PTH: Hydrolysate of PT, GluH: Hydrolysate of Glu, PTSeNPs: Se nanoparticle functionalized with PT, PTHSeNPs: Se nanoparticle functionalized with PTH, GluSeNPs: Se nanoparticle functionalized with Glu, GluHSeNPs: Se nanoparticle functionalized with GluH. The concentrations of the components correspond to the conditions used for nanoparticle synthesis: SeNPs with intact protein=Na₂SeO₃ 0.06 M, ascorbic 0.3 M and protein 1 % (w/v), SeNPs with hydrolysates = Na₂SeO₃ 1 mM, ascorbic acid 4 mM, hydrolysates 600 μg/mL.

Figura 2. Actividad antioxidante de las nanopartículas de selenio (SeNPs) funcionalizadas con proteínas e hidrolizados de menos de 10 kDa. PT: Proteína total de garbanzo, Glu: glutelina de garbanzo, PTH: hidrolizado de PT, GluH: hidrolizado de Glu, PTSeNPs: nanopartículas de Se funcionalizadas con PT, PTHSeNPs: nanopartículas de Se funcionalizadas con PTH, GluSeNPs: nanopartículas de Se funcionalizadas con Glu, GluHSeNPs: nanopartículas de Se funcionalizadas con GluH. Las concentraciones de los componentes

corresponden a las condiciones utilizadas para la síntesis de nanopartículas: SeNPs con proteína intacta = Na_2SeO_3 0,06 M, ácido ascórbico 0,3 M y proteína al 1 % (p/v); SeNPs con hidrolizados = Na_2SeO_3 1 mM, ácido ascórbico 4 mM, hidrolizados 600 $\mu\text{g/mL}$.

No significant differences were found among the samples. Notably, the concentration of ascorbic acid (0.06 mM) used in the synthesis of these nanoparticles was higher than that employed in the hydrolysate-based system, which may interfere with the measurement of the actual antioxidant activity of each component and nanoparticles. Therefore, to compare hydrolyzed and non-hydrolyzed chickpea proteins, it is necessary to establish a synthesis method under identical concentration conditions, as this study followed previously established protocols for SeNPs synthesis.

The use of peptides for the synthesis of selenium nanoparticles has been proven successful. Tang et al. (2020) developed a novel method for synthesizing selenium nanoparticles (SeNPs) by directly reducing sodium selenite with ascorbic acid and using tilapia polypeptides (TPs) as stabilizing agents. The main bonding forces of TPSeNPs were electrostatic and hydrophobic interactions. Ye et al. (2020) employed peanut flour peptides as stabilizing agents in SeNPs synthesis, obtaining particles of approximately 140 nm, with stabilization primarily attributed to electrostatic and hydrophobic interactions, as well as Se-O and Se-N bonds. In the case of intact proteins used as stabilizing agents, β -lactoglobulin has been successfully applied, yielding particle sizes of 36.8 ± 4.1 nm, with its NH_2 and OH functional groups responsible for binding to SeNPs (Zhang et al., 2018).

The use of proteins and peptides as stabilizing agents for SeNPs has been less studied than the use of polysaccharides (Shi et al., 2021). Chickpea proteins, particularly the glutelin fraction and its peptides, represent a novel alternative for synthesizing nanostructures with high antioxidant potential. However, further studies are needed to elucidate the interactions of chickpea protein and peptide functional groups with selenium, which remain undocumented, as well as to analyze the peptide profile.

3.4 Size, polydispersity index, and zeta potential of GluHSeNPs and TPHSeNPs

Table 2 summarizes the hydrodynamic diameter, polydispersity index (Pdl), and zeta potential of SeNPs functionalized with hydrolyzed chickpea proteins. Notable differences were detected between GluH coated SeNPs and those functionalized with total protein (TPH).

The GluHSeNPs exhibited a markedly smaller average size (135.7 nm) compared to TPHSeNPs (1043.7 nm), indicating that glutelin peptides favored the formation of more compact and homogeneous nanoparticles. This finding aligns with previous reports indicating that glutelin fractions from chickpea sprouts accumulate higher levels of Se and yield more stable antioxidant hydrolysates (Serrano-Sandoval et al., 2019; Hernández-Grijalva et al., 2022). In contrast, the larger aggregates observed in TPHSeNPs suggest that the heterogeneous mixture of peptides in the total protein fraction promoted extensive cross linking and agglomeration, a phenomenon also described for biogenic SeNPs synthesized by *Bacillus subtilis* and *Azospirillum* species, where particle size varied widely depending on the biomolecular corona (Tugarova et al., 2018; Ullah et al., 2021).

The PDI values (0.41-0.45) indicate moderate polydispersity in both systems, consistent with other protein or plant mediated SeNPs, which typically exhibit broader distributions than chemically stabilized nanoparticles (Zhang et al., 2018). GluHSeNPs exhibited a more compact size distribution, supporting the idea that glutelin derived peptides act as more effective coating agents.

Regarding surface charge, both nanoparticle system types exhibited negative zeta potentials, with TPHSeNPs showing a higher magnitude (-12.9 mV) than GluHSeNPs (-9.1 mV). These values fall within the range reported for biogenic SeNPs stabilized by proteins or polysaccharides (-18 to -27 mV), which confer relative colloidal stability through electrostatic repulsion (Tugarova et al., 2018; Ullah et al., 2021). However, the less harmful potential of GluHSeNPs suggests that stability is not solely electrostatic but also involves steric hindrance from peptide adsorption, as previously observed in β -lactoglobulin SeNPs and peanut peptide SeNPs (Zhang et al., 2018; Ye et al., 2020).

Overall, these results show that glutelin hydrolysates are superior stabilizers compared to total protein hydrolysates, yielding smaller, more uniform SeNPs with adequate surface charge. This is consistent with the higher antioxidant and emulsifying activities reported for glutelin fractions enriched with Se (Serrano-Sandoval et al., 2019; Hernández-Grijalva et al., 2022).

Table 2. Size, polydispersity index (PDI), and zeta potential of GluHSeNPs and TPHSeNPs

Tabla 2. Tamaño, índice de polidispersidad (PDI) y potencial zeta de las GluHSeNPs y las TPHSeNPs

Sample	Z-average (d.nm)	PdI	Zeta Potential (mV)
GluHSeNPs	135.73 $\pm$ 12.21 ^b	0.45 $\pm$ 0.05 ^a	-9.12 $\pm$ 1.85 ^b
TPHSeNPs	1043.7 $\pm$ 44.40 ^a	0.41 $\pm$ 0.90 ^a	-12.87 $\pm$ 0.31 ^a

Values are expressed as mean $\pm$ standard deviation of three repetitions. Different letters within the column indicate significant differences among types of nanoparticles according to the Tukey HSD test ($p < 0.05$). PTHSeNPs: Se nanoparticle functionalized with hydrolysate of chickpea total protein, GluHSeNPs: Se nanoparticle functionalized with hydrolysate of chickpea glutelin.

4. Conclusions

This study demonstrates that the <10 kDa glutelin hydrolysate of chickpea is an effective biomaterial for the green synthesis and functionalization of SeNPs, enhancing their antioxidant activity. GluHSeNPs exhibited more than 50 % higher antioxidant activity compared to glutelin peptides. Nevertheless, several limitations remain. The characterization was restricted to physicochemical and antioxidant properties, without biological validation such as cytotoxicity or bioavailability assays. In addition, structural characterization techniques, including transmission or scanning electron microscopy (TEM/SEM) and FTIR spectroscopy, were not applied, leaving gaps in the understanding of nanoparticle morphology and protein–selenium interactions. Addressing these aspects in future work will be essential to strengthen the translational potential of SeNPs in nutraceutical and biomedical applications.

CRediT authorship contribution statement

M.C.Q.: Investigation, Formal analysis, Writing-original draft. S.N.S.S.: Investigation, Conceptualization, Data curation. A.K.M.N.: Data curation, Methodology. J.M.A.: Methodology, Data curation. D.G.F.: Conceptualization, Writing-original draft, Investigation, Project administration, Supervision, Writing-review & editing.

Acknowledgements

The authors (Guardado-Félix, D.; Serrano-Sandoval S.N. and Milán-Noris, A.K) are affiliated with the INNOPROT network (Innovation Network for the Processing of Endemic Iberoamerican Plant Proteins), supported by CYTED (Red 124RT0164). The authors express their gratitude to the Universidad Autónoma de Sinaloa, and the FEMSA-Biotechnology Center at Tecnológico de Monterrey. This project was approved and funded by PROFAPI 2022. Research Promotion and Support Program. PRO_A7_014.

Conflict of interest

The authors declare they have no conflicts of interest.

5. References

- Alagesan, V., & Venugopal, S. (2019). Green synthesis of selenium nanoparticle using leaves extract of *Withania somnifera* and its biological applications and photocatalytic activities. *BioNanoScience*, 9(1), 105–116. <https://doi.org/10.1007/s12668-018-0566-8>
- Alhawiti, A. S. (2022). Citric acid-mediated green synthesis of selenium nanoparticles: Antioxidant, antimicrobial, and anticoagulant potential applications. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 14(5), 6581–6590. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02798-2>
- EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA), Turck, D., Bohn, T., Castenmiller, J., de Henauw, S., Hirsch-Ernst, K. I., ... & Naska, A. (2023). Scientific opinion on the tolerable upper intake level for selenium. *EFSA Journal*, 21(1), e07704. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2023.7704>
- Ghribi, A. M., Sila, A., Przybylski, R., Nedjar-Arroume, N., Makhoulouf, I., Blecker, C., Attia, H., Dhulster, P., Bougatef, A., & Besbes, S. (2015). Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysate of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein concentrate. *Journal of functional foods*, 12, 516–525. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.011>
- Guardado-Félix, D., Serna-Saldivar, S. O., Cuevas-Rodríguez, E. O., Jacobo-Velázquez, D. A., & Gutiérrez-Uribe, J. A. (2017). Effect of sodium selenite on isoflavonoid contents and antioxidant capacity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. *Food chemistry*, 226, 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.046>
- Hernández-Grijalva, M. I., Serrano-Sandoval, S. N., Gutiérrez-Uribe, J. A., Serna-Saldivar, S. O., Milán-Carrillo, J., Antunes-Ricardo, M., Villela-Castrejón, J., & Guardado-Félix, D. (2022). Application of protein fractions from selenized sprouted chickpeas as emulsifying agents and

- evaluation of their antioxidant properties. *Food and Bioproducts Processing*, 136, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2022.09.010>
- Hernández-Jabalera, A., Cortés-Giraldo, I., Dávila-Ortíz, G., Vioque, J., Alaiz, M., Girón-Calle, J., Megías, C., & Jiménez-Martínez, C. (2015). Influence of peptides–phenolics interaction on the antioxidant profile of protein hydrolysates from *Brassica napus*. *Food chemistry*, 178, 346–357. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.063>
- Kumar, N., Hong, S., Zhu, Y., Garay, A., Yang, J., Henderson, D., Zhang, X., Xu, Y., & Li, Y. (2025). Comprehensive review of chickpea (*Cicer arietinum*): Nutritional significance, health benefits, techno-functionalities, and food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 24(2), e70152. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70152>
- Milán-Noris, A. K., Rábago-Monzón, Á. R., Castro-Quintero, M. G., Antunes-Ricardo, M., Montoya-Rodríguez, Á., Montes-Ávila, J., Reyes-Moreno, C., & Guardado-Félix, D. (2025). Antioxidant, photoprotective, and in vitro antiaging assessment of optimized water/oil emulsions of selenized chickpea glutelin with rosehip oil or grapeseed oil. *Macromol*, 5(4), 59. <https://doi.org/10.3390/macromol5040059>
- Munteanu, I. G., and Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Osman, A. I., Zhang, Y., Farghali, M., Rashwan, A. K., Eltaweil, A. S., Abd El-Monaem, E. M., Badr, M. M., Ihara, I., Rooney, D. W., & Yap, P. S. (2024). Synthesis of green nanoparticles for energy, biomedical, environmental, agricultural, and food applications: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 22(2), 841–887. <https://doi.org/10.1007/s10311-023-01682-3>
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(10), 4619–4626. <https://doi.org/10.1021/jf010586o>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rezvankhah, A., Yarmand, M. S., Ghanbarzadeh, B., & Mirzaee, H. (2021). Generation of bioactive peptides from lentil protein: Degree of hydrolysis, antioxidant activity, phenol content, ACE-inhibitory activity, molecular weight, sensory, and functional properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(6), 5021–5035. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01077-4>
- Serrano-Sandoval, S. N., Guardado-Félix, D., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2019). Changes in digestibility of proteins from chickpeas (*Cicer arietinum* L.) germinated in presence of selenium and antioxidant capacity of hydrolysates. *Food Chemistry*, 285, 290–295. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.137>
- Shimada, B. K., Alfulaij, N., & Seale, L. A. (2021). The impact of selenium deficiency on cardiovascular function. *International journal of molecular sciences*, 22(19), 10713. <https://doi.org/10.3390/ijms221910713>
- Shi, X. D., Tian, Y. Q., Wu, J. L., & Wang, S. Y. (2021). Synthesis, characterization, and biological activity of selenium nanoparticles conjugated with polysaccharides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(13), 2225–2236. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1774497>
- Spicer, C. D., Jumeaux, C., Gupta, B., & Stevens, M. M. (2018). Peptide and protein nanoparticle conjugates: versatile platforms for biomedical applications. *Chemical Society Reviews*, 47(10), 3574–3620. <https://doi.org/10.1039/c7cs00877e>
- Tang, H. Y., Huang, Q., Wang, Y. L., Yang, X. Q., Su, D. X., He, S., Tan, J. C., Zeng, Q. Z., & Yuan, Y. (2020). Development, structure characterization and stability of food grade selenium

- nanoparticles stabilized by tilapia polypeptides. *Journal of Food Engineering*, 275, 109878. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109878>
- Tugarova, A. V., Mamchenkova, P. V., Dyatlova, Y. A., & Kamnev, A. A. (2018). FTIR and Raman spectroscopic studies of selenium nanoparticles synthesised by the bacterium *Azospirillum thiophilum*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 192, 458–463. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.11.050>
- Ullah, A., Yin, X., Wang, F., Xu, B., Mirani, Z. A., Chan, M. W. H., Ali, A., Usman, M., Ali, N., & Naveed, M. (2021). Biosynthesis of selenium nanoparticles (via *Bacillus subtilis* BSN313), and their isolation, characterization, and bioactivities. *Molecules*, 26(18), 5559. <https://doi.org/10.3390/molecules26185559>
- Waqar, M. A. (2025). A comprehensive review on recent advancements in drug delivery via selenium nanoparticles. *Journal of Drug Targeting*, 33(2), 157-170. <https://doi.org/10.1080/1061186X.2024.2412142>
- Xu, Y., Galanopoulos, M., Sismour, E., Ren, S., Mersha, Z., Lynch, P., & Almutaimi, A. (2020). Effect of enzymatic hydrolysis using endo-and exo-proteases on secondary structure, functional, and antioxidant properties of chickpea protein hydrolysates. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(1), 343-352. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00296-0>
- Ye, M. J., Xu, Q. L., Tang, H. Y., Jiang, W. Y., Su, D. X., He, S., Zeng, Q. Z., & Yuan, Y. (2020). Development and stability of novel selenium colloidal particles complex with peanut meal peptides. *LWT*, 126, 109280. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109280>
- Zhang, J., Teng, Z., Yuan, Y., Zeng, Q.-Z., Lou, Z., Lee, S.-H., & Wang, Q. (2018). Development, physicochemical characterization, and cytotoxicity of selenium nanoparticles stabilized by beta-lactoglobulin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107(Part B), 1406–1413. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.117>
- Zhou, Q., Xue, S., Zhang, L., & Chen, G. (2022). Trace elements and the thyroid. *Frontiers in endocrinology*, 13, 904889. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.904889>

2026 TECNOCENCIA CHIHUAHUA

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Use of Supercritical fluid extraction (SFE) as a Sustainable Strategy for Polyphenol Recovery from *Salvilla (Buddleja scordioides Kunth)*

Uso de la extracción por fluidos supercríticos (SFE) como estrategia sustentable en la recuperación de polifenoles de *Salvilla (Buddleja scordioides Kunth)*

Elizabeth Macías-Cortés^{1*}, Rubén Francisco González-Laredo², José Alberto Gallegos-Infante², Nuria Elizabeth Rocha-Guzmán², Mercedes Georgina Ramírez-Aragón¹, Reyna Margarita Hernández-Ramos¹, Jesús Alejandro, Valdés-Nieblas¹, Gustavo Adolfo Castillo-Herrera³

¹ Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico Superior de Lerdo, Dgo. Av. Tecnológico 1555 Sur, Periférico Gómez Palacio – Lerdo, 35150, Lerdo, Dgo., México.

² Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico de Durango. Felipe Pescador 1830 Ote., Col. Nueva Vizcaya, 34080, Durango, Dgo., México.

³ Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ) Unidad Zapopan, Camino Arenero 1227, El Bajío, 45019 Zapopan, Jal., México.

*Corresponding Author: E-mail: eli.macias@live.com.mx (Elizabeth Macías-Cortés)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v20i1.2175>

Received: 10 de diciembre de 2025; Approved: 29 de mayo de 2026

Published by the Autonomous University of Chihuahua, through the Research and Postgraduate Department.

Section Editor: Dra. Elizabeth Carvajal-Millán

Abstract

Emerging extraction technologies gained position due to their advantages in obtaining high-quality metabolites. Supercritical fluid extraction (SFE) recovers bioactive molecules while preserving their integrity. In this study, SFE was applied to *Buddleja scordioides* Kunth (salvilla) bush leaves, a species rich in phenolic compounds with medicinal properties. A central composite design of three factors was used: co-solvent percentage (ethanol), pressure, and extraction time. Extracts were evaluated for yield, total flavonoid content, antioxidant activity (ORAC and ABTS) and quantification of phenolic compounds by UPLC-PDA-ESI-MS/MS. Extraction yields ranged from 3.63-6.27 %, total phenolic content varied from 219.17-314.72 µg CE/mg extract. Antioxidant activity was ranged from

53.54–81.88 mmol TE/mg of salvilla leaves extract (SE) for ABTS and 78.69-185.40 mmol TE/mg SE for ORAC. The total phenolic content determined by UPLC-PDA-ESI-MS/MS was ranged from 4188.1-13008.2 ng/mg SE with the co-solvent as the most influencer factor. According to the general linear model (GLM), the central points (120 min, 150 bar, 20 % co-solvent) yielded the highest results. This work is original in its application of SFE, to improve the extraction of bioactive molecules. This work provides novelty by applying SFE, to enhance the extraction and quality of bioactive compounds. These results enhance the SFE as a sustainable strategy for the valorization of medicinal plants.

Keywords: salvilla, emerging extraction, supercritical fluids, phenolic acids, flavonoids.

Resumen

Las tecnologías de extracción emergentes cobraron relevancia por sus ventajas en la obtención de metabolitos de calidad. La extracción con fluidos supercríticos (SFE) recupera moléculas bioactivas preservando su integridad. En este estudio, se aplicó SFE a las hojas del arbusto de *Buddleja scordioides* Kunth (salvilla), especie rica en compuestos fenólicos con propiedades medicinales. Se empleó un diseño central compuesto de tres factores: porcentaje de co-solvente (etanol), presión y tiempo. Los extractos se analizaron para rendimiento, flavonoides totales, actividad antioxidante (ABTS y ORAC) y cuantificación fenólica mediante UPLC-PDA-ESI-MS/MS. Los rendimientos oscilaron entre 3.63-6.27 %, los compuestos fenólicos totales entre 219.17-314.72 µg CE/mg de extractos de hojas de salvilla (SE), actividad antioxidante entre 53.54-81.88 mmol TE/mg SE para ABTS y 78.69-185.40 mmol TE/mg SE para ORAC y el análisis por UPLC-PDA-ESI-MS/MS osciló entre 4188.1-13008.2 ng/mg SE siendo el co-solvente la variable de mayor influencia. De acuerdo con el modelo lineal general (MLG), los puntos centrales (120 min, 150 bares y 20 % de co-solvente) tuvieron los mejores resultados. Este trabajo aporta originalidad al aplicar SFE, para mejorar la extracción de compuestos bioactivos y su calidad. Los resultados exponen a la SFE como estrategia para obtener compuestos fenólicos de salvilla con capacidad antioxidante relevante, respaldando su aplicabilidad en la valorización sostenible de plantas medicinales.

Palabras clave: salvilla, extracción emergente, fluidos supercríticos, ácidos fenólicos, flavonoides.

1. Introduction

The extraction of natural compounds has been an integral part of human culture since antique times. Early societies, like the Chinese, Egyptians and even Mayans, relied on rudimentary methods like maceration and steam distillation for the preparation of herbal medicines, perfumes, and food preservatives (Azmir et al., 2013). Over centuries, these techniques evolved, but solvent-based extractions remained predominant, often relying on large volumes of organic solvents and energy-intensive processes.

Despite their widespread use, traditional extraction methods present significant disadvantages when applied to bioactive compound extraction. Prolonged extraction times and high temperatures can cause the degradation of thermolabile molecules, such as phenolic compounds, diminishing their activity (Chemat et al., 2019). Moreover, the use of toxic solvents of organic nature causes alarms

about environmental contamination, operator protection, and solvent residues in the final product, directly contradicting the principles of green chemistry (Mustafa & Turner, 2011). These tasks highlight the necessity for more sustainable and efficient options.

Emerging extraction technologies have gained momentum in recent decades as part of a broader shift toward green chemistry. Techniques such as ultrasound-assisted extraction (UAE), microwave-assisted extraction (MAE), pressurized liquid extraction (PLE) and supercritical fluid extraction (SFE) have demonstrated significant rewards over conventional technologies, like improved yields of bioactive compounds, shorter extraction times, and reduced solvent use (Usman et al., 2023). They are closely associated with the 12 principles of green chemistry, offering cleaner, safer, and more energy-efficient approaches to phytochemical recovery (Chemat et al., 2015).

Among these, supercritical fluid extraction (SFE) stands out for its unique physico-chemical foundation. SFE uses the properties of fluids in their supercritical phase, beyond their critical pressure and temperature, where they demonstrate gas-like diffuseness and liquid-like dissolving power (Banafi et al., 2023). For this, carbon dioxide (CO₂), is the commonly utilized supercritical fluid since it is non-toxic, easily removed from extracts, inexpensive, and non-flammable, properties given by its low critical pressure (73.8 bar) and temperature (31.1 °C). The closed, oxygen-free, and low-temperature environment of SFE minimizes oxidation and thermal degradation, making of this technology particularly appropriate for obtaining thermosensitive bioactive molecules (Vinitha et al., 2022; Sheibani et al., 2024). In this way this technique allows the use of co-solvents, such as ethanol that offers several advantages in the obtention of bioactive compounds. By adjusting pressure, temperature, and the proportion of ethanol, the extraction process can be selectively directed to obtain more specific chemical profiles with fewer impurities, while requiring significantly smaller solvent volumes compared to conventional ethanolic extractions (Herrero et al., 2006; Reverchon & De Marco, 2006).

In this context, SFE offers notable potential for the obtention of phenolic molecules, key secondary metabolites that have anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant activities from medicinal plants. In this tenor, *Buddleja scordioides* Kunth, commonly known as "salvilla," is an endemic bush widely disseminated in Mexico and habitually used in traditional medicine for its healthy properties such as anti-inflammatory and wound-healing properties (Ávila-Acevedo & Romo-de-Vivar, 2002; Díaz-Rivas et al., 2015; Villegas Novoa et al., 2019). Phytochemical studies have revealed that salvilla is rich in polyphenols, particularly flavonols and phenolic acids, which confer its pharmacological activities (Macías-Cortés et al., 2022).

Given the sensitivity of polyphenolic compounds to heat and oxidation, SFE emerges as a particularly advantageous method for their recovery from salvilla. Previous research has demonstrated the successful application of SFE for extracting polyphenols and other bioactives from diverse plant matrices, including Amaryllidaceae alkaloids (Pilařová et al., 2025), rosemary (*Salvia rosmarinus*) (Ayyildiz et al., 2024), green tea (*Camellia sinensis*) (Dębczak et al., 2024), and grape seeds (*Vitis vinifera*) (Coelho et al., 2018), achieving high yields and preserving bioactivity. Such precedents highlight the promise of optimizing SFE conditions to maximize the yield and functionality of salvilla leaves extracts, paving the way for their potential use for pharmaceutical, nutraceutical, and cosmetic products. The aim of the present work is to evaluate the extraction of bioactive compounds from *Buddleja scordioides* Kunth (salvilla) using the supercritical fluid extraction, using a central composite design; this can help to determine the optimal conditions to maximize yield, phenolic content, and antioxidant activity of the salvilla leaves extracts.

2. Materials and methods

2.1 Chemical reagents

For total flavonoids catechin, (HPLC grade), potassium persulfate ($K_2S_2O_8$), aluminum chloride ($AlCl_3$), sodium hydroxide (NaOH), and sodium nitrite ($NaNO_2$) were used. Finally, for 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic) acid (ABTS) and Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) antioxidant techniques fluorescein, monobasic potassium phosphate, ABTS radical, dibasic potassium phosphate, 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) radical and Trolox® were used. For the Ultra High-Performance Liquid Chromatography system coupled to a Xevo TQs triple-quadrupole detector with photodiode array and electrospray interfaces (UPLC-PDA-ESI-MS/MS) determinations, this reference standards and solvents were employed: luteolin, quinic acid, neohesperidin, ferulic acid, 4-hydroxybenzoic acid, apigenin, chlorogenic acid, acetonitrile (HPLC grade), syringic acid, protocatechuic acid, naringenin, caffeic acid, benzoic acid, eryodictiol, kaempferol 3-O-glucoside, ethanol, sinapic acid, shikimic acid, rutin, 2,4,6-trihydroxybenzaldehyde, vanillic acid, acacetin, quercetin-O-glucoside, trans-cinnamic acid, naringin, myricetin, methanol, 4-O-caffeoylquinic acid, quercetin, coumaric acid, quercetin glucuronide, kaempferol. All chemical reagents (reagent or LC grade) and standards (HPLC grade) were purchased from Sigma-Aldrich® (Merck KGaA, Darmstadt, Germany).

2.2 Methods

2.2.1 Collection of salvilla leaves

In 2018, wild bushes of *Buddleja scordioides* Kunth were harvested near Victoria de Durango, Durango, México (24°00'00" N, 104°24'59" W). After collection, the salvilla leaves were detached from the stems and air-dried at 25 °C under light-protected conditions. Once dehydrated (with a moisture content of 5.32 ± 0.3 %), the plant material was ground using a #2 sieve knife mill (IKA®, Staufen, Germany) and subsequently kept in sealed containers until further use.

2.2.2 Supercritical fluid extraction (SFE)

A portion of milled salvilla leaves (55 g) was introduced into the extraction chamber of a Thar® SFE system (Pittsburg, USA). Extractions were carried out at 40 °C, using CO_2 as the primary solvent and ethanol as co-solvent with a 10 mL/min flow, varying the co-solvent percent, pressure, and time (described in statistical analysis). To recover each extract, the ABPR valve was gradually opened in increments to prevent freezing, with the instrument software controlling the opening at a rate of 5 % per minute, enabling collection from the separator vessel. A total of fifteen SFE conditions were used (Table 1). After each extraction, the system was slowly depressurized, the collected material was retrieved from the vessel, and it was stored under refrigeration and protected from light until further analysis.

Table 1. Treatment conditions**Tabla 1.** Condiciones de los tratamientos

Treatment	Run	Time (min)	Pressure (Bar)	Co-solvent (%)
1	13	162.4	185.4	16.5
2	4	162.4	114.6	23.5
3	14	77.6	185.4	23.5
4	1	77.6	114.6	16.5
5	7	60	150	20
6	15	180	150	20
7	9	120	100	20
8	6	120	200	20
9	2	120	150	15
10	5	120	150	25
11	3	120	150	20
12	10	120	150	20
13	8	120	150	20
14	11	120	150	20
15	12	120	150	20

2.2.3 SFE extracts pre-treatment to lyophilization

Because all extracts were generated using ethanol as the co-solvent, it was necessary to remove the organic phase before freeze-drying. For this purpose, distilled water equivalent to 25 % (v/v) of each extract was added, followed by solvent removal in a Büchi® rotary evaporator (New Castle, USA) at 40 °C. Once the alcohol had been eliminated, the aqueous extracts were frozen and subsequently lyophilized in a Labconco® freeze dryer (Kansas City, Missouri, USA). The resulting dry powders were kept under desiccated conditions until further use.

2.2.4 Extraction yield

The energy content of the supplement was estimated based on its nutritional composition, in accordance with Mexican Official Standard NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Quantification of the total macronutrient content (proteins, lipids, and carbohydrates) was performed. Subsequently, Atwater's general conversion factors were applied, assigning 4 kcal per gram to proteins and carbohydrates, and 9 kcal per gram to lipids (Sánchez-Peña et al., 2017). Results were represented as kilocalories per 100 grams of supplement (kcal/100 g).

To determine the extraction yield, 55 g of dried salvilla leaves were exposed to the SFE procedure and later lyophilized. Extraction yield was expressed as the percentage of recovered extract relative to the dry mass:

$$\text{Extraction yield(\%)} = \frac{\text{lyophilized extract mass}}{\text{initial dry mass}} \times 100$$

2.2.5 Total flavonoid content

Total flavonoids were assessed using the methodology reported by Rosales-Villarreal et al. (2022). For the calibration curve, catechin solutions (0–300 µg/mL) were prepared. Samples of the lyophilized SFE extracts were diluted in a milliliter (mL) of deionized water. Then, 20 µL of each standard, blank, or sample were blended with 5 % NaNO₂ (7.5 µL), 10% AlCl₃ (15 µL), 1 M NaOH (50 µL), and 157 µL distilled water. The reaction mixtures were protected from light for 5 min, and absorbance was recorded at 570 nm using a Daigger microplate reader (Buffalo Grove, IL, USA). Results were expressed as µg of catechin equivalents per mg of salvilla leaves extract (µg CE/mg SE).

2.2.6 Antioxidant activity of samples

For this project, both electron-transfer (ABTS) and hydrogen-donation (ORAC) assays were used to evaluate antioxidant capacity in all treatments.

The ABTS assay was performed according to the method reported by Macías-Cortés et al. (2022). After the ABTS•⁺ radical was activated by mixing equal quantities of ABTS solution (7 mM) and potassium persulfate solution (2.45 mM) and allowing them to react at room temperature for 16 h in the dark, this was diluted with 5 mM phosphate buffered-saline (PBS) buffer (pH 7.4) to achieve an absorbance of 0.700 ± 0.02 nm at 750, then 10 µL of diluted blank, sample, or Trolox® (50µM) were aggregated to 190 µL of diluted ABTS•⁺ radical. After 10 min in the dark, absorbance was measured at 750 nm using a Daigger® microplate reader (Vernon Hills, IL, USA). Results were reported as mmol Trolox equivalents per mg of salvilla leaves extract (mmol TE/mg SE). In other hand, ORAC assay was adapted from Rosales-Villarreal et al. (2022). Each well received 20 µL of diluted blank, sample or Trolox® (50µM), and then, 200 µL fluorescein (1.09 µM) were added. After a 15 min incubation at 37 °C using a Synergy HT® microplate reader (Bio-Tek, Winooski, VT, USA), 75 µL of 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) radical (79.65 mM) were added. In this assay, fluorescence of each well was monitored each 1.5 min, finishing at 2.5 h. The readout was programmed at 485 nm for excitation and 535 nm for emission. Antioxidant activity was calculated from the area under each decomposition curve and reported as mmol TE/mg dry salvilla leaves extract.

2.2.7 Phenolic characterization by Liquid chromatography – mass spectroscopy (UPLC-PDA-ESI- MS/MS)

For phenolic characterization, profiling was performed following the Díaz-Rivas et al. (2018) method with some modifications. Analyses were performed using a Waters Ultra High-Performance Liquid Chromatography (UPLC) system coupled to a Xevo TQS triple-quadrupole detector with PDA and ESI interfaces (Xevo TQS, Waters Corp., Wexford). Samples were injected via a temperature-controlled manager (6 °C) into an Agilent® C18 column (150 × 2.1 mm, 1.7 µm). The elution involved solvent A composed of 7.5 mM formic acid and solvent B that is acetonitrile, this according to the following gradient: 97:3 (A:B) at 0 min; 91:9 at 1.23 min; 84:16 at 3.82 min; 50:50 at 11.40 min; returning to 97:3 at 13.24–15.00 min. The elution flow rate was 250 µL/min, while methanol/formic acid introduced at 0.210 mL/min as co-solvent was added post-separation to stabilize ion formation. Total

runtime was 15 min. Mass spectrometry was conducted in Multiple Reaction Monitoring (MRM) mode, operating in negative ESI with the following parameters: cone 30 V, capillary 2.25 kV, desolvation 400 °C, source 150 °C, desolvation gas 800 L/h, cone gas 150 L/h, collision gas 0.13 mL/min, MS collision energy 2.0 eV, and MS/MS 20 eV. Phenolic standards at 20 ng/μL were used to establish retention times, m/z values, and fragmentation patterns. Data acquisition and processing were performed using MassLynx v4.1 Software (Waters Corp., Milford, MA). Samples were prepared at 10 mg per milliliter (mg/mL), filtered through 0.45 μm acrodiscs, and placed into amber vials in the autosampler, with injected 1 microliter for the assay. The results were expressed as ng of phenolic compound per mg of salvilla leaves extract.

2.2.8 Experimental design and data analysis

The use of a central composite design (CCD) is widely recommended for multivariable optimization in extraction technologies, particularly in SFE, where process efficiency and selectivity depend on synergistic effects between operational parameters (Herrero et al., 2006; Bezerra et al., 2008). For the experiment a CCD was chosen, small type, with 15 experimental runs: 10 without central points and 5 with central points, using an alpha (α) of 1.41421. The independent variables were extraction time, pressure and cosolvent percent according to the follow table 2:

Table 2. Independent variables of the experiment

Tabla 2. Variables independientes del experimento

Factor	- 1	- α	0	α	1
Time (min)	60	77.57	120	162.43	180
Pressure (bar)	100	114.64	150	185.36	200
Co-solvent (%)	15	16.46	20	23.54	25

Furthermore, a general linear model (GLM quadratic modeling) was employed to analyze the experimental data because it allows the simultaneous evaluation of the individual and interactive effects of the extraction variables included in the central composite design. Results are shown in RSM graphics. The analysis was performed using obtained data from statistical software Design Expert® (Minneapolis, USA) and Statistica v. 12.0 software (Palo Alto, CA, USA).

3. Results and discussion

3.1 Extraction yield

Once the SFE salvilla leaves extracts were obtained, all treatments were lyophilized and their yield considered, where all samples were from 3.6 to 6.3 % (central points had an average of 4.90 ± 0.1 %). These results were fitted to a linear model in which the most influential factor according to their equation is ethanol ($p = 0.0001$) (Table 3).

Table 3. Modeling for each extraction parameter**Tabla 3.** Modelamiento para cada parámetro de extracción

EP	Model	<i>p</i> value
Yield	$1.60 + 0.02a + 0.003b - 0.07c$	0.0001
TFM	$-295.23 - 1.10a + 3.37b - 29.31c - 0.01ab + 0.11ac - 0.05bc + 0.004a^2 + 0.001b^2 - 0.70c^2$	0.0011
ABTS	$-19.05 - 1.49a + 0.88b + 7.89c + 0.0007ab + 0.03ac - 0.04bc + 0.004a^2 + 0.00002b^2 - 0.10c^2$	0.005
ORAC	$-1749.04 + 5.17a + 9.43b + 94.31c + 0.01ab - 0.06ac - 0.28bc - 0.02a^2 - 0.01b^2 - 1.21c^2$	0.0005
TPC	$-152999 + 400.76a + 658.99b + 9576.79c - 0.37ab - 11.52ac - 24.71bc - 0.52a^2 - 0.58b^2 - 114.18c^2$	0.0004

*EP= extraction parameters; TFM = Total flavonoids (microplate); TPC = total phenolic compounds a= time b= pressure c= cosolvent

Although the co-solvent is the most influential factor, it can be noticed that minimum yield corresponds to a 60 min of extraction, while 6.3 % corresponds to 162.4 min, treatment obtained at 180 min had a yield of 6.0 %. Fig. 1 showed the yield modeling in a 2D surface method response graphic. In this respect, the obtained results of yield were smaller than the observed by traditional technologies such as the reported by Avila-Acevedo & Romo-de-Vivar (2002), who made a successive extraction of salvilla, beginning with hexane, then ethyl acetate and finally methanol, reporting 15.15 % of yield. Another case is the salvilla extract obtained using an infusion method made (Herrera-Carrera et al., 2015), obtained a 20.31 ± 0.61 % of yield extraction. In the other hand, SFE showed lower yield extraction than the other one obtained by ultrasound assisted extraction (UAE), an emergent technology made by Macías-Cortés et al. (2022), who reported a yield extraction of 10.58 ± 0.33 to 12.92 ± 0.40 % in hydroalcoholic salvilla leaves extracts obtained with different conditions such as wave amplitude, time, and ethanol percent. The yield obtained in this work is similar to the described by Perez-Gutierrez & Vargas-Solis (2008) who reported a yield of 7.6 % in a successive extraction consisted of hexane, chloroform and methanol (in this order) salvilla extract. Fig. 1.

Despite the comparatively lower extraction yields obtained through supercritical fluid extraction (SFE), this behavior is consistent with the intrinsic characteristics of the technique. SFE typically produces smaller quantities of extract than conventional or solvent-intensive methods (Pourmortazavi & Hajimirsadeghi, 2007); however, it offers significant technological advantages that justify its use for the recovery of bioactive compounds. Because CO₂ is non-toxic, non-flammable, and easily removed from the final product, SFE generates cleaner extracts free of solvent residues, which is particularly valuable for applications in food, nutraceutical, and pharmaceutical formulations (Herrero et al., 2006; Reverchon & De Marco, 2006). Additionally, the process operates under mild temperatures, reducing thermal degradation of thermolabile compounds and improving the preservation of antioxidant constituents (Plaza & Turner, 2015). From an environmental perspective, SFE is considered a more sustainable alternative, as it minimizes the use of organic solvents and allows CO₂ to be recycled within the system, reducing waste generation and ecological impact. Therefore, although the yields obtained in this study were lower than those reported for traditional extraction techniques, the high purity, safety, and sustainability associated with SFE position it as a competitive and environmentally responsible method for salvilla bioactive compound recovery.

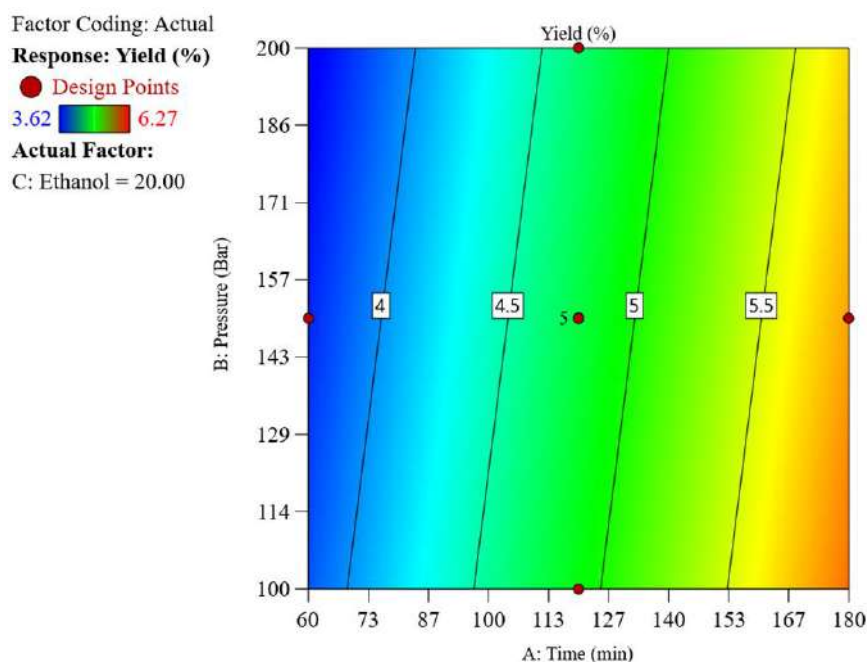


Figure 1. Yield of salvilla leaves extract (2D surface response model)

Figura 1. Rendimiento del extracto de salvilla (modelo de superficie de respuesta en 2D)

3.2 Total flavonoid content

The flavonoids are a group of secondary metabolites acknowledged for their anti-inflammatory, antioxidant, and protective properties against oxidative stress. Their quantification is a key indicator of the biological potential of plant extracts and serves as an important criterion to assess the efficiency of extraction methods. Therefore, determining the total flavonoid content provides valuable insight into the capacity of supercritical fluid to recover bioactive compounds with functional relevance (Herrero et al., 2006; Macías-Cortés et al., 2020).

In this tenor, a total flavonoid content by microplate was done for all treatments. These results were adapted to a quadratic model where the most influential factor according to their equation was ethanol ($p = 0.0011$) (Table 3). The achieved values ranged from 219.17 to 314.72 $\mu\text{g CE/mg SE}$, with the central points showing a mean value of $270.43 \pm 1.2 \mu\text{g CE/mg SE}$ (Fig. 2) where it seemed that higher values can be found in higher ethanol percent. Despite the lower yields obtained, supercritical fluid extraction demonstrated to be a competitive emerging technology since flavonoid content was higher than the reported in other works, for example, Macías-Cortés et al. (2022) with values of $107.3 \pm 3.0 - 224.9 \pm 6.3 \mu\text{g CE/mg SE}$ in samples obtained with ultrasound assisted extraction, and the described by Díaz-Rivas et al. (2015), who informed quantities of $10.8 \pm 0.05 \mu\text{g CE/mg SE}$ in a salvilla infusion and their work where the salvilla infusion and $7.06 \pm 0.4 \mu\text{g CE/mg SE}$ in a concentrated salvilla infusion. These findings confirm that ethanol, in synergy with supercritical CO_2 , enhances the recovery of metabolites like flavonoids as a consequence of its polarity and solvent affinity. Moreover, the supercritical CO_2 phase improves the solubilization and mass transfer of medium-polarity molecules, thereby increasing their concentration in the last extracts (Herrero et al., 2006).

Therefore, the ability of SFE to selectively enrich flavonoids positions this method as an auspicious green replacement for the obtention of functional molecules from salvilla and related medicinal plants.

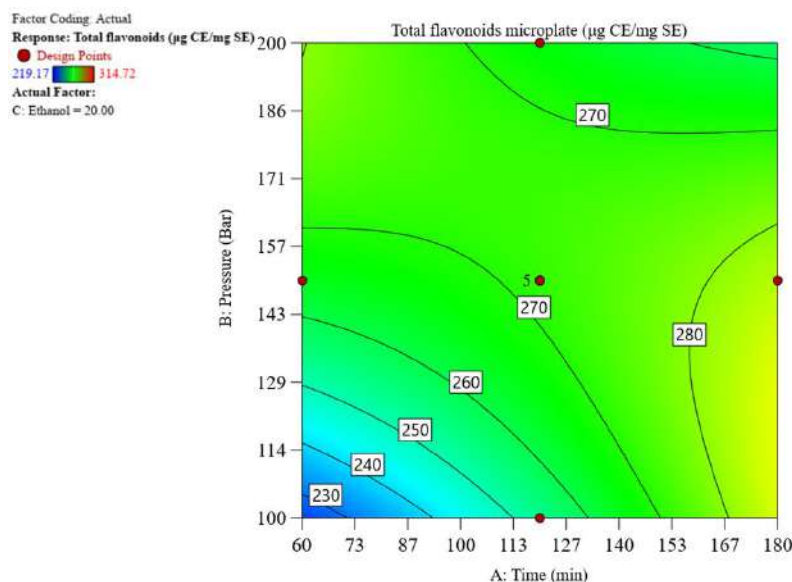


Figure 2. Total flavonoids content by microplate (2D surface response model)

Figura 2. Contenido de flavonoides totales por microplaca (modelo de superficie de respuesta en 2D)

3.3 ABTS assay

The production of reactive oxygen species and free radicals during oxidation processes in biological and food systems can damage DNA, proteins and lipids, leading to several chronic diseases and the deterioration of food quality. Therefore, evaluating the antioxidant capacity of natural bioactive compounds or plant extracts is essential to evaluate their functional potential, either as nutraceutical ingredients or for applications in functional foods. The ABTS assay has become a standard tool for this purpose due to its versatility. The ABTS^{•+} radical cation exhibits a characteristic absorption that decreases when an efficient antioxidant neutralizes it. Additionally, its rapid reaction and good reproducibility make it an assay of choice for screening and comparing antioxidant capacity between samples (Dawidowicz and Olszowy, 2013).

In this study, the antioxidant activity measured by the ABTS assay showed a clear dependence on the extraction conditions, particularly on ethanol concentration, as indicated by the quadratic model that best fitted the data ($p = 0.005$). For all the samples, quantities were going from 53.54 to 81.88 mmol TE/mg SE; in this tenor, central points had an average of 62.83 ± 0.8 mmol TE/mg SE. Ethanol percentage was the factor with the greatest influence on the results (Fig. 3), suggesting that solvent polarity played a key role in the extraction efficiency of antioxidant compounds.

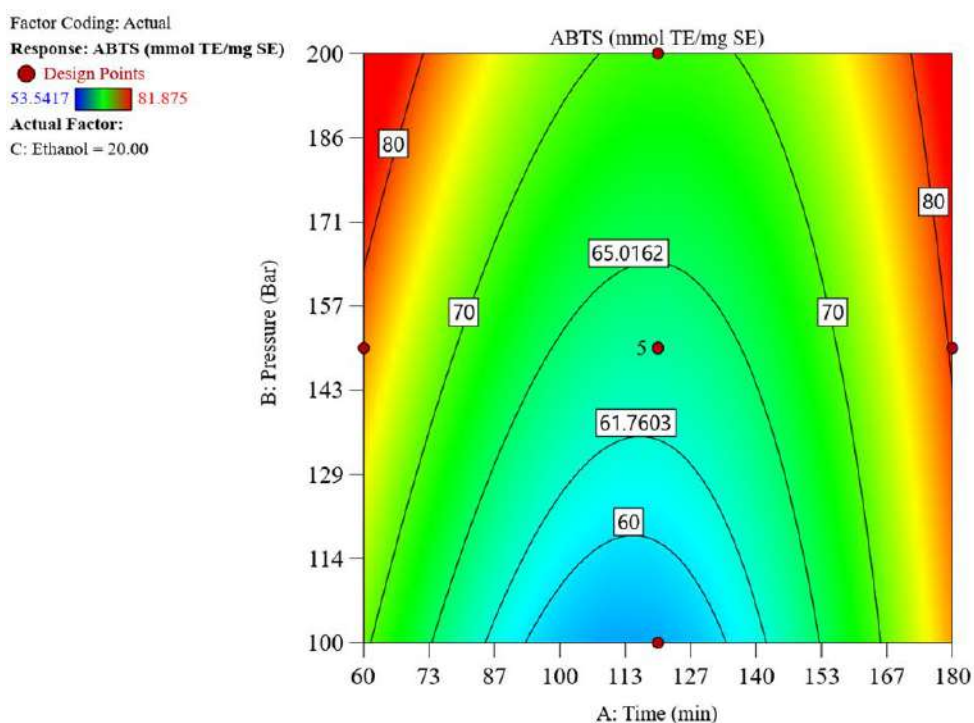


Figure 3. Antioxidant activity by ABTS assay (2D surface response model)

Figura 3. Actividad antioxidante por el ensayo ABTS (modelo de superficie de respuesta en 2D)

This result aligns well with previous findings in which the addition of ethanol as a co-solvent in supercritical- CO_2 based extraction enhanced the recovery of antioxidant phenolics or flavonoids, likely by improving the polarity match between solvent and solutes. In contrast to the performance obtained with ethanol as a co-solvent in supercritical CO_2 extraction, studies using methanol as a co-solvent have shown comparatively lower antioxidant efficiency. For example, Uwineza et al. (2021) reported that SFE extracts of *Lamium album* obtained with methanol as co-solvent exhibited values for ABTS assay ranging only from 0.043 to 0.045 $\mu\text{g TE/mg extract}$, indicating limited antioxidant capacity under those conditions. The influence of ethanol concentration aligns with the chemical nature of the bioactive compounds typically extracted from plant matrices. Phenolic compounds—such as phenolic acids, flavonoids, and tannins—are widely recognized for their strong radical-scavenging capacity due to their ability to donate electrons or hydrogen atoms, effectively neutralizing reactive species like $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (Rice-Evans et al., 1997). Because these compounds exhibit intermediate polarity, ethanol can enhance supercritical CO_2 extraction. Moderate ethanol concentrations tend to favor the simultaneous solubilization of both polar phenolic acids and less polar flavonoid aglycones, which may explain the increased antioxidant activity observed at specific ethanol levels (Radzali, 2020). To support this, Lee et al. (2020) reported that increasing ethanol concentration during conventional extraction significantly elevated antioxidant activity in citrus peel extracts, supporting the idea that ethanol concentration modulates the extraction of compounds with high antioxidant potential.

Overall, the relationship between extraction conditions, bioactive compound solubility, and antioxidant activity underscores the importance of optimizing solvent composition to maximize the

functional potential of plant-derived extracts. However, excessively high ethanol proportions may diminish the supercritical CO₂ diffusivity or reduce selective extraction by co-extracting non-target constituents, which may dilute the specific antioxidant compounds (Radzali, 2020).

3.4 ORAC assay

The measurement of antioxidant activity by ORAC assay is a reliable and extensively used method in the evaluation of natural extracts. This is based on their capability to neutralize the peroxy radicals. Unlike other assays that rely on single-electron transfer mechanisms, ORAC measures the hydrogen atom transfer capacity, providing a more physiologically relevant estimate of antioxidant performance. This assay has been widely used to evaluate plant-derived phenolics and flavonoids, specifically regarding their antioxidant capacity, allowing quantitative comparison of different extraction methods and treatments (Ou et al., 2001).

In Fig. 4 the response surface graphic, illustrates the effects of extraction time and pressure and with 20 % of ethanol as co-solvent, expressed in mmol TE/mg SE, and the results were fit to a quadratic model ($p = 0.0005$). In this sense, values were going from 78.69 to 185.40 mmol TE/mg SE, obtaining the central points the highest values, with an average of 183.60 ± 2.0 mmol TE/mg SE. According to the equation in Table 3, co-solvent was the most influential factor. In SFE, ethanol functions as an effective polarity modifier, enabling fine-tuning of the solubility of phenolic compounds, flavonoids, and other metabolites. Moreover, when used as a co-solvent, ethanol increases the polarity of the supercritical CO₂ phase, facilitating the recovery of polar bioactive compounds typically obtained through traditional ethanolic extraction, but with the added advantages of higher purity and reduced thermal or oxidative degradation (Machmudah et al., 2006). It can be seen that Supercritical fluid extraction can enhance the obtention of bioactive compounds. As an example, Picos-Salas et al. (2024) observed that supercritical fluid extract from Mexican oregano (*Lippia graveolens*) showed an ORAC activity of 6923.65 ± 57.2 μ mol TE/g extract while the methanolic extract obtained from the same specie had 3577.08 ± 195.09 μ mol TE/g extract, a 48.33 % less activity than the obtained with this suitable emerging technology. Supercritical CO₂, particularly when modified with a polar solvent, exhibits strong affinity for highly bioactive antioxidant molecules with elevated radical-scavenging capacity (Pilařová et al., 2024).

In summary, the response surface trends clearly demonstrate that the combination of moderate pressure and adequate extraction time maximizes the obtention of bioactive molecules, highlighting the strong influence of these parameters on the increase of antioxidant molecules recovery. The high values obtained at the central points of the present work, together with those observed by Picos-Salas et al. (2024), reinforce the idea that supercritical CO₂ can be used potentially as an efficient method for obtaining antioxidant molecules from salvilla.

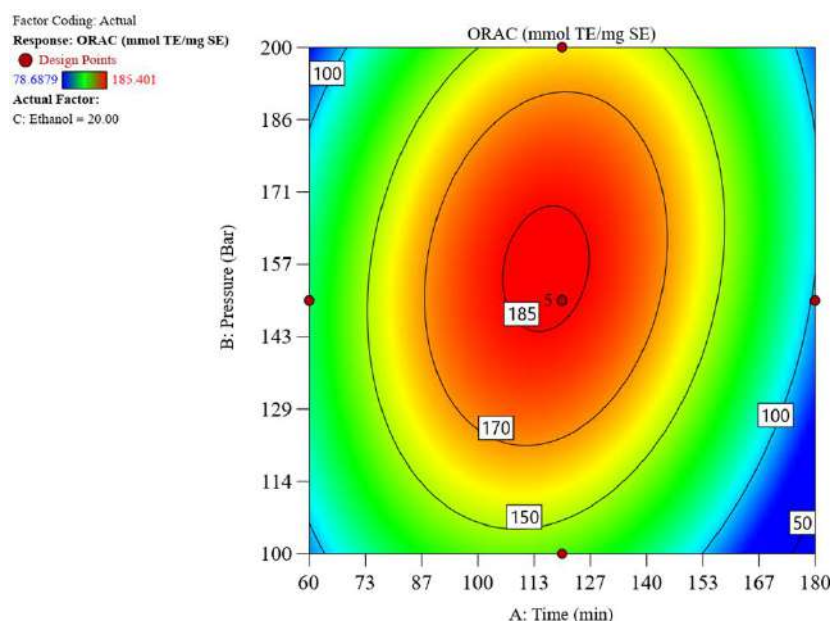


Figure 4. Antioxidant activity by ORAC assay (2D surface response model)

Figura 4. Actividad antioxidante por el ensayo ORAC (modelo de superficie de respuesta en 2D)

3.5 Identification and quantification of Total Phenolic compounds

As previously reported, *salvilla* is characterized by a rich and diverse phenolic profile, which contributes to many of its traditional and pharmacological properties. Its phenolic matrix typically includes flavonoids and their glycosides, along with phenylethanoid derivatives, and hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids reported in different plant parts (Macías-Cortés, et al., 2022). These molecules are acknowledged for their anti-inflammatory, antioxidant and cytoprotective activities, making *salvilla* a relevant source of bioactive metabolites. Under this idea, it is important to determine whether bioactive compounds can be extracted, identified, and quantified from supercritical fluid extracts.

Using UPLC-PDA-ESI-MS/MS five groups of phenolic compounds were identified in the extracts. In this study, as hydroxybenzoic acids were discovered protocatechuic, benzoic, syringic, 4-hydroxybenzoic, shikimic, quinic and vanillic acids, giving a total hydroxybenzoic acids from 338.6 to 622.0 ng/mg of SE, while in the hydroxycinnamic acids group were found coumaric, caffeic, ferulic, caftaric, 4-O-caffeoylquinic, chlorogenic and trans cinnamic acids, with a total content going from 123.8 to 238.6 ng/mg of SE. For total flavones, apigenin, luteolin and acacetin were detected, with total values ranging from 374.30 to 848.00 ng/mg of SE; sample 7 obtained at 120 min, 100 Bar and 20 % of co-solvent had the highest values. Another identified group was flavanones, containing eriodictiol, naringenin and naringin, with total values from 4.30 to 19.60 ng/mg of SE, this the result obtained at 180 min, 150 Bar and 20 % of ethanol (sample 6). Finally, many molecules of flavonols group were found, such as mirycetin, kaempferol and its glucoside, rutin, and the most important, quercetin and its glucosides, quercetin glucuronide and quercetin-3-O-glucoside, quercetin is known as a powerful anti-inflammatory molecule (Villegas-Novoa et al., 2019). This group had the highest concentration

in sample 7, who showed 11586.70 ng/mg of SE. This profile is consistent with the reported by Macías-Cortés et al. (2022) who performed an ultrasound-assisted extraction of salvilla using a hydroalcoholic solvent.

Fig. 5 presents the response surface plot evaluating the effects of pressure and time of extraction on the content of total phenolic compounds (ng/mg of SE), while keeping the ethanol concentration constant at 20 %. In this sense, values ranged from 4185.10 to 13008.20 ng/mg of SE, with sample 7 showing the highest values. These discoveries are consistent with previous reports showing that adequate extraction times and the use of polar co-solvents such as ethanol can improve the recovery of bioactive molecules using supercritical or pressurized fluid-based technologies (Díaz-Rivas et al., 2015; Macías-Cortés et al., 2022; Rosales-Villarreal et al., 2022).

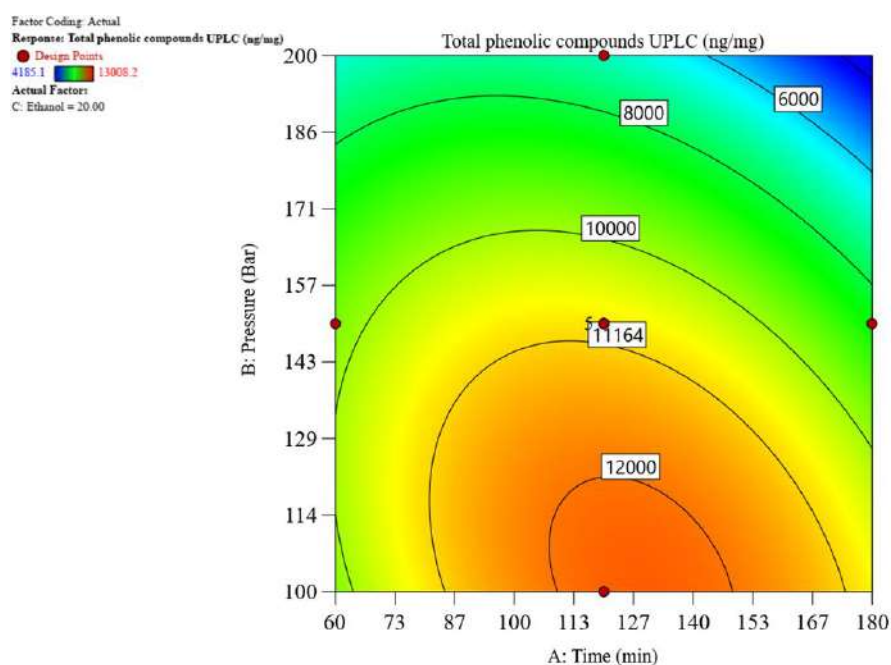


Figure 5. Total phenolic compounds by UPLC-PDA-ESI-MS/MS (2D surface response model)

Figura 5. Compuestos fenólicos totales por UPLC-PDA-ESI-MS/MS (modelo de superficie de respuesta en 2D)

3.6 General Linear Modeling of treatments

Regarding optimal conditions for salvilla leaves extraction, a General linear Modeling (GLM) was used with a quadratic fit, and a comparison between factors was performed, revealing a good fit. According with this, in Fig. 6a can be observed that higher values of bioactive compounds and its antioxidant activity can be obtained up to 120 minutes, no matter how much pressure is applied on the system (desirability 8.0), the same behaviour can be observed in Fig. 6b (desirability 7.5), were no matter how much pressure were added to the system, it did not have any influence on the results, getting a good extract beginning in 20 % of ethanol. Finally, in Fig. 6c it can be observed that from 20 % of ethanol and 120 minutes of extraction it is possible to obtain good results, with a good quality

extract, this can be a benefit since the process can be expensive compared to other emerging technologies.

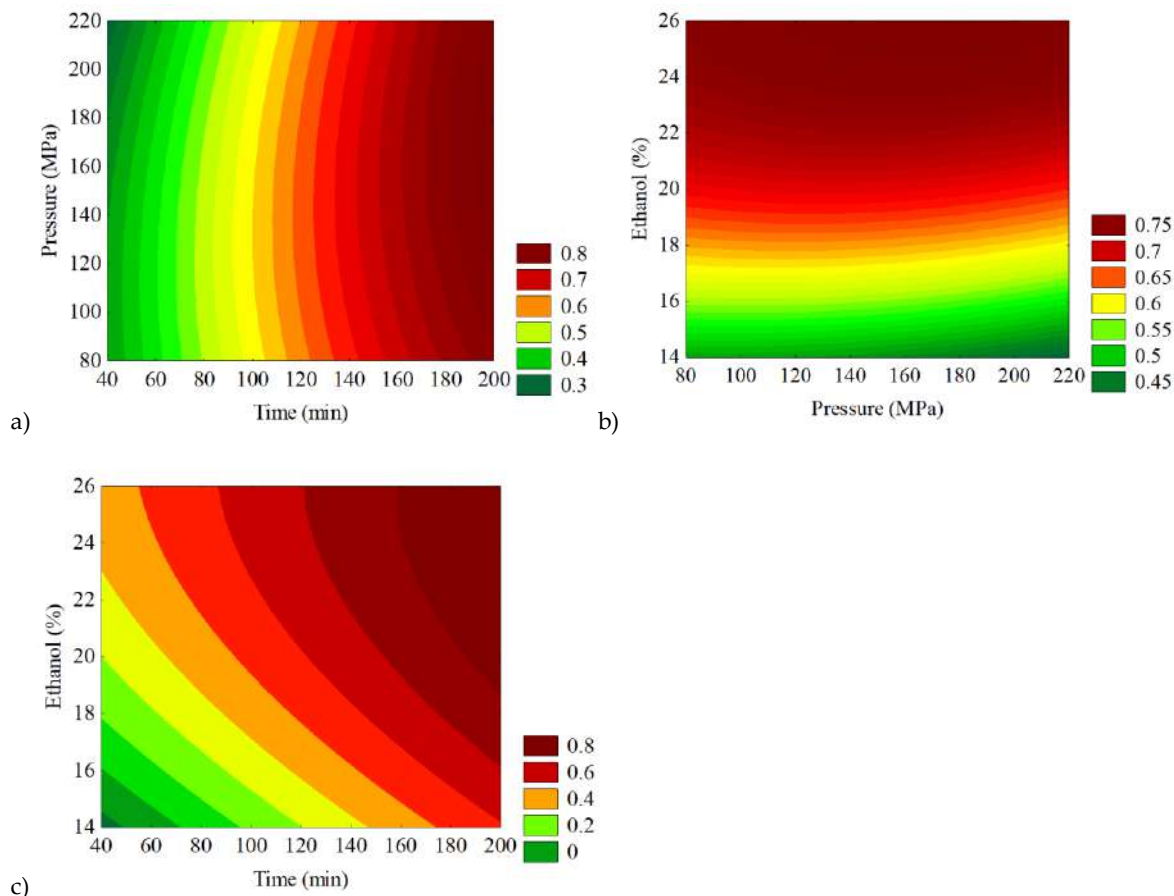


Figure 6. a) General Linear Modeling desirability contours (Quadratic fit) of pressure vs time; b) General Linear Modeling desirability contours (Quadratic fit) of ethanol vs pressure; c) General Linear Modeling desirability contours (Quadratic fit) of ethanol vs time

Figura 6. a) Contornos de deseabilidad del Modelo Lineal General Linear (Quadratic fit) de la presión vs tiempo; b) Contornos de deseabilidad del Modelo Lineal General Linear (Quadratic fit) del etanol vs presión; c) Contornos de deseabilidad del Modelo Lineal General Linear (Quadratic fit) de etanol vs tiempo

4. Conclusions

In the present work, the extraction of bioactive compounds from salvilla was evaluated using supercritical fluid extraction, with a central composite design. Supercritical fluid extraction (SFE) of *Buddleja scordioides* Kunth (salvilla) has demonstrated to be an effective, environmentally friendly, and promising green emerging technology for the recovery of phenolic compounds, antioxidant metabolites, and other bioactive molecules, despite achieving lower extraction yields compared to conventional or alternative emerging extraction methods. Ethanol concentration consistently

emerged as the most influential factor on extraction yield and the recovery of phenolic and flavonoid compounds, as confirmed by statistical modeling, highlighting its key role in modulating solvent polarity and enhancing solubilization of medium-polarity compounds. On the other hand, supercritical fluid extraction (SFE) enables the recovery of compounds with antioxidant capacity and other biologically relevant activities, often surpassing the performance of extracts obtained with conventional solvents; antioxidant assays confirmed this behavior, while UPLC-PDA-ESI-MS/MS profiling revealed diverse phenolic groups, predominantly flavonols such as quercetin derivatives, widely recognized for their biological and pharmacological relevance.

General linear modeling further indicated that extraction times around 120 minutes combined with ≥ 20 % ethanol are sufficient to achieve extracts with high bioactive quality, regardless of pressure increments. This finding is especially relevant considering the energetic and operational costs associated with high-pressure systems. Overall, the integration of chemical, antioxidant, and modeling results supports the use of SFE as a selective, cleaner, and scalable alternative for obtaining functional compounds from *salvilla*. These insights not only strengthen the technological relevance of SFE but also open the door for its future application in the development of nutraceutical, cosmetic, or functional-food ingredients derived from this traditionally valued species. Future studies should explore process scale-up, fine-tuning of co-solvent dynamics, and integration with downstream purification steps to further enhance compound recovery and commercial feasibility. In this sense, the promising results obtained here provide a solid foundation for consolidating SFE as a sustainable and efficient technology for the industrial exploitation of bioactive potential from *salvilla* plants.

Author Contributions

Conceptualization, E.M.C. and M.G.R.A.; methodology, R.M.H.R; software, J.A.V.N and J.A.G.I.; validation, R.F.G.L. and E.M.C.; formal analysis, R.F.G.L. and N.E.R.G.; investigation, E.M.C.; resources, G.A.C.H. and J.A.G.I.; data curation, R.F.G.L.; writing—original draft preparation, E.M.C.; writing—review and editing, M.G.R.A.; visualization, J.A.V.N.; supervision, R.F.G.L.; project administration, R.F.G.L. All authors have read and accepted the published version of the manuscript.

Acknowledgements

First author E.M.C. thanks to Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación of México (SECIHTI) for graduate scholarship and to the Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C (CIATEJ – Unidad Zapopan) for the loan of Supercritical fluid equipment.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interests.

Nomenclature

CO ₂	Carbon dioxide
ESI	Electrospray ionization
MAE	Microwave-assisted extraction
mL	Milliliter
mL/min	Milliliters per minute
RSM	Response surface methodology
#	Number
%	Percent
≥	Major or equal than
®	Registered trademark
°C	Celsius degree
μmol TE/g	Micromole of Trolox equivalent per gram of extract
AAPH	2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride
ABTS	2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic) acid
ABTS ^{•+}	2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic) radical
AlCl ₃	Aluminum chloride
Bar	Bars
CCD	Central composite design
DNA	Deoxyribonucleic acid
Fluorescein	3',6'-dihydroxyspiro[isobenzofuran-1[3H],9'[9H]-xanthen]-3-one
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
g	Grams
GLM	General linear model
h	Hours
HPLC	High performance liquid chromatography
K ₂ S ₂ O ₈	Potassium persulfate
kV	Kilovolts
L/h	Liters per hour
LC grade	Liquid chromatography grade
M	Molar
m/V	Ratio mass – volume
min	Minutes
mL/min	Milliliter per minute
mm	Millimeters
mM	Millimolar
mmol TE/mg of SE	Millimoles of Trolox equivalent per milligram of salvilla leaves extract
MRM	Multiple reactions ionization mode
NaNO ₂	Sodium nitrite
NaOH	Sodium hydroxide
ng/mg SE	Nanograms per milligram of salvilla leaves extract
ng/μL	Nanograms per microliter
nm	Nanometers
<i>Greek symbols</i>	
α	Statistical alpha

5. References

- Avila-Acevedo, J.G., & Romo de Vivar, A. (2002). Triterpenoid saponins and other glycosides from *Buddleja scordioides*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30 (10), 1003-1005. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(02\)00032-7](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(02)00032-7)
- Ayyildiz, S.S., Pelvan, E., & Karadeniz, B. (2024). Optimization of accelerated solvent extraction, ultrasound assisted and supercritical fluid extraction to obtain carnosol, carnosic acid and rosmarinic acid from rosemary. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 37, 101422. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101422>
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini N.A.N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Banafi, A., Wee, S.K., Tze-Tiong, A. N., Yang-Kong, Z., Saptoro, A., & Sunarso, J. (2023). Modeling of supercritical fluid extraction bed: A critical review. *Chemical Engineering Research and Design*, 193, 685-712. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2023.04.001>
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965–977. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>
- Chemat, F., Rombaut, N., Fabiano-Tixier, A.S., Pierson, J. T., & Bily, A. (2015). Green Extraction: From Concepts to Research, Education, and Economical Opportunities. In: Chemat F., & Strube, J. (Eds.) *Green Extraction of Natural Products: Theory and Practice*. Wiley-VCH. Chapter 1 pages. 1-36. <https://doi.org/10.1002/9783527676828.ch1>
- Chemat, F., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A.S., Strube, J., Uhlenbrok, L., Gunjevic, V., & Cravotto, G. (2019). Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 118, 248-263. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.037>
- Coelho, J.P., Filipe, R.M., Robalo, M.P., & Stateva, R.P. (2018). Recovering value from organic waste materials: Supercritical fluid extraction of oil from industrial grape seeds. *The Journal of Supercritical Fluids*, 141, 68-77. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.12.008>
- Dawidowicz, A. L., & Olszowy, M. (2013). The importance of solvent type in estimating antioxidant properties of phenolic compounds by ABTS assay. *European Food Research and Technology*, 236(6), 1099–1105. <https://doi.org/10.1007/s00217-013-1982-1>
- Dębczak, A., Grzegorzczak, A., Świątek, Ł. Sandomierski, M., Fekner, Z., Tyśkiewicz, K., & Milovanovic, S. (2024). Green and sustainable recovery of polyphenols, flavonoids, alkaloids, and pigments from green tea leaves: Comparative analysis of Soxhlet, accelerated solvent, and supercritical fluid extraction techniques. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 42, 101810. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2024.101810>
- Díaz-Rivas, J. O., Herrera-Carrera, E., Gallegos-Infante, J. A., Rocha-Guzmán, N. E., González-Laredo, R. F., Moreno-Jiménez, M. R., Larrosa-Pérez, M., & Gallegos-Corona, M. A. (2015). Gastroprotective potential of *Buddleja scordioides* Kunth Scrophulariaceae infusions; effects into the modulation of antioxidant enzymes and inflammation markers in an in vivo model. *Journal of ethnopharmacology*, 169, 280-286. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.04.024>
- Díaz-Rivas, J. O., Gallegos-Infante, J. A., Valdez-Fragoso, A., Rocha-Guzmán, N. E., González-Laredo, R. F., Rodríguez-Ramírez, A., Gamboa-Gómez, C. I., & Moreno-Jiménez, M. R. (2018). Comparative Study of Phenolic Profile and Content in Infusions and Concentrated Infusions of

- Buddleja scordioides* Treated by High-Intensity Pulsed Electric Fields (HiPEF). *Beverages*, 4(4), 81. <https://doi.org/10.3390/beverages4040081>
- Herrera-Carrera, E., Moreno-Jiménez, M. R., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., Díaz-Rivas, J. O., Gamboa-Gómez, C. I., & González-Laredo, R. F. (2015) Phenolic composition of selected herbal infusions-and their anti-inflammatory effect on a colonic-model in vitro in HT-29 cells. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1): 1059033. <https://dx.doi.org/10.1080/23311932.2015.1059033>
- Herrero, M, Cifuentes, A., & Ibañez, E. (2006). Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae: A review. *Food Chemistry*, 98(1), 136-148. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.058>
- Lee, S. G., Lee, D., & Kang, H. (2020). Effect of extraction ethanol concentration on antioxidant and anti-inflammatory activity of 30-year-old and 120-year-old dangyuja (*Citrus maxima* (Brum.) Merr). *Biomedical Science Letters*, 26(2), 109-113. <https://doi.org/10.15616/BSL.2020.26.2.109>
- Machmudah, S., Shotipruk, A., Goto, M., Sasaki M., & Hirose, T. (2006) Extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using supercritical CO₂ and ethanol as entrainer. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 45(10), 3652-3657. <https://doi.org/10.1021/ie051357k>
- Macías-Cortés, E., Rocha-Guzmán, N. E., Moreno-Jiménez, M. R., Medina-Torres, L., & González-Laredo, R. F. (2020). Microencapsulation of phenolic compounds: Technologies and novel polymers. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 19(2), 491 - 521. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Alim642>
- Macías-Cortés, E., Rocha-Guzmán, N. E., Moreno-Jiménez, M. R., Castillo-Hernández, G. A., & González-Laredo, R. F. (2022). Antioxidant and anti-inflammatory polyphenols in ultrasound-assisted extracts from salvilla (*Buddleja scordioides* Kunth). *Ultrasonics Sonochemistry*, 83, 105917. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105917>
- Mustafa, A., & Turner, C. (2011). Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. *Analytica Chimica Acta*, 703(1), 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.07.018>
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4619–4626. <https://doi.org/10.1021/jf010586o>
- Perez-Gutierrez, R.M., & Vargas-Solis, R. (2008). Wound Healing Properties of Triterpenes from *Buddleia scordioides* in Diabetic Rats. *Pharmaceutical Biology*, 46(9), 647–653. <https://doi.org/10.1080/13880200802182471>
- Picos-Salas, M.A., Leyva-López, N., Bastidas-Bastidas, P.J., Antunes-Ricardo M., Cabanillas-Bojórquez, L.A., Angulo-Escalante, M.A., Heredia J. B., & Gutiérrez-Grijalva, E.P. (2024). Supercritical CO₂ extraction of naringenin from Mexican oregano (*Lippia graveolens*): its antioxidant capacity under simulated gastrointestinal digestion. *Scientific Reports*, 14, 1146. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50997-2>
- Pilařová, V., Plachká, K., Herbšová, D., Kosturko, Š., Svec, F., & Nováková, L. (2024). Comprehensive two-step supercritical fluid extraction for green isolation of volatiles and phenolic compounds from plant material. *Green Chemistry*, 26, 6480–6489. <https://doi.org/10.1039/D4GC00371C>
- Pilařová, V., Burianová, K., Kosturko, Š., Kulkarni, M., Van-Staden, J., & Nováková, L. (2025). Supercritical fluids in extraction, purification, and separation of selected Amaryllidaceae alkaloids. *Separation and Purification Technology*, 377(Part 2), 133968. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2025.133968>
- Plaza, M., & Turner, C. (2015). Pressurized hot water extraction of bioactives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 39–54. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.02.022>

- Pourmortazavi, S. M., & Hajimirsadeghi, S. S. (2007). Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *Journal of Chromatography A*, 1163(Issues 1–2), 2–24. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.06.021>
- Radzali, S.A., Markom, M., & Saleh, N.M. (2020). Co-Solvent Selection for Supercritical Fluid Extraction (SFE) of Phenolic Compounds from *Labisia pumila*. *Molecules*, 25(24) 5859. <https://doi.org/10.3390/molecules25245859>
- Reverchon, E., & De Marco, I. (2006). Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *The Journal of Supercritical Fluids*, 38(2), 146–166. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2006.03.020>
- Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4) 152-159. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)01018-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)01018-2)
- Rosales-Villarreal, M. C., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., Moreno-Jiménez, M. R., Reynoso-Camacho, R., Pérez-Ramírez I. F., Tsao, R., & González-Laredo, R. F. (2022). Antioxidant phytochemicals and modulation of oxidative stress from infusions and ultrasound-assisted extractions of Coffea leaves. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 28(1), 119-137. <http://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2021.05.026>
- Sheibani, S., Jafarzadeh, S., Qazanfarzadeh, Z., Osadee-Wijekoon, M.M.J., Mohd-Rozalli M.H., & Nafchi, A.M. (2024). Sustainable strategies for using natural extracts in smart food packaging, *International Journal of Biological Macromolecules*, 267(Part 1), 131537. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131537>
- Usman, M., Nakagawa M., & Cheng, S. (2023). Emerging trends in green extraction techniques for bioactive natural products. *Processes*, 11(12), 3444. <https://doi.org/10.3390/pr11123444>
- Uwineza, P. A., Gramza-Michałowska, A., Bryła, M., & Waśkiewicz, A. (2021). Antioxidant Activity and Bioactive Compounds of *Lamium album* Flower Extracts Obtained by Supercritical Fluid Extraction. *Applied Sciences*, 11(16), 7419. <https://doi.org/10.3390/app11167419>
- Villegas-Novoa, C., Gallegos-Infante, J. A., González-Laredo, R. F., García-Carrancá, A., Herrera-Rocha, K. M., Jacobo-Karam, J. S., Moreno-Jiménez, M. R., & Rocha-Guzmán, N. E. (2019). Acetone effects on *Buddleja scordioides* polyphenol extraction process and assessment of their cellular antioxidant capacity and anti-inflammatory activity. *Medicinal Chemistry Research*, 28(12), 2218–2231. <https://doi.org/10.1007/S00044-019-02448-9>
- Vinitha, U.G., Sathasivam, R., Muthuraman, M.S., & Park, S.U. (2022). Intensification of supercritical fluid in the extraction of flavonoids: A comprehensive review. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 118, 101815, <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2022.101815>

2026 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Extracción de prebióticos mediante el procesamiento hidrotérmico de residuos agroindustriales

Extraction of prebiotics through hydrothermal processing of agro-industrial waste

Jorge R. Carrales-Briones¹ , Rosa M. Rodríguez-Jasso^{1*} , Héctor A. Ruiz^{1*} 

¹ Biorefinery Group, Food Research Department, School of Chemistry, Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila, México. Saltillo, Coahuila, 25280.

*Correspondencia: Correo electrónico: rrodriguezjasso@uadec.edu.mx (Rosa M. Rodríguez-Jasso);

hector_ruiz_leza@uadec.edu.mx (Héctor A. Ruiz)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v20i1.2211>

Recibido: 23 de enero de 2026; Aceptado: 19 de junio de 2026

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editor de Sección: Dr. Johan Mendoza-Chacón

Resumen

Los residuos agroindustriales comprenden una amplia variedad de materiales; entre ellos, la biomasa lignocelulósica (BLC) ha recibido especial atención como materia prima para la producción de prebióticos. Su compleja estructura permite desarrollar estrategias sustentables orientadas a la ruptura de la pared celular, lo que favorece la biodisponibilidad de compuestos de interés para su aplicación en los sectores alimentario, químico, cosmetológico, farmacéutico y energético. Los prebióticos, al ser fibras no digeribles y oligosacáridos, viajan directamente al colon (que contiene una densidad bacteriana mayor que en el intestino delgado), para mediante un proceso de fermentación interno producir ácidos grasos de cadena corta (AGCC) que ofrecen beneficios saludables al sistema digestivo. Este trabajo revisa los avances reportados en literatura sobre la extracción y aplicación de prebióticos específicamente los xilooligosacáridos (XOS) a partir de residuos agroindustriales, con énfasis en el procesamiento hidrotérmico (altas presiones) como tecnología sostenible para la producción de estos, y las ventajas y desventajas que ofrece contra otras tecnologías de extracción reportadas en investigaciones (ejemplo: hidrólisis enzimática, ácida y alcalina, y procesos de fermentación). Asimismo, se realzan las propiedades funcionales que los prebióticos ofrecen, como su actividad prebiótica, antioxidante, antiinflamatoria y potencial anticancerígeno. La revisión y análisis de este trabajo identifica que la integración de tecnologías sustentables para el fraccionamiento de BLC puede mejorar la viabilidad y factibilidad en la implementación industrial y promover de una manera eficiente los beneficios en el consumo humano e impacto ambiental.

Palabras clave: biomasa lignocelulósica, autohidrólisis, ingredientes funcionales, microbiota intestinal, probióticos.

Abstract

Agroindustrial waste comprises a wide variety of materials; among them, lignocellulosic biomass (LCB) has received special attention as a raw material for prebiotic production. Its complex structure allows for the development of sustainable strategies aimed at disrupting the cell wall, which enhances the bioavailability of compounds of interest for application in food, chemical, cosmetic, and pharmaceutical sectors. Prebiotics, being indigestible fibers and oligosaccharides, travel directly to the colon (which contains a higher bacterial density than the small intestine) to produce short-chain fatty acids (SCFAs) through an internal fermentation process, which offers health benefits to the digestive system. This paper reviews the advances reported in the literature on the extraction and application of prebiotics specifically xylooligosaccharides (XOS) from agroindustrial waste, with an emphasis on hydrothermal processing (high pressure) as a sustainable technology for their production, and the advantages and disadvantages it offers compared to other extraction technologies reported in research (e.g., enzymatic, acid, and alkaline hydrolysis, and fermentation processes). It also highlights the functional properties offered by prebiotics, such as their prebiotic, antioxidant, anti-inflammatory, and potential anti-carcinogenic activity. The review and analysis in this work identifies that the integration of sustainable technologies for the fractionation of LCB can improve the viability and feasibility of industrial implementation and efficiently promote the benefits for human consumption and environmental impact.

Keywords: lignocellulosic biomass, autohydrolysis, functional ingredients, gut microbiota, probiotics.

1. Introducción

Problemas intestinales, malnutrición, obesidad y diabetes, son algunas de las enfermedades comunes que enfrenta la sociedad en relación de una alimentación desequilibrada en nutrientes. Una fuente alternativa para minimizar estos problemas y mejorar la absorción de nutrientes, es el consumo de prebióticos como complemento en la dieta humana y animal. Los prebióticos son considerados ingredientes funcionales que suelen ser carbohidratos no digeribles, como fibras dietéticas u oligosacáridos como los xilooligosacáridos (XOS), fructooligosacáridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS), isomalto-oligosacáridos (IMO) y oligosacáridos pectídicos (POS), de biopolímeros como la inulina, y derivados de polisacáridos, como las pectinas y fructanos, entre otros, que se encuentran presentes de forma natural en distintas fuentes vegetales, como almendras, alcachofa, cebada, semillas de chía, avena, frutas, verduras, frijoles, cereales, espárragos, cebolla, ajo crudo, por mencionar algunos, o en forma de suplementos alimenticios de venta en el mercado (Shieh-Lih et al., 2020; Kaur et al., 2021; Belmonte-Izquierdo et al., 2023). El concepto “prebiótico” fue utilizado por primera vez en el año 1995, por Glenn Gibson y Marcel Roberfroid, definiéndolo como un ingrediente alimentario no digerible que estimula selectivamente la proliferación de una o más bacterias benéficas en el colon, generando beneficios que mejoran sustancialmente la salud del huésped (Kaur et al., 2021; Essa et al., 2023). Además, como un efecto secundario, se suprime la proliferación de patógenos (Nogueira-Prieto et al., 2025). Al consumirse, los prebióticos no logran digerirse por las enzimas presentes en la boca (amilasa salival y lipasa lingual), ni por la lipasa

gástrica ni la pepsina, presentes en el estómago, y por el corto tiempo que estos permanecen en el estómago no son degradados por el ácido clorhídrico, siendo estos estables al pH estomacal (McQuilken, 2021). Los prebióticos viajan hasta llegar directamente al colon y alimentan selectivamente a los probióticos. Los probióticos son microorganismos vivos que habitan en mayor magnitud en el colon que en el intestino delgado, estos son beneficiosos para la salud intestinal; modulan y equilibran el sistema digestivo (Ahn et al., 2023). Existen especies probióticas como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* que transforman a los prebióticos por medio de una fermentación anaerobia (Xiao et al., 2021), para obtener energía para el crecimiento microbiano y para la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), como el ácido acético, propiónico y butírico (comúnmente se encuentran en su forma ionizada como sales acetato, propionato y butirato) (Kushkevych et al., 2021). Los AGCC, son absorbidos por las vellosidades del colon para ser transportados por medio del flujo sanguíneo (Abreu y Abreu et al., 2021).

Las bacterias presentes en la microbiota intestinal, de la piel y mucosas aprovechan los prebióticos como una fuente de nutrientes para crecer y mantener un equilibrio en la microbioma humano y animal. En estudios humanos, el consumo de XOS está relacionado con base en su peso corporal. Una dosis de 0.12 g/kg de peso corporal en adultos, mejora la absorción de calcio y magnesio, reduciendo el riesgo de desarrollar cáncer, enfermedades cardiovasculares y aumenta la densidad ósea (Yan et al., 2022). Por otra parte, en estudios clínicos sobre el envejecimiento prematuro de la salud de la piel, con la intervención de jugos con XOS mejoraron los niveles promedio de luminosidad, hidratación, elasticidad, pigmentación, protección UV y manchas marrones de la piel (Huang et al., 2022). Se han realizado ensayos con la suplementación de inulina para mejorar el metabolismo de la glucosa y reducir el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 (DT2), con una alimentación controlada de 10 g de inulina por día durante 6 semanas se comprobó un aumento en las *Bifidobacterias* intestinales (Mitchell et al., 2021). También, se han incluido estudios con la suplementación dietética de lactulosa (azúcar sintético derivado de la lactosa), donde en dosis bajas de 0.26 g/ kg de peso corporal en adultos ha mostrado un efecto prebiótico con la proliferación de bacterias intestinales beneficiosas (ejemplo: *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*), aumentando la producción de AGCC, abundando principalmente el acetato (Karakan et al., 2021). La autoridad europea de seguridad alimentaria reconoce la lactulosa en dosis de 10 g/día como complemento alimentario. Por otro lado, en estudios con animales, se han administrado XOS para pollos de engorde, suplementando 2.5 g de XOS/ kg del peso, mejorando la actividad de la hormona tiroidea y el recuento total de animales viables en el íleon (última sección del intestino delgado de las aves) y el ciego (colon), mejorando así el índice de conversión alimenticia (Akter y Akter, 2021). En estudios similares con gallinas ponedoras, se suplementaron XOS (derivados de hojas de maíz) e inulina, donde las gallinas mejoraron su salud intestinal con el crecimiento de *Bifidobacterium* y el crecimiento de ácido butírico en el ciego de estas (Huang et al., 2022). También, se han realizado estudios en peces Carpa (*Cyprinus carpio*), donde la suplementación de XOS entre 1 y 3 % en peso, ha mejorado el crecimiento, las enzimas digestivas y un efecto antioxidante (Abasubong et al., 2022).

La presencia natural de los prebióticos en fuentes naturales limita su uso industrial debido a sus bajas concentraciones, lo que implica efectos prebióticos reducidos (Valladares-Diestra et al., 2023). Una de las alternativas estudiadas es el uso de BLC, que al ser procesadas bajo los conceptos de una biorrefinería de segunda generación (plataforma tecnológica que procesa y transforma los residuos de origen vegetal en productos de interés industrial) y bajo un esquema de bioeconomía circular, permiten aprovecharse al máximo produciendo oligosacáridos no digeribles de bajo peso molecular, como se puede mostrar en la Fig. 1, con grados de despolimerización de 2 a 7, que en literatura

muestran beneficios a la salud intestinal (Chen et al., 2021; Sri et al., 2021; Chikezie y Nnaemeka, 2023; Shiva et al., 2023; Valladares-Diestra et al., 2023). Este trabajo de revisión tiene como objetivo mostrar el potencial del aprovechamiento de BLC para producir prebióticos y más específicamente los XOS, así como revisar métodos de extracción sustentables a fin de maximizar el rendimiento de los prebióticos producidos.

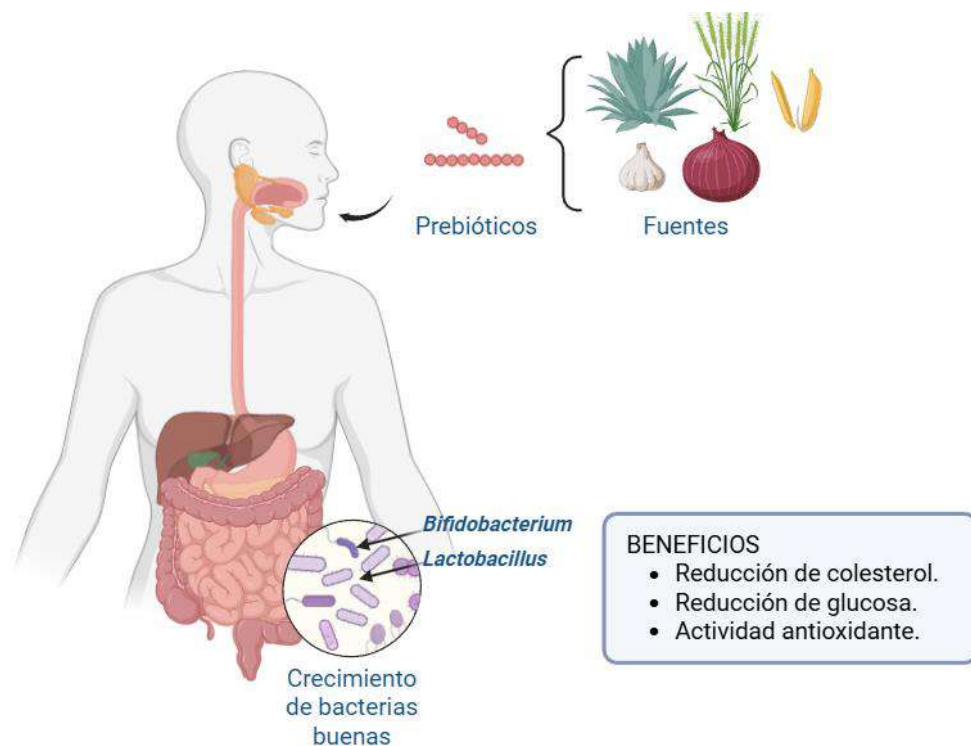


Figura 1. Efectos del consumo de prebióticos en la microbiota intestinal, modificado y adaptado de (Valladares-Diestra et al., 2023).

Figure 1. Effects of prebiotic consumption on the intestinal microbiota, adapted and modified from (Valladares-Diestra et al., 2023).

2. Potencial de la biomasa lignocelulósica como fuente de prebióticos

Todos aquellos residuos que quedan en la postcosecha, como tallos, bagazos, hojas, y cáscaras son considerados BLC (Singh et al., 2021). La BLC es aquella que contiene en su composición química biopolímeros de celulosa, hemicelulosa y lignina principalmente (Segers et al., 2024). Dentro de estas biomásas se pueden encontrar, por ejemplo: el bagazo de caña de azúcar de la industria de la refinación de azúcar; el orujo de uva después del proceso de producción del vino y la cascarilla de arroz después de la separación grano del arroz, por mencionar algunos (López-Astorga et al., 2023; Ungureanu et al., 2023; Gargiulo et al., 2024). También, se considera como BLC, a los residuos forestales y a residuos sólidos orgánicos de plantas de reciclaje de papel y madera (Mujtaba et al., 2023). La mayoría de estos residuos son incinerados en el campo de cultivo como método de limpieza para una nueva siembra, lo cual genera gases nocivos y de efecto invernadero como el CO, CO₂, SO₂,

óxidos de nitrógeno y compuestos orgánicos volátiles que contaminan la atmósfera y afecta la calidad del aire (Yoro y Daramola, 2020; Pinakana et al., 2024; Zhao et al., 2024). La acumulación mundial de residuos agroindustriales, según estadísticas recientes, demuestran que la producción anual mundial de BLC es de aproximadamente 181.5 mil millones de toneladas, de las cuales solo 8.2 mil millones de toneladas se utilizan en distintas áreas de aplicación (Mujtaba et al., 2023). Además, la disposición de los residuos vegetales que se aglomeran en campos de cultivo y/o almacenes, también son llevados a rellenos sanitarios, generando lixiviados tóxicos que contaminan la tierra y mantos acuíferos (Dávila et al., 2021).

Asimismo, se han implementado estrategias para aprovechar estas biomásas, convirtiéndolas en materias primas para nuevas cadenas de valor en la industria, como; **1) Industria energética:** producción de biogás por digestión anaerobia, producción de bioetanol, producción de biodiésel y obtención de biochar (Pauline y Joseph, 2020; Beluhan et al., 2023; Garg et al., 2023; Singh et al., 2023); **2) Industria agrícola:** compostaje, producción de fertilizantes líquidos, uso de biochar en suelos (Tan et al., 2023; Zhao et al., 2024; Lamba et al., 2025); **3) Industria cosmética y farmacéutica:** extracción de compuestos fenólicos y antioxidantes para cremas y suplementos, producción de biosurfactantes para la elaboración de jabón, shampoos y producción de ácido láctico (Espro et al., 2021; Manandhar y Shah, 2023; Vučurović et al., 2024; Ariyanta et al., 2025; Pereira et al., 2025); **4) Industria de materiales y construcción:** fabricación de bioempaques, producción de papel y cartón reciclado, aditivos para cemento y ladrillos, y fabricación de textiles (Sabino et al., 2022; Beia et al., 2023; Regmi et al., 2024; Dias et al., 2025); **5) Industria ambiental:** producción de bioadsorbentes a partir de cascara y bagazos para el tratamiento de aguas residuales (Lemessa et al., 2023; de Aquino Lima et al., 2024); y **6) Industria ganadera y alimentaria:** piensos para animales, sustratos para cultivo de hongos comestibles, extracción de compuestos fenólicos y antioxidantes, obtención de colorantes naturales y extractos aromáticos, y la producción de prebióticos como los XOS y GOS a partir de la fracción de hemicelulosa (Álvarez et al., 2022; Balan et al., 2022; Huang et al., 2022; Yan et al., 2022).

3. Procesamiento hidrotérmico como estrategia para la extracción de prebióticos derivados de biomásas lignocelulósicas

Un reto importante en la producción de prebióticos a partir de BLC es la selección del método de extracción, que no solo debe promover la ruptura de la pared celular, sino también maximizar la selectividad hacia la formación de oligómeros, evitando su degradación en compuestos indeseables (ejemplos de subproductos inhibidores indeseables: furfural e hidroximetilfurfural (HMF)) (Shie-Lih et al., 2020; Shiva et al., 2023; Yan et al., 2022). Los métodos de extracción pueden clasificarse en:

- A. Procesos fisicoquímicos: Procesamiento hidrotérmico (también llamado autohidrólisis), que utiliza agua como solvente; además otra alternativa del proceso hidrotérmico es el proceso de explosión a vapor, donde se usa vapor sobresaturado, ambos procesos a alta presión y temperatura, por otro lado, un proceso que puede mejorar las velocidades de reacción es usando CO₂, sometiendo BLC a altas presiones para la ruptura de la pared celular.
- B. Procesos químicos: Hidrólisis ácida, con ácidos sulfúrico, nítrico o fosfórico; hidrólisis alcalina, que utiliza hidróxido de sodio o potasio comúnmente (principalmente usando concentraciones bajas) y uso de organosolv (usando solventes como etanol).

- C. Procesos biológicos: Hidrólisis enzimática, con el uso de enzimas específicas; microorganismos como los hongos, capaces de hidrolizar las BLC y el uso de levaduras que logran por medio de fermentaciones, la biodisponibilidad de los prebióticos.

Sin embargo, difieren significativamente en términos de eficiencia, sostenibilidad y viabilidad industrial. Por ejemplo, los procesos químicos, como la hidrólisis ácida, permiten altos rendimientos de solubilización y despolimerización de la hemicelulosa, pero presentan limitaciones asociadas a la corrosividad, a la generación de subproductos inhibidores (furfural, HMF) y a los altos costos de neutralización, lo que compromete su sostenibilidad. En contraste, los tratamientos alcalinos son eficaces para la remoción y solubilización de lignina, pero pueden provocar la degradación de carbohidratos y generar residuos químicos. Por otro lado, los procesos biológicos, como la hidrólisis enzimática, ofrecen alta selectividad y condiciones de operación suaves, pero su aplicación a escala industrial se ve limitada por el elevado costo de las enzimas, los tiempos de reacción prolongados y la sensibilidad a las condiciones del medio.

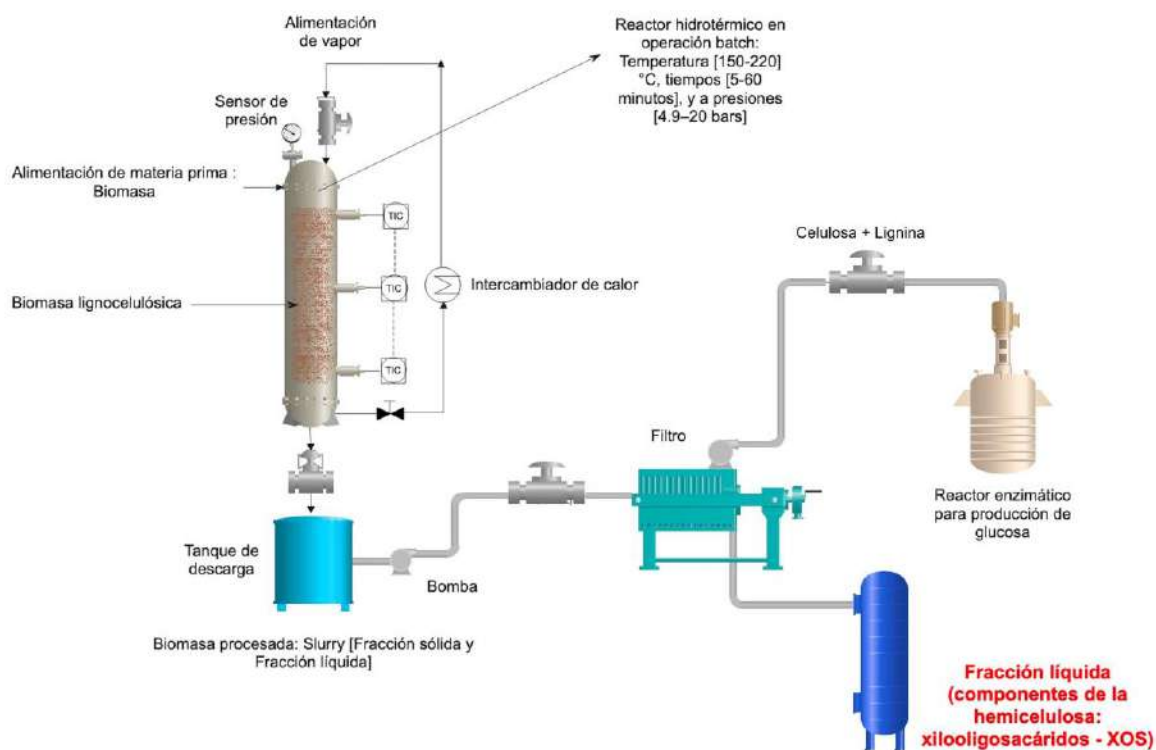


Figura 2. Esquema del proceso y fraccionamiento de biomasa lignocelulósica mediante el proceso hidrotérmico en términos de una biorrefinería de segunda generación.

Figure 2. Scheme of the lignocellulosic biomass process and fractionation by the hydrothermal process in terms of a second generation biorefinery.

En este contexto, los métodos fisicoquímicos, en particular el procesamiento hidrotérmico, han emergido como una alternativa atractiva por su equilibrio entre eficiencia y sostenibilidad. Este proceso utiliza únicamente agua/vapor como solvente, lo que reduce el uso de químicos y puede

minimizar el impacto ambiental. Además, durante este proceso, se genera la autoionización de las moléculas del agua y la hidrólisis de los grupos acetil de la hemicelulosa, provocando una disminución del pH que permite una solubilización y despolimerización selectiva de la hemicelulosa, lo que favorece la producción de XOS, aunque a condiciones severas pueden inducir su degradación a monosacáridos y a compuestos inhibidores (Corrales et al., 2023; Shiva et al., 2023). Este proceso hidrotérmico es realizado a condiciones de operación entre 150-220 °C, con tiempos desde los 5-60 minutos, además de condiciones no isotérmicas, y a presiones entre (~ 4.9–20 bares), las relaciones biomasa -agua pueden variar dependiendo de las condiciones de operación y productos deseados, sin embargo, las más típicas con una relación 1:10 o 1:20 (biomasa: agua), peso/peso. La Fig. 2, muestra un esquema del proceso y fraccionamiento de biomasa mediante el proceso hidrotérmico en términos de una biorrefinería.

Por otro lado, es importante mencionar, que principalmente los procesos hidrotérmicos son usados en modo de operación por lotes, por otro lado, a nivel piloto y demostrativo ya se encuentran reactores en modo de operación en continuo. Estos modos de operación a diferentes escalas, lo hace un proceso robusto con niveles de madurez tecnológica desde 4-5 o superiores. Actualmente, existen a nivel mundial plantas piloto y a nivel industrial procesos hidrotérmicos para el fraccionamiento de hemicelulosa. Un ejemplo es la compañía Meliora Bio, la cual es una biorrefinería moderna de última generación, en la cual se recicla la paja trigo para obtener prebióticos, bioetanol y lignina. Meliora Bio busca minimizar su huella de carbono, con un consumo mínimo de energía y agua, y reducir a cero sus residuos de producción. El proceso de fraccionamiento de biomasa usa la tecnología de BioTrac de Valmet es una tecnología clave en esta biorrefinería de paja de trigo y está basada en procesamiento hidrotérmico - explosión de vapor (steam explosion) en modo de operación en continuo. Meliora Bio en colaboración con la compañía COMET BIO produce una fibra prebiótica de la fracción de la hemicelulosa para el sector alimentario (Ruiz et al., 2020; Comet Bio, 2026; Meliora Bio, 2026; Valmet, 2026).

Desde una perspectiva de escalamiento de procesos, el proceso hidrotérmico presenta ventajas importantes, como la simplicidad operativa y la posibilidad de integrarse en esquemas de biorrefinería de segunda generación; sin embargo, su eficiencia depende en gran medida del control de parámetros como la temperatura, el tiempo de residencia, los cuales están relacionados con un parámetro denominado factor de severidad $\text{Log}_{10}(\text{Ro})$, que combina el efecto de la temperatura y el tiempo de residencia en el proceso, permitiendo correlacionar diferentes condiciones y biomasa (Ruiz et al., 2021; Lobato-Rodríguez et al., 2025). En este sentido, valores óptimos de severidad permiten maximizar la producción de XOS, manteniendo un equilibrio entre la despolimerización de la hemicelulosa y la preservación de estructuras oligoméricas.

Los datos presentados en la Tabla 1 evidencian una amplia variabilidad en los rendimientos de XOS (3.70 a 27.86 g/100 g de biomasa), la cual está fuertemente influida por la naturaleza de la biomasa y por el método de extracción empleado, así como por las condiciones de operación. En general, los tratamientos químicos, particularmente la hidrólisis ácida, tienden a presentar mayores rendimientos; sin embargo, estos procesos carecen de selectividad y favorecen la formación de monosacáridos y de productos de degradación.

En contraste, los procesos hidrotérmicos presentan rendimientos moderados, pero una mayor selectividad hacia la formación de oligómeros, lo cual resulta deseable para aplicaciones prebióticas. Esta diferencia resalta la importancia de no solo maximizar el rendimiento, sino también de controlar la distribución de productos.

Tabla 1. Tipos de prebióticos generados a partir de biomásas lignocelulósicas y el método de extracción utilizado.

Table 1. Types of prebiotics generated from lignocellulosic biomass and the extraction method used.

Cultivo	Residuo agroindustrial generado	Método de extracción	Prebiótico extraído	Rendimiento de XOS (g XOS/ 100 g biomasa)	Referencias
Álamo tulipán	Tallo de Álamo	Autohidrólisis (200 °C).	XOS	9.81	(Yoon et al., 2018)
Trigo	Paja de trigo	Autohidrólisis (215 °C, no isotérmico).	XOS	10.50	(Conrad y Smirnova, 2020)
Plátano	Cáscara de plátano	Hidrólisis enzimática (<i>Aspergillus versicolor</i> , 30 UI/g del sustrato durante 12 a 48 h), solubilizada con KOH. 1 UI = la cantidad de enzima que cataliza la transformación de 1 micromol (1 µmol) de sustrato por minuto.	XOS	15.01	(Pereira et al., 2022)
Guayaba	Bagazo de guayaba	Hidrólisis enzimática (<i>Aspergillus versicolor</i> , 30 UI/g del sustrato durante 12 a 48 h), solubilizada con H ₂ O.	XOS	6.61	(Pereira et al., 2022)
Maíz	Mazorca de maíz	Hidrólisis ácida oxidativa (Peróxido de hidrógeno-ácido acético).	XOS	5.83	(Hao et al., 2022)
Maíz	Mazorca de maíz	Hidrólisis alcalina (1 % NaOH, 120 °C, 40 min).	XOS	5.90	(Capetti et al., 2023)
Maíz	Mazorca de maíz	Autohidrólisis e Hidrólisis enzimática secuencial (160 °C por 60 min, y Endoxilanas GH10 y GH11).	XOS	11.50	(Capetti et al., 2023)
Maíz	Mazorca de maíz	Hidrólisis ácida (0.6 M de ácido glucónico, 154 °C durante 47 min).	XOS	18.00	(Han et al., 2020)
Álamo	Madera de álamo	Hidrólisis ácida (Clorito de sodio (4.8 % de NaClO ₂ , 70 °C por 3h) y ácido acético (5 %, 170 °C por 30 min).	XOS	4.00	(Wen et al., 2020)
Caña de azúcar	Bagazo de caña de azúcar	Autohidrólisis (190 °C por 20 min).	XOS	3.70	(de Oliveira et al., 2021)

Caña de azúcar	Bagazo de caña de azúcar	Autohidrólisis (143 – 186 °C, 20 – 60 min).	XOS	24.46	(Pereira et al., 2025)
Caña de azúcar	Bagazo de caña de azúcar	Hidrólisis alcalina (acetato de 1-etil-3-metilimidazolio líquido iónico, a 100 °C durante 30 min). Base de cálculo: 1L	XOS	10.23	(Ávila et al., 2020)
Bambú	Cáscara de bambú	Procesamiento hidrotérmico (170 °C por 50 min).	XOS	6.60	(Wang et al., 2022)
Ajo	Residuos de ajo (cáscara, gajo aplastado)	Hidrólisis hidrotérmica a 80 °C por 45 min.	Inulina	8.17	(Lara-Fiallos et al., 2021)
Alcachofa	Raíz de alcachofa	Hidrólisis hidrotérmica (agua a 80 °C, 2 h y ultrasonido a 80 °C, 70 % amplitud por 5 min).	Inulina	20.90	(Castellino et al., 2020)
Yuca	Cáscara de yuca	Hidrólisis enzimática (3 % endo-1-4- β -xilanasa, 48 h), antes pretratada con 2 % NaOH, 121 °C y 30 min	XOS	3.27	(Rogoski et al., 2024)
Piña	Cáscara de piña	Extracción alcalina asistida hidrotermalmente (10 % álcali durante 1.5 h; 121 °C y 15 psi) e hidrólisis enzimática (<i>Trichoderma viride</i>).	XOS	27.86	(Banerjee et al., 2019)
Naranja	Bagazo de naranja	Hidrólisis enzimática (<i>Aspergillus versicolor</i> , 30 UI/g del sustrato durante 12 a 48 h), solubilizada con KOH.	XOS	12.54	(Pereira et al., 2022)
Aguacate	Cáscara de aguacate	Pretratamiento hidrotérmico 150 °C, $\text{Log}_{10}(\text{Ro}) = 1.90$.	POS	14.30	(Del Castillo-Llamosas et al., 2021)

XOS = xilooligosacáridos.

POS = oligosacáridos pectídicos.

$\text{Log}_{10}(\text{Ro})$ = factor de severidad

4. Aplicaciones de prebióticos derivados de biomasa lignocelulósica en sistemas alimentarios

En la Fig. 3 se presentan diversas aplicaciones de los prebióticos como ingredientes funcionales; sin embargo, su implementación práctica depende no solo de su estabilidad fisicoquímica (pH, temperatura, solubilidad y digestibilidad) (Ferreira-Lazarte et al., 2021; Corrales et al., 2023), sino también de su funcionalidad biológica (actividad antioxidante, antiinflamatoria y prebiótica) y su comportamiento en matrices alimentarias específicas (de Freitas et al., 2019; Capetti et al., 2021; Álvarez et al., 2022; Yan et al., 2022).

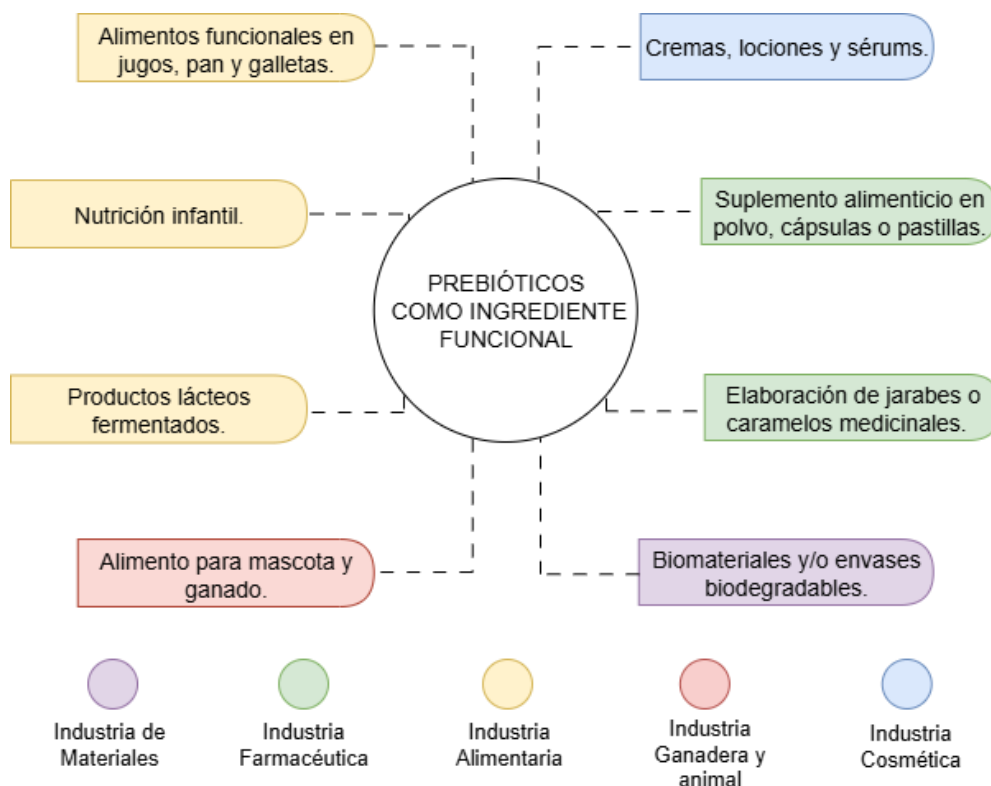


Figura 3. Aplicaciones de los prebióticos como ingrediente y/o excipiente funcional, información adaptada de (Capetti et al., 2021; Chelliah et al., 2024).

Figure 3. Applications of prebiotics as an ingredient and/or functional excipient, information adapted from (Capetti et al., 2021; Chelliah et al., 2024).

En el ámbito alimentario, los prebióticos, como los XOS, se han incorporado a productos como pan, galletas y bebidas, donde actúan como fibras solubles con efectos tecnológicos y fisiológicos. Estudios en galletas han demostrado que su consumo en concentraciones de 1–4 g/día promueve el

crecimiento selectivo de bacterias benéficas como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, favoreciendo la producción de AGCC, los cuales están asociados con la salud intestinal y la regulación metabólica (Juhász et al., 2020). Desde una perspectiva industrial, la aplicación de prebióticos requiere considerar factores como la dosis efectiva, la estabilidad durante el procesamiento (temperatura, pH), la interacción con otros componentes de la matriz y el impacto sensorial. Por ejemplo, en productos horneados, los XOS pueden mejorar la retención de humedad y la textura, mientras que en productos lácteos fermentados pueden actuar como sustrato para microorganismos probióticos, generando un efecto sinérgico.

Adicionalmente, más allá del sector alimentario, los prebióticos han encontrado aplicaciones en la industria farmacéutica y cosmética, donde se emplean como moduladores de la microbiota cutánea y como agentes bioactivos con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Pereira et al., 2025). Por lo que el desarrollo de procesos de extracción eficientes, como el procesamiento hidrotérmico, no solo debe evaluarse en términos de rendimiento, sino también en función de la calidad funcional del producto obtenido y su aplicabilidad en sistemas reales. Esto permite establecer una conexión directa entre la etapa de obtención y el potencial de uso industrial de los prebióticos derivados de la biomasa lignocelulósica.

5. Conclusión

La evidencia presentada en este trabajo identifica el potencial del uso de las biomásas lignocelulósicas como materia prima para extraer prebióticos con rendimientos a nivel industrial. También se muestra una visión de las metodologías de extracción utilizadas en la actualidad para la recuperación de oligosacáridos y biopolímeros, como fibra alimentaria no digerible, con potencial antioxidante, antiinflamatorio y prebiótico que mejoran la salud en consumos humanos y animales. Se recuperaron condiciones estratégicas para la evaluación de los parámetros con mayor relevancia en la determinación de conversión de las biomásas lignocelulósicas a prebióticos. Los prebióticos no solo nutren la microbiota intestinal, sino que también ayudan a reducir la oxidación y la inflamación, claves para prevenir enfermedades. Así se valida su potencial como ingrediente funcional en alimentos y suplementos. Por tanto, el procesamiento hidrotérmico, es una tecnología eficiente y sostenible para extraer compuestos prebióticos a partir de biomasa. Desde la perspectiva de la sostenibilidad y biorrefinerías de segunda generación, los procesos hidrotérmicos son una alternativa factible para su implementación a nivel industrial en el sector alimentario con impacto en la alimentación y beneficio a la sociedad.

Contribuciones de los autores

J.R.C.B.: contribuyó a la redacción del borrador original, la conceptualización, la edición y la compilación del manuscrito. **R.M.R.J.:** participó en la visualización, supervisión, revisión y edición del manuscrito. **H.A.R.:** participó en la visualización, supervisión, revisión y edición del manuscrito. Todos los autores leyeron y aprobaron la versión final del manuscrito.

Agradecimientos

El autor, Jorge R. Carrales-Briones, desea agradecer al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (ahora SECIHTY) por su apoyo con la Beca de Doctorado, con número de subvención 1013330.

Conflicto de interés

Los autores manifiestan que no tienen conflicto de interés con la publicación, ni relaciones personales que pudieran haber influido en el trabajo presentado en este artículo de revisión.

5. Referencias

- Abasubong, K. P., Li, X., Adjoumani, J. Y., Jiang, G., Desouky, H. E., & Liu, W. (2022). Effects of dietary xylooligosaccharide prebiotic supplementation on growth, antioxidant and intestinal immune-related genes expression in common carp *Cyprinus carpio* fed a high-fat diet. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 106(2), 403–418. <https://doi.org/10.1111/jpn.13669>
- Abreu y Abreu, A. T., Milke-García, M. P., Argüello-Arévalo, G. A., Calderón-de la Barca, A. M., Carmona-Sánchez, R. I., Consuelo-Sánchez, A., Coss-Adame, E., García-Cedillo, M. F., Hernández-Rosiles, V., Icaza-Chávez, M. E., Martínez-Medina, J. N., Morán-Ramos, S., Ochoa-Ortiz, E., Reyes-Apodaca, M., Rivera-Flores, R. L., Zamarripa-Dorsey, F., Zárate-Mondragón, F., & Vázquez-Frias, R. (2021). Fibra dietaria y microbiota, revisión narrativa de un grupo de expertos de la Asociación Mexicana de Gastroenterología. *Revista de Gastroenterología de México*, 86(3), 287–304. <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2021.02.004>
- Ahn, J.-S., Lkhagva, E., Jung, S., Kim, H.-J., Chung, H.-J., & Hong, S.-T. (2023). Fecal Microbiome Does Not Represent Whole Gut Microbiome. *Cellular Microbiology*, 2023, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2023/6868417>
- Akter, M., & Akter, N. (2021). Effect of Xylo-Oligosaccharides (XOS) on Growth Performance, Blood Biochemistry and Total Viable Count in Ileum and Caecum of Broiler Chickens from Day 13-26. *International Journal of Poultry Science*, 20(4), 158–164. <https://doi.org/10.3923/ijps.2021.158.164>
- Álvarez, C., González, A., Ballesteros, I., Gullón, B., & Negro, M. J. (2022). In Vitro Assessment of the Prebiotic Potential of Xylooligosaccharides from Barley Straw. *Foods*, 12(1), 83. <https://doi.org/10.3390/foods12010083>
- Ariyanta, H. A., Sholeha, N. A., & Fatriasari, W. (2025). Current and Future Outlook of Research on Renewable Cosmetics Derived From Biomass. *Chemistry & Biodiversity*, 22(7). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202402249>
- Ávila, P. F., Martins, M., de Almeida Costa, F. A., & Goldbeck, R. (2020). Xylooligosaccharides production by commercial enzyme mixture from agricultural wastes and their prebiotic and antioxidant potential. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 24, 100234. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2020.100234>
- Balan, V., Zhu, W., Krishnamoorthy, H., Benhaddou, D., Mowrer, J., Husain, H., & Eskandari, A. (2022). Challenges and opportunities in producing high-quality edible mushrooms from

- lignocellulosic biomass in a small scale. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(4), 1355–1374. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11749-2>
- Banerjee, S., Patti, A. F., Ranganathan, V., & Arora, A. (2019). Hemicellulose based biorefinery from pineapple peel waste: Xylan extraction and its conversion into xylooligosaccharides. *Food and Bioproducts Processing*, 117, 38–50. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.06.012>
- Beia, I. S., Ciceoi, R., Micu, M. M., & Beia, V. E. (2023). Lignocellulosic Biomass as Agricultural Bioresource and Input to the Circular Economy. *Romanian Agricultural Research*, 40, 667–676. <https://doi.org/10.59665/rar4062>
- Belmonte-Izquierdo, Y., López-Pérez, M. G., & González-Hernández, J. C. (2023). Máquinas biológicas que producen prebióticos (FOS). *Milenaria, Ciencia y Arte*, 21, 8–10. <https://doi.org/10.35830/mcya.vi21.331>
- Beluhan, S., Mihajlovski, K., Šantek, B., & Ivančić Šantek, M. (2023). The Production of Bioethanol from Lignocellulosic Biomass: Pretreatment Methods, Fermentation, and Downstream Processing. *Energies*, 16(19), 7003. <https://doi.org/10.3390/en16197003>
- Capetti, C. C. de M., Pellegrini, V. O. A., Espirito Santo, M. C., Cortez, A. A., Falvo, M., Curvelo, A. A. da S., Campos, E., Filgueiras, J. G., Guimaraes, F. E. G., de Azevedo, E. R., & Polikarpov, I. (2023). Enzymatic production of xylooligosaccharides from corn cobs: Assessment of two different pretreatment strategies. *Carbohydrate Polymers*, 299, 120174. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120174>
- Capetti, C. C. de M., Vacilotto, M. M., Dabul, A. N. G., Sepulchro, A. G. V., Pellegrini, V. O. A., & Polikarpov, I. (2021). Recent advances in the enzymatic production and applications of xylooligosaccharides. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(10), 169. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03139-7>
- Castellino, M., Renna, M., Leoni, B., Calasso, M., Difonzo, G., Santamaria, P., Gambacorta, G., Caponio, F., De Angelis, M., & Paradiso, V. M. (2020). Conventional and unconventional recovery of inulin rich extracts for food use from the roots of globe artichoke. *Food Hydrocolloids*, 107, 105975. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105975>
- Chelliah, R., Kim, N. H., Park, S., Park, Y., Yeon, S.-J., Barathikannan, K., Vijayalakshmi, S., & Oh, D.-H. (2024). Revolutionizing Renewable Resources: Cutting-Edge Trends and Future Prospects in the Valorization of Oligosaccharides. *Fermentation*, 10(4), 195. <https://doi.org/10.3390/fermentation10040195>
- Chen, Y., Xie, Y., Ajuwon, K. M., Zhong, R., Li, T., Chen, L., Zhang, H., Beckers, Y., & Everaert, N. (2021). Xylo-Oligosaccharides, Preparation and Application to Human and Animal Health: A Review. *Frontiers in Nutrition*, 8, 731930. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.731930>
- Chikezie Ogbu, C., & Nnaemeka Okey, S. (2023). Agro-Industrial Waste Management: The Circular and Bioeconomic Perspective. In Ahmad, F. & Sultan, M. (Eds) *Agricultural Waste - New Insights*. (Chapter 5) IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.109181>
- Comet Bio. (2026). <https://comet-bio.com/>
- Conrad, M., & Smirnova, I. (2020). Two-Step Autohydrolysis Pretreatment: Towards High Selective Full Fractionation of Wheat Straw. *Chemie Ingenieur Technik*, 92(11), 1723–1732. <https://doi.org/10.1002/cite.202000056>
- Corrales Centeno, A., Sanchez Muñoz, S., Severo Gonçalves, I., Sanchez Vera, F. P., Soares Forte, M. B., da Silva, S. S., dos Santos, J. C., & Terán Hilaes, R. (2023). Valorization of rice husk by hydrothermal processing to obtain valuable bioproducts: Xylooligosaccharides and Monascus biopigment. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 6, 100358. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100358>

- Dávila Sámano, A. R., Linares Hernández, I., Castillo Suárez, L. A., & Martínez Miranda, V. (2021). Gestión de los residuos sólidos urbanos y su efecto en el aire, agua y suelo. *Revista Alfa*, 5(15): 428–452. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v5i15.128>
- de Aquino Lima, F., dos Santos Júnior, A. C., Sarrouh, B., & Lofrano, R. C. Z. (2024). Application of sugarcane bagasse and peanut shell in natura as bioadsorbents for vinasse treatment. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 26(3), 785–802. <https://doi.org/10.1007/s10098-023-02650-9>
- de Freitas, C., Carmona, E., & Brienzo, M. (2019). Xylooligosaccharides production process from lignocellulosic biomass and bioactive effects. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 18, 100184. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2019.100184>
- de Oliveira, M. G. de, Forte, M. B. S., & Franco, T. T. (2021). A serial membrane-based process for fractionation of xylooligosaccharides from sugarcane straw hydrolysate. *Separation and Purification Technology*, 278, 119285. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.119285>
- Del Castillo-Llamosas, A., Rodríguez-Martínez, B., del Río, P. G., Eibes, G., Garrote, G., & Gullón, B. (2021). Hydrothermal treatment of avocado peel waste for the simultaneous recovery of oligosaccharides and antioxidant phenolics. *Bioresource Technology*, 342, 125981. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125981>
- Dias, J. C., Marques, S., Branco, P. C., Rodrigues, T., Torres, C. A. V., Freitas, F., Evtuyugin, D. V., & Silva, C. J. (2025). Biopolymers Derived from Forest Biomass for the Sustainable Textile Industry. *Forests*, 16(1), 163. <https://doi.org/10.3390/f16010163>
- Espro, C., Paone, E., Mauriello, F., Gotti, R., Uliassi, E., Bolognesi, M. L., Rodríguez-Padrón, D., & Luque, R. (2021). Sustainable production of pharmaceutical, nutraceutical and bioactive compounds from biomass and waste. *Chemical Society Reviews*, 50(20), 11191–11207. <https://doi.org/10.1039/D1CS00524C>
- Essa, M. M., Bishir, M., Bhat, A., Chidambaram, S. B., Al-Balushi, B., Hamdan, H., Govindarajan, N., Freidland, R. P., & Qoronfleh, M. W. (2023). Functional foods and their impact on health. *Journal of Food Science and Technology*, 60(3), 820–834. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05193-3>
- Ferreira-Lazarte, A., Moreno, F. J., & Villamiel, M. (2021). Bringing the digestibility of prebiotics into focus: update of carbohydrate digestion models. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(19), 3267–3278. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1798344>
- Garg, R., Sabouni, R., & Ahmadipour, M. (2023). From waste to fuel: Challenging aspects in sustainable biodiesel production from lignocellulosic biomass feedstocks and role of metal organic framework as innovative heterogeneous catalysts. *Industrial Crops and Products*, 206, 117554. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117554>
- Gargiulo, V., Di Natale, F., & Alfe, M. (2024). From agricultural wastes to advanced materials for environmental applications: Rice husk-derived adsorbents for heavy metals removal from wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12(5), 113497. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2024.113497>
- Han, J., Cao, R., Zhou, X., & Xu, Y. (2020). An integrated biorefinery process for adding values to corncob in co-production of xylooligosaccharides and glucose starting from pretreatment with gluconic acid. *Bioresource Technology*, 307, 123200. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123200>
- Hao, X., Xu, F., & Zhang, J. (2022). Effect of pretreatments on production of xylooligosaccharides and monosaccharides from corncob by a two-step hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*, 285, 119217. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119217>
- Huang, C., Yu, Y., Li, Z., Yan, B., Pei, W., & Wu, H. (2022). The preparation technology and application of xylo-oligosaccharide as prebiotics in different fields: A review. *Frontiers in Nutrition*, 9: 996811. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.996811>

- Juhász, R., Penksza, P., & Sipos, L. (2020). Effect of xylo-oligosaccharides (XOS) addition on technological and sensory attributes of cookies. *Food Science & Nutrition*, 8(10), 5452–5460. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1802>
- Karakan, T., Tuohy, K. M., & Janssen-van Solingen, G. (2021). Low-Dose Lactulose as a Prebiotic for Improved Gut Health and Enhanced Mineral Absorption. *Frontiers in Nutrition*, 8: 672925. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.672925>
- Kaur, A. P., Bhardwaj, S., Dhanjal, D. S., Nepovimova, E., Cruz-Martins, N., Kuča, K., Chopra, C., Singh, R., Kumar, H., Şen, F., Kumar, V., Verma, R., & Kumar, D. (2021). Plant Prebiotics and Their Role in the Amelioration of Diseases. *Biomolecules*, 11(3), 440. <https://doi.org/10.3390/biom11030440>
- Kushkevych, I., Martinková, K., Vítězová, M., & Rittmann, S. K.-M. R. (2021). Intestinal Microbiota and Perspectives of the Use of Meta-Analysis for Comparison of Ulcerative Colitis Studies. *Journal of Clinical Medicine*, 10(3), 462. <https://doi.org/10.3390/jcm10030462>
- Lamba, R., Sangwan, S., Sehrawat, N., Singh, A., Singh, S., & kumari, A. (2025). Development of Liquid Organic Fertilizers Using Agro-Industrial Wastes for the Hydroponic Cultivation of Lettuce. *International Journal of Environmental Research*, 19(4), 124. <https://doi.org/10.1007/s41742-025-00791-x>
- Lara-Fiallos, M. V., Bastidas-Delgado, L. A., Montalvo-Villacreses, D. T., Espín-Valladares, R. C., Núñez-Pérez, J., Martínez, A. P., Vispo, N. S., Cabrera, H. R., Suárez, E. G., & Pais-Chanfrau, J. M. (2021). Optimization of Crude Inulin Extraction from Garlic (*Allium sativum* L.) Agro-industrial Waste using the Response Surface Methodology. PREPRINT (Version 1). *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-136719/v1>
- Lemessa, G., Gabbiye, N., & Alemayehu, E. (2023). Waste to resource: Utilization of waste bagasse as an alternative adsorbent to remove heavy metals from wastewaters in sub-Saharan Africa: A review. *Water Practice and Technology*, 18(2), 393–407. <https://doi.org/10.2166/wpt.2023.011>
- Lobato-Rodríguez, Á., Gullón, B., Garrote, G., & Del-Río, P. G. (2025). Enhancing Acacia dealbata valorization through microwave-assisted autohydrolysis: An energy-efficient approach to oligosaccharides and bioethanol production. *Process Safety and Environmental Protection*, 201, 107470. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2025.107470>
- López-Astorga, M., Molina-Domínguez, C. C., Ovando-Martínez, M., & Leon-Bejarano, M. (2023). Orujo de Uva: Más que un Residuo, una Fuente de Compuestos Bioactivos. *EPISTEMUS*, 16(33), 115-122. <https://doi.org/10.36790/epistemus.v16i33.283>
- Manandhar, A., & Shah, A. (2023). Techno-Economic Analysis of the Production of Lactic Acid from Lignocellulosic Biomass. *Fermentation*, 9(7), 641. <https://doi.org/10.3390/fermentation9070641>
- McQuilken, S. A. (2021). The mouth, stomach and intestines. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 22(5), 330–335. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2021.04.001>
- Meliora Bio. (2026). <https://meliora-bio.com/what-we-make/>
- Mitchell, C. M., Davy, B. M., Ponder, M. A., McMillan, R. P., Hughes, M. D., Hulver, M. W., Neilson, A. P., & Davy, K. P. (2021). Prebiotic Inulin Supplementation and Peripheral Insulin Sensitivity in adults at Elevated Risk for Type 2 Diabetes: A Pilot Randomized Controlled Trial. *Nutrients*, 13(9), 3235. <https://doi.org/10.3390/nu13093235>
- Mujtaba, M., Fernandes Fraceto, L., Fazeli, M., Mukherjee, S., Savassa, S. M., Araujo de Medeiros, G., do Espírito Santo Pereira, A., Mancini, S. D., Lipponen, J., & Vilaplana, F. (2023). Lignocellulosic biomass from agricultural waste to the circular economy: a review with focus on biofuels, biocomposites and bioplastics. *Journal of Cleaner Production*, 402, 136815. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.136815>

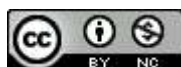
- Nogueira-Prieto, N.-M., Ansín-Vallejo, C., Becerra-Fernández, M., & González-Siso, M.-I. (2025). A review of the capacity of xylooligosaccharides to modulate gut microbiota and promote health. *Food & Function*, 16(12), 4654–4672. <https://doi.org/10.1039/D5FO00169B>
- Pauline, A. L., & Joseph, K. (2020). Hydrothermal carbonization of organic wastes to carbonaceous solid fuel – A review of mechanisms and process parameters. *Fuel*, 279, 118472. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118472>
- Pereira, B. S., de Freitas, C., Contiero, J., & Brienzo, M. (2022). Enzymatic Production of Xylooligosaccharides from Xylan Solubilized from Food and Agroindustrial Waste. *BioEnergy Research*, 15(2), 1195–1203. <https://doi.org/10.1007/s12155-021-10373-2>
- Pereira, M. J., Pedrosa, S. S., Costa, J. R., Carvalho, M. J., Neto, T., Oliveira, A. L., Pintado, M., & Madureira, A. R. (2025). Sugarcane Straw Hemicellulose Extraction by Autohydrolysis for Cosmetic Applications. *Molecules*, 30(6), 1208. <https://doi.org/10.3390/molecules30061208>
- Pinakana, S. D., Raysoni, A. U., Sayeed, A., Gonzalez, J. L., Temby, O., Wladyka, D., Sepielak, K., & Gupta, P. (2024). Review of agricultural biomass burning and its impact on air quality in the continental United States of America. *Environmental Advances*, 16, 100546. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2024.100546>
- Regmi, S., Paudel, S., & Janaswamy, S. (2024). Development of Eco-Friendly Packaging Films from Soyhull Lignocellulose: Towards Valorizing Agro-Industrial Byproducts. *Foods*, 13(24), 4000. <https://doi.org/10.3390/foods13244000>
- Rogoski, W., Pereira, G. N., Cesca, K., da Silva, M. A., Zanella, E., Stambuk, B. U., Ávila, P. F., Goldbeck, R., de Oliveira, D., & de Andrade, C. J. (2024). Production of cassava peel-based xylooligosaccharides using endo-1,4- β -xylanase from *Trichoderma longibrachiatum*: the effect of alkaline pretreatment. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(10), 11351–11363. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03287-2>
- Ruiz, H. A., Conrad, M., Sun, S.-N., Sanchez, A., Rocha, G. J. M., Romání, A., Castro, E., Torres, A., Rodríguez-Jasso, R. M., Andrade, L. P., Smirnova, I., Sun, R.-C., & Meyer, A. S. (2020). Engineering aspects of hydrothermal pretreatment: From batch to continuous operation, scale-up and pilot reactor under biorefinery concept. *Bioresource Technology*, 299, 122685. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122685>
- Ruiz, H. A., Galbe, M., Garrote, G., Ramirez-Gutierrez, D. M., Ximenes, E., Sun, S. N., Lachos-Perez, D., Rodríguez-Jasso, R. M., Sun, R. C., Yang, B., & Ladisch, M. R. (2021). Severity factor kinetic model as a strategic parameter of hydrothermal processing (steam explosion and liquid hot water) for biomass fractionation under biorefinery concept. *In Bioresource Technology*, 342: 125961. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125961>
- Sabino, T. P. F., Coelho, N. P. F., Andrade, N. C., Metzker, S. L. O., Viana, Q. S., Mendes, J. F., & Mendes, R. F. (2022). Lignocellulosic materials as soil–cement brick reinforcement. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(15), 21769–21788. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17351-3>
- Segers, B., Nimmegeers, P., Spiller, M., Tofani, G., Jasiukaitytė-Grojzdek, E., Dace, E., Kikas, T., Marchetti, J. M., Rajić, M., Yildiz, G., & Billen, P. (2024). Lignocellulosic biomass valorisation: a review of feedstocks, processes and potential value chains and their implications for the decision-making process. *RSC Sustainability*, 2(12), 3730–3749. <https://doi.org/10.1039/D4SU00342J>
- Shie-Lih, T., Chen-Chung, K., & Siew-Ling, H. (2020). Recent Advance in Extraction of Prebiotics from Plants: A Review. *International Journal of Biomass and Renewables*, 9(2), 14–21. <https://goo.su/SINxtz>
- Shiva, Rodríguez-Jasso, R. M., Rosero-Chasoy, G., López-Sandin, I., Morais, A. R. C., & Ruiz, H. A. (2023). Enzymatic Hydrolysis, Kinetic Modeling of Hemicellulose Fraction, and Energy Efficiency

- of Autohydrolysis Pretreatment Using Agave Bagasse. *BioEnergy Research*, 16(1), 75–87. <https://doi.org/10.1007/s12155-022-10442-0>
- Singh, R., Das, R., Sangwan, S., Rohatgi, B., Khanam, R., Peera, S. K. P. G., Das, S., Lyngdoh, Y. A., Langyan, S., Shukla, A., Shrivastava, M., & Misra, S. (2021). Utilisation of agro-industrial waste for sustainable green production: a review. *Environmental Sustainability*, 4(4), 619–636. <https://doi.org/10.1007/s42398-021-00200-x>
- Singh, R., Hans, M., Kumar, S., & Yadav, Y. K. (2023). Thermophilic Anaerobic Digestion: An Advancement towards Enhanced Biogas Production from Lignocellulosic Biomass. *Sustainability*, 15(3), 1859. <https://doi.org/10.3390/su15031859>
- Sri Shalini S., Palanivelu K., Ramachandran A., & Raghavan, V. (2021). Biochar from biomass waste as a renewable carbon material for climate change mitigation in reducing greenhouse gas emissions—a review. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11(5), 2247–2267. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00604-5>
- Tan, S., Zhou, G., Yang, Q., Ge, S., Liu, J., Cheng, Y. W., Yek, P. N. Y., Wan Mahari, W. A., Kong, S. H., Chang, J.-S., Sonne, C., Chong, W. W. F., & Lam, S. S. (2023). Utilization of current pyrolysis technology to convert biomass and manure waste into biochar for soil remediation: A review. *Science of The Total Environment*, 864, 160990. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160990>
- Ungureanu, E. L., Mocanu, A. L., Stroe, C. A., Panciu, C. M., Berca, L., Sionel, R. M., & Mustatea, G. (2023). Agricultural Byproducts Used as Low-Cost Adsorbents for Removal of Potentially Toxic Elements from Wastewater: A Comprehensive Review. *Sustainability*, 15(7), 5999. <https://doi.org/10.3390/su15075999>
- Valladares-Diestra, K. K., de Souza Vandenberghe, L. P., Vieira, S., Goyzueta-Mamani, L. D., de Mattos, P. B. G., Manzoki, M. C., Soccol, V. T., & Soccol, C. R. (2023). The Potential of Xylooligosaccharides as Prebiotics and Their Sustainable Production from Agro-Industrial by-Products. *Foods*, 12(14), 2681. <https://doi.org/10.3390/foods12142681>
- Valmet. (2026). <https://www.valmet.com/industries/bio/bioethanol-and-bioplastics/feeding-technology/>
- Vučurović, D., Bajić, B., Trivunović, Z., Dodić, J., Zeljko, M., Jevtić-Mučibabić, R., & Dodić, S. (2024). Biotechnological Utilization of Agro-Industrial Residues and By-Products—Sustainable Production of Biosurfactants. *Foods*, 13(5), 711. <https://doi.org/10.3390/foods13050711>
- Wang, Q., Su, Y., Gu, Y., Lai, C., Ling, Z., & Yong, Q. (2022). Valorization of bamboo shoot shell waste for the coproduction of fermentable sugars and xylooligosaccharides. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10: 1006925. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1006925>
- Wen, P., Zhang, T., Xu, Y., & Zhang, J. (2020). Co-production of xylooligosaccharides and monosaccharides from poplar by a two-step acetic acid and sodium chlorite pretreatment. *Industrial Crops and Products*, 152, 112500. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112500>
- Xiao, Y., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q., & Chen, W. (2021). Mining genome traits that determine the different gut colonization potential of Lactobacillus and Bifidobacterium species. *Microbial Genomics*, 7(6). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000581>
- Yan, F., Tian, S., Chen, H., Gao, S., Dong, X., & Du, K. (2022). Advances in xylooligosaccharides from grain byproducts: Extraction and prebiotic effects. *Grain & Oil Science and Technology*, 5(2), 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2022.02.002>
- Yoon, J., Sim, S., Myint, A. A., & Lee, Y.-W. (2018). Kinetics of the hydrolysis of xylan based on ether bond cleavage in subcritical water. *The Journal of Supercritical Fluids*, 135, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.01.013>

- Yoro, K. O., & Daramola, M. O. (2020). Chapter 1 - CO₂ emission sources, greenhouse gases, and the global warming effect. In Reza Rahimpour, M., Farsi, M., & Makarem, M. A. (Eds.) *Advances in Carbon Capture* (pp. 3–28). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819657-1.00001-3>
- Zhao, K., Tian, X., Lai, W., & Xu, S. (2024). Agricultural production and air pollution: An investigation on crop straw fires. *PLOS ONE*, 19(5), e0303830. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0303830>
- Zhao, L., Zhao, M., Gao, W., Xie, L., Zhang, G., Li, J., Song, C., & Wei, Z. (2024). Different *Bacillus* sp. play different roles on humic acid during lignocellulosic biomass composting. *Journal of Cleaner Production*, 434, 139901. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.139901>

2026 TECNOCIENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Artículo de Revisión

Especies valiosas de la biodiversidad agrícola de México: una revisión sobre los quelites

Valuable species of Mexico's agricultural biodiversity: a review of quelites

Luz Araceli Ochoa-Martínez¹, Silvia Marina González-Herrera¹, Olga Miriam Rutíaga-Quíñones¹, Sandra Vega-Maturino¹ y Azucena Rodríguez-Mena^{1*}

¹ Tecnológico Nacional de México/I.T.Durango, Laboratorio Nacional CONAHCYT-LaNAEPBi. Blvd. Felipe Pescador 1830 Ote. C.P. 34080, Durango, Dgo., México.

*Correspondencia: Correo electrónico: azucena.rodriguez@itdurango.edu.mx (Azucena Rodríguez-Mena)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v20i1.2234>

Recibido: 16 de febrero de 2026; Aceptado: 28 de abril de 2026

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editora de Sección: Dra. Carmen Meléndez-Pizarro

Resumen

Los quelites han sido parte fundamental de la dieta tradicional mexicana, pues crecen de manera natural en las milpas y son recolectados por los campesinos para su consumo y venta en los mercados locales. El acelerado crecimiento de la industria alimentaria y la disponibilidad de productos altamente procesados, de mayor accesibilidad para la población, han conducido a una marcada disminución en su consumo, restringiéndolo principalmente a comunidades rurales e indígenas. En la actualidad, resulta indispensable revalorar el enorme potencial de los quelites para contribuir a la salud de la población mexicana, ya que se ha demostrado que poseen múltiples propiedades benéficas. En este contexto, el objetivo de esta revisión es profundizar en las propiedades de los quelites con el fin de promover su revalorización, conservación e integración como posibles aditivos alimentarios en productos funcionales innovadores. Para ello, se analizan aspectos relacionados con su consumo en México, los principales componentes bioactivos que contienen y las técnicas empleadas para su extracción, así como las aplicaciones que han tenido en la industria alimentaria y los desafíos actuales para su aprovechamiento. Asimismo, se identifican vacíos de investigación relacionados con la estandarización de técnicas de extracción, la evaluación de la estabilidad de compuestos bioactivos, el desarrollo de procesos de conservación y su incorporación en alimentos funcionales, lo que permite orientar futuras líneas de investigación hacia el aprovechamiento sostenible de los quelites.

Palabras clave: quelites, biodiversidad, propiedades benéficas, aplicación, aprovechamiento

Abstract

Quelites have been a fundamental part of the traditional Mexican diet, as they grow naturally in milpa systems and are collected by farmers for consumption and sale in local markets. The rapid growth of the food industry and the availability of highly processed products, which are more accessible to the population, have led to a marked decrease in their consumption, restricting it mainly to rural and Indigenous communities. At present, it is essential to revalue the significant potential of quelites to contribute to the health of the Mexican population, as they have been shown to possess multiple beneficial properties. In this context, the aim of this review is to provide an in-depth analysis of the properties of quelites in order to promote their revalorization, conservation, and integration as potential food additives in innovative functional products. To this end, aspects related to their consumption in Mexico, the main bioactive compounds they contain, and the techniques employed for their extraction are analyzed, along with their applications in the food industry and the current challenges associated with their utilization. Furthermore, research gaps in standardizing extraction techniques, evaluating bioactive compound stability, developing preservation processes, and incorporating these into functional foods are identified, providing guidance for future research directions toward the sustainable utilization of quelites.

Keywords: quelites, biodiversity, beneficial properties, application, utilization

1. Introducción

Los quelites (del náhuatl quiltil, que significa “hierba comestible”) son plantas silvestres que crecen de manera espontánea en distintos ecosistemas agrícolas como milpas y huertos familiares, algunas de ellas están adaptadas a las zonas semiáridas, por lo que resisten condiciones extremas del clima como la falta de agua (Santiago-Saénz et al., 2019b). Los quelites han formado parte fundamental de la alimentación y la cultura de México; entre las especies más representativas se encuentran el quintonil o amaranto (*Amaranthus spp.*), el quelite cenizo (*Chenopodium spp.*), la verdolaga (*Portulaca oleracea*) y el epazote (*Dhysphania ambrosioides*) (Balcázar-Quñones et al., 2020). Durante muchos años los quelites fueron consumidos de manera generalizada en todo el territorio mexicano, sin embargo, con el paso del tiempo, la introducción de ingredientes europeos y más tarde, los procesos de modernización, urbanización e industrialización del siglo XX provocaron una disminución notable en su consumo (Mera-Ovando et al., 2003). Como consecuencia, su presencia quedó conservada principalmente en comunidades rurales e indígenas, donde son recolectados para su consumo o uso terapéutico y se ha reportado la amplia variedad de especies utilizadas, sus nombres indígenas, modos de preparación y propiedades curativas (Linares et al., 2017; Bye Boettler et al., 2026).

En la dieta tradicional mexicana, se utilizan en guisos, sopas, tamales, tortillas, ensaladas y bebidas, y han sido fundamentales para la nutrición de poblaciones rurales durante generaciones, especialmente en épocas de escasez (Linares et al., 2017). Se ha documentado en diversas investigaciones que los quelites aportan fibra dietética, proteínas, vitaminas, minerales y compuestos bioactivos (polifenoles, flavonoides, clorofilas, betalainas y carotenoides) que poseen efectos antioxidantes, antiinflamatorios y antimicrobianos (Santiago-Saenz et al., 2020; Pacheco-Hernández et al., 2022; Pascual-Mendoza et al., 2023). De igual modo, un área particularmente prometedora es su impacto con la salud gastrointestinal. La fibra dietética y los oligosacáridos presentes en muchas

especies de quelites pueden actuar como prebióticos, favoreciendo el crecimiento de microorganismos benéficos y contribuyendo a la integridad de la mucosa intestinal (García et al., 2022). Los quelites desempeñan un papel clave en la biodiversidad agrícola mexicana, considerada una de las más ricas a nivel mundial y en la actualidad, existe interés por rescatar los quelites, debido a la presencia de compuestos valiosos que permitirían posicionarlo no solo como patrimonio gastronómico, sino también como recurso nutricional y medicinal.

Sin embargo, a pesar del reconocimiento de su valor nutricional y funcional, aún existen importantes vacíos de investigación que limitan su aprovechamiento (Mateo-Maces et al., 2020). En particular, se requiere una mayor estandarización de los métodos de extracción y caracterización de sus compuestos bioactivos, así como estudios que evalúen su estabilidad durante el procesamiento y almacenamiento. Asimismo, son escasos los trabajos enfocados en el desarrollo de tecnologías de conservación y en la incorporación de estos recursos vegetales en matrices alimentarias modernas, especialmente en productos funcionales y aditivos naturales. En este sentido, abordar estos vacíos de conocimiento permitirá fortalecer las bases científicas necesarias para su aprovechamiento sostenible y su integración en sistemas alimentarios innovadores.

Por lo tanto, esta revisión tiene como objetivo profundizar en las propiedades de los quelites con el fin de promover su revalorización, conservación e integración como posibles aditivos alimentarios en productos funcionales innovadores. La búsqueda de información se realizó en las bases de datos Google Académico y Web of Science, considerando artículos publicados en inglés y español durante el periodo de 2010 a 2025. Las palabras clave empleadas fueron: quelites en México, beneficios del consumo de quelites, compuestos bioactivos en quelites y aplicaciones alimentarias de los quelites. Como resultado, se identificaron aproximadamente 920 artículos, de los cuales 77 se consideraron relevantes por cumplir con los objetivos de estudio, contar con acceso a texto completo y estar directamente relacionados con compuestos bioactivos y aplicaciones alimentarias de los quelites.

2. Consumo de quelites en México

Los quelites constituyen un legado alimentario de gran valor en México y su consumo se ha documentado desde el periodo Formativo, lo que evidencia una tradición de varios milenios de antigüedad (McClung de Tapia et al., 2014). Diversas poblaciones los recolectaban espontáneamente en los cultivos de maíz, frijol y calabaza, y los incorporaban a sus platillos tanto por su sabor como por sus efectos benéficos para la salud. En ese contexto tradicional, los quelites eran más que “acompañamiento”: formaban una parte importante de la dieta diaria, aprovechando la biodiversidad vegetal local. Sin embargo, en la actualidad en algunas zonas rurales el valor de los quelites ha sido menospreciado, y muchos campesinos los consideran “hierbas malas” o malezas no deseadas (Mapes y Basurto, 2016; Ebel et al., 2024). Quienes los consumen habitualmente, los describen como hierbas aromáticas y curativas que aportan características especiales de sabor, aroma y textura y que poseen un perfil nutricional y fitoquímico relevante (Manzanero-Medina et al., 2020).

Entre las especies más consumidas en México figuran los géneros *Portulaca* (verdolaga) y *Amaranthus* (quintoniles). Estas hojas tiernas se utilizan tanto en ensaladas como en caldos y guisos, aprovechando su versatilidad culinaria y su valor nutritivo (Santiago-Saenz et al., 2020). En la Fig. 1 se presenta un mapa que muestra la distribución del consumo actual de quelites en México. Se

observa que las regiones Centro y Sur del país concentran el mayor consumo, lo que reafirma a la región mesoamericana como el núcleo histórico y cultural de aprovechamiento de estas especies.

Este patrón se asocia con la alta diversidad biológica presente en dichas zonas, destacando particularmente los estados de Puebla, Guerrero y Morelos, ya que diversos estudios han señalado que los mercados locales representan espacios clave para su comercialización debido a precios accesibles (Díaz-José et al., 2019). Por su parte, el estado de Oaxaca es reconocido como uno de los más diversos del país, y se ha documentado su amplia variedad de especies de quelites, así como su alto valor nutricional (Pascual-Mendoza et al., 2023). En Yucatán, los quelites son consumidos principalmente en las comunidades mayas, donde forman parte tanto de la dieta cotidiana como de la medicina tradicional. Sin embargo, su consumo actual es moderado, ya que su aprovechamiento se limita principalmente a los ámbitos rurales donde persisten los saberes locales sobre su uso y preparación (Noguera-Savelli, 2024).

En el norte de México, particularmente en Durango y en la región del Gran Nayar, los quelites continúan formando parte de la alimentación de diversas comunidades rurales e indígenas, donde se ha documentado una notable diversidad de especies silvestres comestibles (González-Elizondo et al., 2024; Monreal-García et al., 2024). Sin embargo, la literatura indica que el conocimiento tradicional y el aprovechamiento de estas plantas ha disminuido en comparación con las regiones del centro y sur del país, lo que se traduce en un consumo menor (Monreal-García et al., 2024). Entre las especies que se consumen en Chihuahua y Durango se encuentran la verdolaga, el quelite cenizo y quelites amarantáceos (Severiano-Pérez et al., 2023).

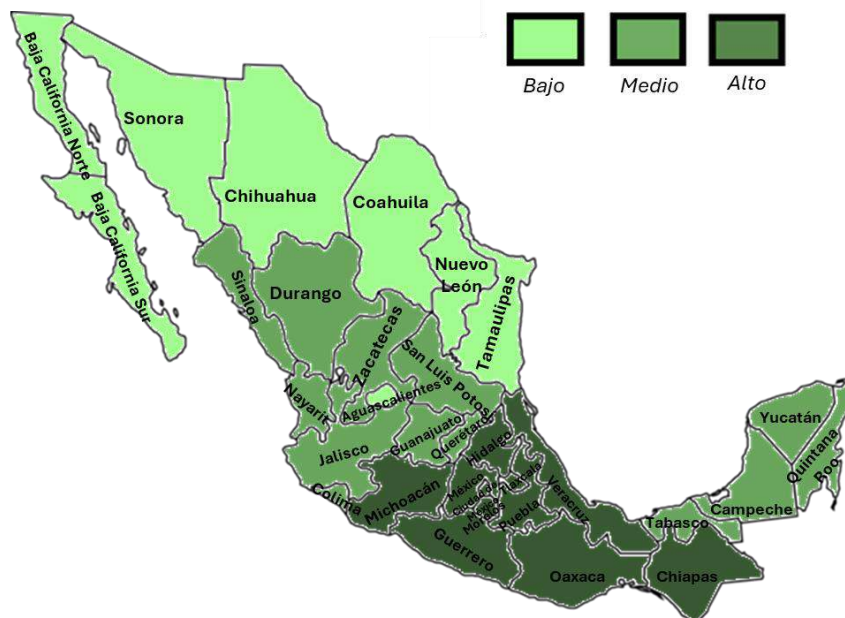


Figura 1. Distribución regional del consumo relativo (bajo/medio/alto) de quelites en México
Figure 1. Regional distribution of relative consumption (low/medium/high) of quelites in Mexico

A lo largo del tiempo, el consumo de quelites llegó a asociarse erróneamente con los sectores de bajos recursos, e incluso el término “queliteros” se utilizaba de forma despectiva para referirse a quienes los consumían con frecuencia (Félix-Rábago y Hernández-Moreno, 2024). Durango destaca como el estado del norte de México con la mayor diversidad de quelites, al registrarse 39 especies distribuidas en diferentes regiones del territorio. Entre las más representativas se encuentran los géneros *Amaranthus*, *Portulaca* y *Chenopodium*, los cuales forman parte importante de la biodiversidad vegetal de la región (Monreal-García et al., 2024).

En la Fig. 2 se presentan algunas de las especies de quelites identificadas en el estado de Durango, observadas durante los meses de septiembre y octubre de 2025, periodo correspondiente a la temporada de lluvias, cuando la disponibilidad y diversidad de estas plantas es mayor. Esta información resalta la importancia de revalorar y promover el aprovechamiento, de los quelites, ya que son especies abundantes en todo el país, con un profundo valor cultural y potenciales beneficios para la salud (Santiago-Saénz et al., 2019a). Además, su rescate puede complementarse con estrategias de innovación alimentaria orientadas a desarrollar productos atractivos que incorporen quelites, favoreciendo así su aceptación y consumo en distintos sectores de la población (Ebel et al., 2024).

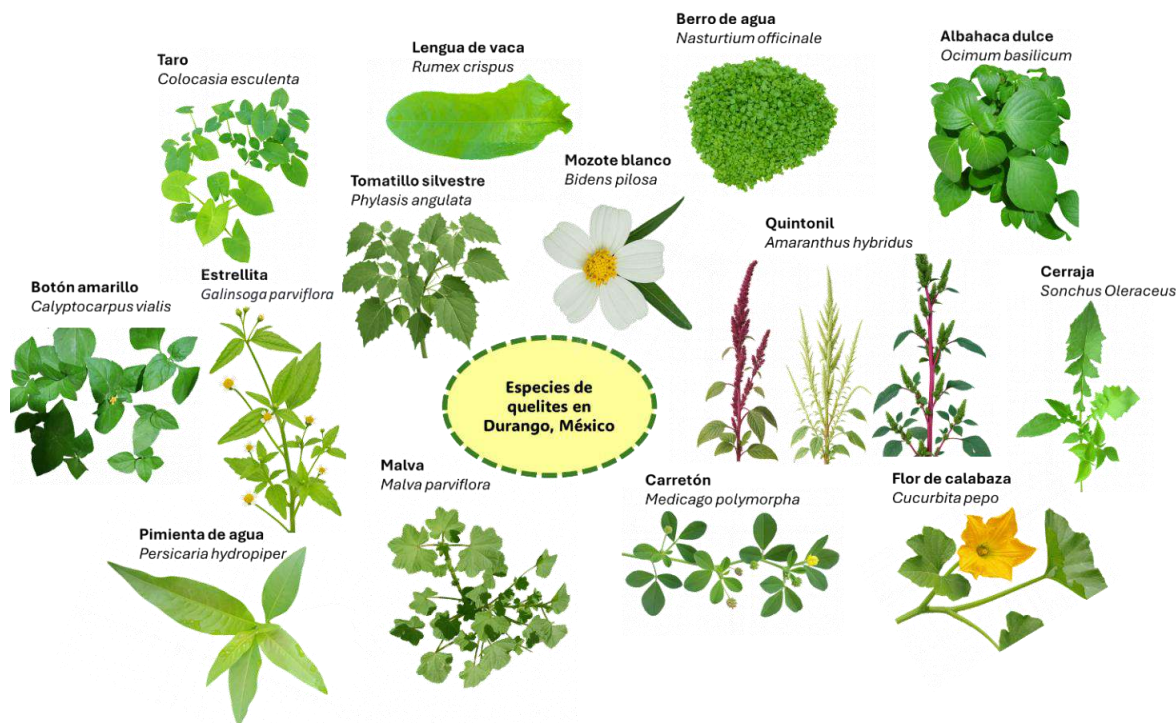


Figura 2. Especies de quelites observadas en el estado de Durango durante la temporada de lluvias (septiembre–octubre de 2025).

Figure 2. Quelite species observed in the state of Durango during the rainy season (September–October 2025).

Tabla 1. Quelites documentados en el estado de Durango y sus propiedades funcionales**Table 1.** Quelites documented in the state of Durango and their functional properties

Quelite (Nombre común/Nombre científico)	Propiedad funcional/Actividad								Referencia
	AI	AO	GO	AD	AM	AC	NP	HP	
Mozote blanco (<i>Bidens pilosa</i>)	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓	✓	(Said et al., 2024, Waititu et al., 2024; Etukudo et al., 2025)
Tomatillo silvestre (<i>Physalis angulata</i>)	✓	✓	-	✓	✓	✓	-	-	(Novitasari et al., 2024)
Estrellita (<i>Galinsoga parviflora</i>)	✓	✓	-	-	✓	-	-	-	(Bazylko et al., 2015; Studzińska-Sroka et al., 2018)
Malva (<i>Malva parviflora</i>)	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	✓	(Abdel-Ghani et al., 2013; Naser et al., 2022; Anwar et al., 2025)
Carretón (<i>Medicago polymorpha</i>)	✓	✓	-	✓	✓	-	-	-	(Yadav et al., 2024)
Quintonil (<i>Amaranthus hybridus</i>)	-	✓	-	✓	-	-	✓	✓	(Santiago-Saenz et al., 2018; Nkobile et al., 2021)
Flor de calabaza (<i>Cucurbita pepo</i>)	✓	✓	-	✓	✓	-	-	-	(Pérez-Gutiérrez, 2016; Barrera- Osorio, 2023)
Berro de agua (<i>Nasturtium officinale</i>)	✓	✓	-	✓	-	✓	✓	✓	(Yazdanparast et al., 2008; Maluwa et al., 2025)
Acedera o lengua de vaca (<i>Rumex crispus</i>)	✓	✓	-	-	✓	✓	-	✓	(Idris et al., 2017; Qian et al., 2024)
Taro (<i>Colocasia esculenta</i>)	✓	✓	-	✓	✓	✓	-	✓	(Gupta et al., 2019; Pertiwi et al., 2025)

Pimienta de agua (<i>Persicaria hydropiper</i>)	✓	✓	-	-	✓	-	-	-	(Khatun et al., 2015; Seimandi et al., 2021)
Cerraja (<i>Sonchus oleraceus</i>)	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	(Li et al., 2017; Vecchia et al., 2022)
Botón amarillo (<i>Calyptocarpus vialis</i>)	-	✓	-	✓	✓	✓	-	-	(Bachhar et al., 2024a; Bachhar et al., 2024b)
Albahaca dulce (<i>Ocimum basilicum</i>)	✓	✓	✓	-	✓	-	✓	-	(Shahrajabian et al., 2020; Abraham et al., 2025)

AI: Antiinflamatoria, AO: Antioxidante, GO: Gastroprotectora, AD: Antidiabética, AM: Antimicrobiana, AC: Anticancerígena, NP: Neuroprotectora, HP: Hepatoprotectora.

En la Tabla 1 se resume la información más relevante sobre los quelites encontrados en el estado de Durango durante la temporada de lluvias, destacando las propiedades funcionales reportadas en la literatura, sustentada en estudios *in vitro* e *in vivo* realizados en diferentes especies. Esta información muestra el potencial nutraceutico de estas especies y evidencia que, Durango posee una notable diversidad de quelites con alto valor biológico, lo cual representa una oportunidad significativa para su aprovechamiento en el desarrollo de nuevos ingredientes para la industria alimentaria.

3. Componentes bioactivos y efectos biológicos de los quelites

Los quelites poseen nutrientes esenciales y una amplia gama de metabolitos secundarios. La literatura reporta que muchas especies presentan alto contenido de proteínas, fibra dietaria, vitaminas, aminoácidos esenciales y se han identificado fenoles simples, carotenoides, clorofilas, betalainas y ácidos grasos poliinsaturados (Santiago-Saenz et al., 2019b; Manzanero-Medina et al., 2020; Mateos-Maces et al., 2020). Estas características respaldan su clasificación como alimentos con potencial nutraceutico, ya que ejercen múltiples efectos biológicos asociados con la prevención de enfermedades.

3.1 Verdolaga (*Portulaca oleracea*)

En el caso de la verdolaga, se han realizado estudios *in vitro* y en modelos animales que muestran efectos protectores frente al daño oxidativo y la inflamación. Ensayos con extractos de hojas, tallos y flores han demostrado una marcada capacidad para neutralizar radicales libres y proteger el ADN frente al daño inducido por agentes oxidantes, lo que refuerza su papel como fuente de antioxidantes (Silva y Carvalho, 2014). Revisiones recientes señalan que los extractos de verdolaga ejercen efectos antiinflamatorios y antioxidantes en modelos de estrés oxidativo y diabetes inducida en ratas, reduciendo marcadores de inflamación y mejorando el perfil metabólico (Ghorani et al., 2023). A nivel clínico, se han reportado ensayos en humanos donde el consumo de semillas o suplementos de

verdolaga en adolescentes con dislipidemia o adultos hipercolesterolémicos reducen significativamente las concentraciones séricas de colesterol total y triglicéridos, sugiriendo un efecto hipolipemiante (Miao et al., 2025).

3.2 Amaranto (*Amaranthus spp.*)

Los amarantos de hoja (*Amaranthus spp.*), también han sido objeto de numerosos estudios. Revisiones y trabajos experimentales indican que sus hojas contienen altos niveles de fenoles, flavonoides, vitaminas, minerales y son una fuente significativa de pigmentos como carotenoides, betalainas y clorofilas, los cuales contribuyen a su elevada capacidad antioxidante que se asocia a efectos cardioprotectores, antihiperlipidémicos, antidiabéticos y antiinflamatorios en modelos *in vitro* e *in vivo* (Park et al., 2020; Sarker et al., 2022). Se han evaluado fracciones fenólicas de *Amaranthus* en modelos animales de diabetes e hiperlipidemia, observándose disminución de glucosa sanguínea, mejora en el perfil de lípidos y reducción de marcadores de estrés oxidativo, lo que respalda su consideración como ingrediente funcional (Campos-Herrera et al., 2024). Además, estudios en distintos genotipos de amaranto han demostrado que las hojas y brotes poseen flavonoides, polifenoles y alta capacidad antioxidante, aunque con variaciones importantes según el genotipo y el manejo postcosecha (Cantú-López et al., 2022).

3.3 Otros quelites y efectos funcionales

Estudios en huazontle (*Chenopodium berlandieri*) han demostrado altos niveles de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante, por lo que también presentan efectos biológicos asociados a la prevención de enfermedades (Pacheco-Hernández et al., 2022). Mateos-Maces et al. (2020), estudiaron 30 especies de plantas comestibles en México incluyendo quelites y observaron que varias de ellas presentan actividad antioxidante comparable y en algunos casos superior a hortalizas convencionales, respaldando su clasificación como alimentos con potencial nutracéutico. En el contexto específico de los quelites mexicanos, se ha avanzado en la caracterización de su potencial nutracéutico.

Pacheco-Hernández et al. (2022), evaluaron siete especies de quelites consumidos en Puebla, encontrando que los extractos hidroalcohólicos mostraron propiedades inhibitoras actuando como reguladores de enzimas implicadas en la absorción de carbohidratos y lípidos, las síntesis de colesterol y el desarrollo de cáncer. García et al. (2021), evaluaron el efecto del blanqueado culinario sobre el perfil fenólico y la capacidad antioxidante de distintos quelites, mostrando que ciertos tratamientos térmicos pueden disminuir parte del contenido fenólico, pero también mejorar la extracción de algunos compuestos, lo que tiene implicaciones directas en el valor funcional de los quelites tradicionales. En conjunto, esta evidencia respalda que, más allá de su valor como verduras de hoja, los quelites representan una fuente relevante de metabolitos bioactivos con impacto potencial en la prevención del daño oxidativo y procesos inflamatorios.

3.4 Microbiota intestinal y potencial prebiótico

Un aspecto novedoso y cada vez más relevante es el impacto de estas hierbas y sus compuestos sobre la microbiota intestinal. Aunque muchos estudios no utilizan explícitamente el término “quelites”, se centran en especies que en México se consumen como tales y la evidencia reciente apunta a que sus fibras, polisacáridos y polifenoles actúan como sustratos fermentables y moduladores de la comunidad microbiana. Los extractos ricos en polifenoles de verdolaga (*Portulaca oleracea*) han mostrado efectos protectores en modelos animales de enfermedad intestinal, incluyendo la restauración de la integridad de la barrera intestinal, la modulación de la microbiota y la reducción de procesos inflamatorios asociados. Asimismo, su incorporación en la dieta ha demostrado mejorar la capacidad antioxidante sistémica y favorecer el crecimiento de bacterias benéficas, lo que respalda su potencial como modulador del sistema intestinal (Li et al., 2025a; Li et al., 2025b).

En el caso del amaranto (*Amaranthus spp.*), se han documentado efectos funcionales asociados a sus fibras, granos y hojas, particularmente en relación con la salud intestinal. Estudios *in vitro* y clínicos han demostrado que sus fibras actúan como sustratos fermentables para la microbiota intestinal, favoreciendo la producción de ácidos grasos de cadena corta y la disminución de microorganismos asociados a procesos inflamatorios. Asimismo, se han observado mejoras en la composición microbiana y en parámetros nutricionales, lo que sugiere que los compuestos del amaranto pueden contribuir a la salud metabólica y a la recuperación nutricional mediante la modulación de la microbiota intestinal (Kongdang et al., 2021; Calva-Cruz et al., 2023; Sabbione et al., 2024).

Aunque todavía son relativamente escasos los estudios que exploran de forma directa quelites mexicanos/microbiota intestinal en humanos, la evidencia disponible con las especies clave (verdolaga y amaranto) apunta a un panorama muy prometedor ya que sus fibras, polisacáridos y polifenoles se comportan como componentes prebióticos o moduladores de la microbiota, con efectos indirectos sobre inflamación, metabolismo lipídico e integridad de la barrera intestinal. Esta línea de investigación se perfila como uno de los campos más innovadores en el estudio de los quelites, y abre la puerta a diseñar alimentos funcionales y nutraceuticos basados en quelites específicamente orientados a la salud intestinal

4 Extracción de compuestos bioactivos de quelites

Aunque ya existe una base sólida de evidencia sobre la presencia de compuestos bioactivos en los quelites y su actividad antioxidante y nutraceutica, la mayoría de los estudios se han realizado con extracciones convencionales usando solventes y sólo un número reducido ha explorado la aplicación de tecnologías alternativas como se muestra en la Tabla 2.

Wang et al. (2014), estudiaron el uso del ultrasonido en verdolaga (*Portulaca oleracea*) para extraer flavonoides, esta tecnología favoreció la ruptura de la pared celular y la liberación eficiente de compuestos fenólicos logrando mayores concentraciones en tiempos cortos y con menor consumo de solvente, bajo condiciones óptimas definidas por metodología de superficie de respuesta.

Vargas-Madriz et al. (2023a), compararon el secado en horno y liofilización de hojas e inflorescencias de quelite cenizo para la extracción de fenoles y flavonoides. El estudio mostró que, en la extracción convencional, el proceso de secado influye significativamente en el perfil fenólico y la capacidad

antioxidante y se concluyó que las hojas y las inflorescencias liofilizadas conservan mejor los compuestos de interés.

Santiago-Sáenz et al. (2018), evaluaron tres especies de quelites mexicanos (quintonil, quelite cenizo y verdolaga) para la extracción hidroalcohólica de clorofilas, carotenoides, fenoles y flavonoides, encontrando que estos parámetros tienen variación según la especie estudiada, pero se demostró que las tres especies son ricas en compuestos bioactivos que pueden contribuir a la dieta de la población mexicana.

Godínez-Santillán et al. (2019), evaluaron la extracción con metanol y etanol de compuestos fenólicos y antioxidantes en hojas crudas y hervidas de chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*) del estado de Querétaro. Se lograron identificar 11 compuestos fenólicos y los resultados mostraron que el tratamiento térmico (ebullición) modificó significativamente el perfil fenólico, y el mejor solvente para extraer fenoles y flavonoides fue etanol:agua 80:20 v/v.

Vargas-Madriz et al. (2023b), estudiaron la extracción hidroalcohólica de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de papaloquelite (*Porophyllum ruderale*) de diferentes regiones de Querétaro, México y observaron diferencias significativas en el contenido fenólico y capacidad antioxidante según el origen geográfico.

Pacheco-Hernández et al. (2022), evaluaron el potencial nutracéutico de siete especies de quelites recolectados en la Sierra Norte de Puebla, México. Se evaluó el contenido de carotenoides y compuestos fenólicos mediante extracción con etanol (80 %) y hexano:acetona (1:1 v/v). Los resultados presentaron variabilidad significativa entre especies, con altos niveles de compuestos antioxidantes en la especie flor de izote (*Yucca aloifolia*).

Navarro-Cortez et al. (2023), utilizaron un diseño experimental (simplex-centroide) para elaborar mezclas de polvos de quelites (verdolaga y quelite cenizo) obtenidos mediante liofilización. Posteriormente, evaluaron el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante a partir de extractos obtenidos con etanol al 80 % y se analizó el efecto individual y las interacciones entre especies en las mezclas. Los resultados mostraron que, de manera individual tanto verdolaga como quelite cenizo tuvieron mayor contenido de compuestos fenólicos y mayor capacidad antioxidante.

4.1 Oportunidades de mejora

A partir de la revisión de los estudios descritos en la Tabla 2., se observa que la bibliografía enfocada en la optimización de la extracción de compuestos bioactivos mediante tecnologías emergentes es todavía limitada, particularmente en lo referente a estrategias orientadas a reducir el uso de solventes orgánicos. En este contexto, se presenta una amplia oportunidad de investigación, ya que el número de especies de quelites evaluadas hasta ahora es reducido y existe un gran potencial para ampliar el estudio hacia otras especies poco exploradas. El desarrollo de investigaciones que integren tecnologías de extracción avanzadas permitiría no solo mejorar la eficiencia y sostenibilidad de los procesos, sino también fortalecer el posicionamiento de los quelites como ingredientes estratégicos en la formulación de alimentos funcionales y nutracéuticos de origen mexicano.

Tabla 2. Extracción de compuestos de interés a partir de quelites**Table 2.** Extraction of compounds of interest from quelites

Quelite	Compuesto bioactivo	Condiciones de extracción	Conclusiones	Referencia
Verdolaga (<i>Portulaca oleraceae</i> L.)	Flavonoides (Quercetina)	Extracción hidroalcohólica por ultrasonido con etanol, 55 °C por 15 min	Se optimizó el rendimiento de extracción	(Wang et al., 2014)
Quelite cenizo (<i>Chenopodium berlandieri</i> spp. <i>berlandieri</i>)	Fenoles y flavonoides (Quercetina y ramnetina)	Extracción hidroalcohólica (metanol:agua 80:20 v/v) por maceración (16 h, 25 °C, agitación)	El proceso de liofilización conservó mejor los compuestos antioxidantes	(Vargas-Madriz et al., 2023a)
Quintonil (<i>Amaranthus hybridus</i>), quelite cenizo (<i>C. berlandieri</i>) y verdolaga (<i>P. oleraceae</i>)	Clorofilas, carotenoides, fenoles y flavonoides	Extracción hidroalcohólica (etanol 80 % y acetona 80 %)	Se observaron variaciones significativas de compuestos fenólicos y antioxidantes según la especie analizada	(Santiago-Saenz et al., 2018)
Chaya (<i>Cnidoscolus aconitifolius</i>)	Fenoles y flavonoides	Extracción hidroalcohólica de metanol-agua (50:50 y 80:20 v/v) y de etanol-agua (50:50 y 80:20 v/v)	El mejor solvente para extraer fenoles y flavonoides fue el etanol 80:20 v/v. Se identificaron 11 compuestos fenólicos	(Godínez-Santillán et al., 2019)
Papaloquelite (<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass (<i>Asteraceae</i>))	Fenoles y flavonoides	Extracción hidroalcohólica (etanol;agua 80:20 v/v) por maceración	Se observaron variaciones en el contenido de compuestos bioactivos por la zona geográfica de recolección.	(Vargas-Madriz et al., 2023b)

		(16 h, protegido de luz y agitación)	Se identificaron 31 compuestos fenólicos	
Tepeilite (<i>Rhamnus pompana</i>), hierbamora (<i>Solanum nigrescens</i>), flor de izote (<i>Yucca aloifolia</i>), hoja santa (<i>Piper auritum</i>), lengua de vaca (<i>Rumex obtusifolius</i>), quintonil (<i>Amaranthus hybridus</i>) y guías de erizo (<i>Sechium edule</i>)	Carotenoides y fenoles	Extracción hidroalcohólica (etanol 80 %, hexano:acetona 1:1 v/v)	Se observaron diferencias significativas en el contenido de luteína, β -caroteno y β -criptoxantina entre especies. <i>Rumex obtusifolius</i> presentó la mayor concentración de luteína	(Pacheco-Hernández et al., 2022)
Verdolaga (<i>Portulaca oleraceae</i>) y quelite cenizo (<i>Chenopodium album</i>)	Fenoles y flavonoides	Extracción hidroalcohólica (Etanol 80 %)	El contenido de fenoles y flavonoides fue mayor cuando se analizaron individualmente, que cuando se analizaron en mezclas a través de un diseño experimental	(Navarro-Cortez et al., 2023)

5. Aplicaciones de quelites en el desarrollo de alimentos

Los quelites están cobrando relevancia como ingredientes bioactivos debido a su alto valor nutricional y se ha demostrado que pueden mejorar el perfil nutricional de los alimentos. En la Tabla 3 se describen algunas aplicaciones de los quelites en el desarrollo de alimentos, donde todos los productos incluidos fueron sometidos a evaluación sensorial y mostraron una alta aceptabilidad por parte de los consumidores. Los productos de panificación han sido ampliamente estudiados para la incorporación de quelites con la finalidad de mejorar su perfil nutrimental y funcional.

Melilli et al. (2020), evaluaron la adición de harina de verdolaga en diferentes concentraciones (5, 10 y 15 %) a un pan elaborado con harina de trigo y analizaron sus propiedades fisicoquímicas. La incorporación de verdolaga mejoró el perfil nutricional del pan, aumentando el contenido de ácidos grasos esenciales y de compuestos antioxidantes. Se determinó que el 5 % de harina de verdolaga logró mejorar la calidad nutricional y tecnológica del pan como producto final.

Kia et al. (2024), desarrollaron un pan de trigo en el que utilizaron harina de amaranto fermentada suplementada con polvo de verdolaga. Analizaron propiedades reológicas de la masa y características fisicoquímicas del pan. Los resultados mostraron que la incorporación de verdolaga mejoró la actividad antioxidante, la textura y la vida útil del pan al reducir el crecimiento microbiano. La formulación con 25 % de harina fermentada de amaranto y 2.5 % de verdolaga en polvo se destacó por la calidad tecnológica y aceptabilidad sensorial.

Delvarianzadeh et al. (2020), evaluaron la adición de polvo de verdolaga en diferentes concentraciones (2.5, 5, 7.5 y 10 %) sobre las propiedades fisicoquímicas y reológicas de panes de gran volumen. Los resultados mostraron que la adición de verdolaga aumentó el contenido de proteína y fibra y mejoró la actividad antioxidante, además de influir en la absorción de agua y en la estabilidad de la masa. Sensorialmente, los panes con 5 % de verdolaga fueron bien aceptados por lo que se concluyó que niveles bajos de verdolaga mejoran la calidad nutrimental sin afectar negativamente la aceptabilidad.

Tabla 3. Aplicaciones de quelites como ingredientes bioactivos en el desarrollo de alimentos

Table 3. Applications of quelites as bioactive ingredients in food development

Quelite	Producto desarrollado	Conclusiones	Referencia
Verdolaga (<i>Portulaca oleracea</i>)	Pan de trigo fortificado con harina de verdolaga	5 % de harina de verdolaga mejoró la calidad nutricional y tecnológica del pan	(Melilli et al., 2020)
Verdolaga (<i>Portulaca oleracea</i>) y Amaranto (<i>Amaranthus hypochondriacus</i>)	Pan de trigo con masa madre de amaranto fermentado y	Mejores propiedades de textura y mayor vida útil al retrasar	(Kia et al., 2024)

	suplementado con verdolaga	el crecimiento de hongos	
Verdolaga (<i>Portulaca oleracea</i>)	Pan fortificado con polvo de verdolaga	5 % de polvo de verdolaga mejoró la calidad nutrimental del pan	(Delvarianzadeh et al., 2020)
Verdolaga (<i>Portulaca oleracea</i>)	Galleta tipo cracker fortificada con verdolaga	Cambio en las propiedades de color y textura. Aumento en actividad antioxidante y contenido fenólico	(Cankurtaran-Kömürcü and Bilgiçli et al., 2025)
Chaya (<i>Cnidioscolus aconitifolius</i>) y amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i>)	Galleta elaborada con harina de trigo, chaya y amaranto	La incorporación del 10 % de harina de chaya, presentó mayor calidad nutricional	(Ávila-Nava et al., 2022)
Verdolaga (<i>Portulaca oleracea</i>), quintonil (<i>Amaranthus hybridus</i>) y quelite cenizo (<i>Chenopodium berlandieri</i>)	Suplemento alimenticio a base de mezclas de tres polvos de quelites	Alto contenido fenólico, de fibra y proteína	(Santiago-Saénz et al., 2020)
Amaranto (<i>Amaranthus palmeri</i> y <i>Amaranthus powellii</i>), Basiáwari (<i>Arracacia edulis</i>) y Tlatomaxíhuatl (<i>Phacelia platycarpa</i>)	Quelites pasados (Hierbas deshidratadas)	Altos valores de proteína y una alta concentración de micronutrientes.	(Severiano-Pérez et al., 2023)

En los últimos años se ha buscado desarrollar snacks que sean saludables y sustituyan el consumo de alimentos procesados. La harina de verdolaga se ha utilizado para desarrollar galletas tipo cracker donde su adición ha resultado en mejorar el contenido de proteína, minerales y actividad antioxidante (Cankurtaran-Kömürcü y Bilgiçli, 2025). Ávila-Nava et al. (2022), desarrollaron una galleta funcional incorporando harina de chaya y amaranto en diferentes proporciones. Se evaluaron parámetros fisicoquímicos, perfil de ácidos grasos, contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante. Las galletas mostraron mayor contenido de proteína, fibra y antioxidantes. La formulación con 10 % de harina de chaya fue la mejor en calidad nutricional y mayor aceptabilidad sensorial. Particularmente en México se han estudiado diversas especies de quelites en el desarrollo de ingredientes bioactivos en alimentos. Santiago-Saenz et al. (2020), evaluaron mezclas de polvos elaborados con quelites mexicanos con el objetivo de desarrollar un suplemento alimenticio. Se analizó la composición proximal, perfil de aminoácidos, contenido fenólico y capacidad antioxidante.

Las mezclas destacaron por su alto contenido de proteína, fibra dietética y compuestos bioactivos. La combinación de verdolaga con quelite cenizo mostró la mayor actividad antioxidante y se concluyó que fue la mezcla más viable para el desarrollo del producto final. Severiano-Pérez et al. (2023), realizaron un estudio sobre quelites pasados en comunidades rarámuri de la Sierra Tarahumara, Chihuahua. Evaluaron el uso de las especies *Amaranthus palmeri*, *Amaranthus powellii*, *Arracacia edulis* y *Phacelia platycarpa*, las cuales fueron deshidratadas al sol para su conservación. Analizaron su composición nutricional y aceptación sensorial, encontrando altos niveles de proteína y minerales, especialmente en el género de *Amaranthus* y se concluyó que esta práctica tradicional representa una estrategia efectiva para preservar alimentos nutritivos. La evidencia científica demuestra que los quelites no solo mejoran el perfil nutricional de los alimentos, sino que también ofrecen propiedades funcionales que mejoran la calidad tecnológica de los productos y prolongan su vida útil. Esto posiciona a los quelites como ingredientes valiosos para la industria alimentaria, superando su percepción tradicional como simples malezas y abriéndoles paso como recursos funcionales con alto potencial de innovación.

6. Desafíos para el aprovechamiento de los quelites mexicanos

En México, los quelites representan un recurso alimentario con un profundo valor histórico, cultural y nutricional; sin embargo, en la actualidad enfrentan diversas limitaciones que dificultan su aprovechamiento integral (Mateos-Maces et al., 2020). Estos retos, que abarcan dimensiones productivas, sociales, culturales y científicas, se sintetizan en la Fig. 3. Más allá de los factores específicos ilustrados, uno de los principales problemas radica en la falta de integración de los quelites en sistemas productivos formales y en cadenas agroalimentarias estructuradas. La disponibilidad irregular y la corta vida postcosecha dificultan su comercialización a mayor escala, lo que restringe su presencia principalmente a mercados locales y limita su incorporación en sistemas agroindustriales (Manzanero-Medina et al., 2020). Asimismo, la pérdida progresiva del conocimiento tradicional asociado a la identificación, recolección y uso culinario de estas especies representa un riesgo significativo para su continuidad cultural y su aprovechamiento futuro. Este fenómeno, vinculado a procesos de urbanización y cambios en los estilos de vida, contribuye a la disminución del consumo y a la reducción del interés por parte de las nuevas generaciones (Díaz-José et al., 2019; Narváez-Elizondo et al., 2021, Motti, 2022).

Desde el punto de vista científico y tecnológico, persisten limitaciones relacionadas con la escasa caracterización fisicoquímica en una amplia diversidad de especies y la falta de estudios agronómicos que permitan establecer condiciones de cultivo controlado y manejo óptimo. Asimismo, el desarrollo de tecnologías de procesamiento que permitan estabilizar compuestos bioactivos sin comprometer la calidad sensorial aún es limitada, lo que dificulta la generación de ingredientes de valor agregado (Pacheco-Hernández et al., 2022). Otro aspecto crítico es la falta de incorporación de los quelites en estrategias institucionales de nutrición y desarrollo agrícola. La ausencia de políticas públicas específicas reduce la inversión en investigación, infraestructura y modelos de comercialización que podrían fortalecer su integración en sistemas alimentarios sostenibles (Espinoza-Pérez et al., 2024).

En conjunto, los desafíos para el aprovechamiento de los quelites se originan en una combinación de factores bioculturales, socioeconómicos, ambientales y tecnológicos. Superarlos requerirá estrategias integrales que incluyan la recuperación del conocimiento tradicional, el desarrollo de protocolos de cultivo y manejo postcosecha, la educación del consumidor, la creación de cadenas de valor inclusivas

y su incorporación explícita en políticas públicas de nutrición y agricultura. Solo mediante estos aspectos coordinados podrá fortalecerse la presencia de los quelites en los sistemas alimentarios y asegurar su preservación para futuras generaciones.



Figura 3. Mapa conceptual que sintetiza los principales desafíos para el aprovechamiento de los quelites en México

Figure 3. Conceptual map summarizing the main challenges for the utilization of quelites in Mexico

7. Conclusiones

Los quelites mexicanos poseen una larga historia de consumo tradicional; sin embargo, su aprovechamiento actual sigue siendo limitado y desigual entre regiones del país, especialmente en el norte de México, donde la información disponible aún es escasa. Aunque se ha documentado la presencia de compuestos bioactivos con potencial nutracéutico, la investigación se concentra en pocas especies estudiadas a profundidad, lo que evidencia la necesidad de ampliar el conocimiento sobre especies locales y evaluar la influencia de factores como el origen, la madurez y el manejo postcosecha sobre su composición. Asimismo, persiste una escasez de estudios clínicos en humanos, particularmente aquellos relacionados con la microbiota intestinal, lo que limita la validación de sus beneficios funcionales. Desde el punto de vista tecnológico, aún es limitado el uso de tecnologías verdes de extracción y la optimización de procesos de secado que permitan preservar la funcionalidad de los compuestos bioactivos. Además, se identifican vacíos en el desarrollo de modelos de cadena de valor y en la implementación de políticas públicas específicas que favorezcan su producción y consumo. En este contexto, se proponen como líneas prioritarias de investigación el desarrollo de ensayos clínicos con mezclas de quelites, la optimización de procesos de secado y extracción con bajo uso de solventes, y el diseño de alimentos funcionales orientados a la salud, lo que permitirá fortalecer su integración en sistemas alimentarios sostenibles.

Agradecimiento

La autora Azucena Rodríguez-Mena agradece a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca otorgada (No. 884709) para su estancia posdoctoral en el Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Durango.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no tienen conflictos de interés financieros ni relaciones personales conocidas que pudieran haber influido en el trabajo reportado en este artículo.

8. Referencias

- Abdel-Ghani, A., Hassan, H., & Elshazly, A. M. (2013). Phytochemical and biological study of *Malva parviflora* L. grown in Egypt. *Zagazig Journal of Pharmaceutical Sciences* 22 (1): 17-25. <https://doi.org/10.21608/zips.2013.160697>
- Abraham, E. J., Custer, K., Jordan, R. T., & Kellogg J. J. (2025). Bioactive compound identification without fractionation: an *Ocimum* spp. case study. *Metabolomics* 21 (6): 166. <https://doi.org/10.1007/s11306-025-02369-2>
- Anwar, M. A., El Gedaily, R. A., Salama, A., Aboulthana, W. M., Kandil, Z. A., & Abdel-Dayem, S. I. (2025). Phytochemical analysis and wound healing properties of *Malva parviflora* L. ethanolic extract. *Journal of Ethnopharmacology* 337 (Part 3): 118983. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118983>
- Avila-Nava, A., Alarcón-Telésforo, S. L., Talamantes-Gómez, J. M., Corona, L., Gutiérrez-Solis, A. L., Lugo, R., & Márquez-Mota, C. C. (2022). Development of a Functional Cookie Formulated with Chaya (*Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) IM Johnst) and Amaranth (*Amaranthus cruentus*). *Molecules* 27 (21): 7397. <https://doi.org/10.3390/molecules27217397>
- Bachhar, V., Joshi, V., Gangal, A., Duseja, M., & Shukla, R. K. (2024a). Identification of bioactive phytoconstituents, nutritional composition and antioxidant activity of *Calyptocarpus vialis*. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 196 (4): 1921-1947. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04640-5>
- Bachhar, V., Joshi, V., Shekher Mishra, S., Shukla, R. K., Bhargava, S., & Duseja, M. (2024b). In-Vitro Antimicrobial, Antidiabetic and Anticancer Activities of *Calyptocarpus Vialis* Extract and Its Integration With Computational Studies. *ChemistrySelect* 9 (35): e202401414. <https://doi.org/10.1002/slct.202401414>
- Balcázar-Quñones, A., White-Olascoaga, L., Chávez-Mejía, C., & Zepeda-Gómez, C. (2020). Los quelites: riqueza de especies y conocimiento tradicional en la comunidad otomí de San Pedro Arriba, Temoaya, Estado de México. *Polibotánica*, 49(25): 219-242. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.49.14>
- Barrera Osorio, J. D. (2023). Actividad hipoglucemiante y capacidad renoprotectora del extracto hidroalcohólico de hojas de Cucurbita pepo Linnaeus en ratones diabetizados. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. *Tesis de licenciatura CONAHICYT*. <http://riaa.uaem.mx/handle/20.500.12055/3998>

- Bazylko, A., Borzym, J., & Parzonko, A. (2015). Determination of in vitro antioxidant and UV-protecting activity of aqueous and ethanolic extracts from *Galinsoga parviflora* and *Galinsoga quadriradiata* herb. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 149: 189-195. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.06.010>
- Bye Boettler, R. A., Mazari, E. L., & Cavazos, M. L. (2026). Quelites de la cuenca de México y regiones adyacentes: su diversidad, distribución geográfica, procedencia, formas de consumo y preparaciones. *Etnobiología* 22 (3): 150-174. <https://www.revistaetnobiologia.mx/index.php/etno/article/view/622>
- Calva-Cruz, O. D. J., Ovando-Vázquez, C., De León-Rodríguez, A., Veana, F., Espitia-Rangel, E., Treviño, S., & Barba-de la Rosa, A. P. (2023). Dietary supplementation with popped amaranth modulates the gut microbiota in low height-for-age children: A nonrandomized pilot trial. *Foods* 12 (14): 2760. <https://doi.org/10.3390/foods12142760>
- Campos Herrera, A., Valenzuela Zamudio, F., & Segura Campos, M. R. (2024). Therapeutic Effects of Amaranth: Analysis of the Antidiabetic Potential of the Plant. *Journal of Medicinal Food* 27 (4): 279-286. <https://doi.org/10.1089/jmf.2022.0159>
- Cankurtaran-Kömürcü, T., & Bilgiçli, N. (2025). Incorporation of Different Purslane Parts Into Crackers: Impacts on Nutritional Composition, Antioxidant Activity, and Bioaccessibility. *Journal of Food Science* 90 (10): e70557. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.70557>
- Cantú-López, K., Vera-Guzmán, A. M., Ortiz-Torres, E., Chávez-Servia, J. L., López, P. A., & Argumedo-Macías, A. (2022). Phenolic compounds and antioxidant activity in leaves of three amaranth species as effect of cultivation location and fertilization. *Interciencia* 47 (12): 558-567. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8731185>
- Delvarianzadeh, M., Nouri, L., Nafchi, A. M., & Ebrahimi, H. (2020). Physicochemical, rheological, and sensory evaluation of voluminous breads enriched by purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Italian Journal of Food Science* 32 (4): 815-830. <https://doi.org/10.14674/IJFS.1923>
- Díaz-José, J., Guevara-Hernández, F., Morales-Ríos, V., & López-Ayala, J. L. (2019). Traditional knowledge of edible wild plants used by indigenous communities in Zongolica, Mexico. *Ecology of Food and Nutrition* 58 (5): 511-526. <https://doi.org/10.1080/03670244.2019.1604340>
- Ebel, R., Menalled, F. D., Morales Payán, J. P., Baldinelli, G. M., Berríos Ortiz, L., & Castillo Cocom, J. A. (2024). Quelites—Agrobiodiversity beyond our crops. *Elementa Sci Anth* 12 (1): 00141. <https://doi.org/10.1525/elementa.2022.00141>
- Espinoza-Pérez, J., Cortina-Villar, S., Perales, H., Méndez-Flores, O. G., & Soto-Pinto, L. (2024). Edible plants as a complement to the diet of peasant farmers: a case study of the Totonacapan region of Puebla, Mexico. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 8: 1329532. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2024.1329532>
- Etukudo, E. M., Usman, I. M., Oviosun, A., Ojiakor, V. O., Jama, I. A., Makena, W., Makeri, D., Owembabazi, E., Aja, P. M., Ifie, J., Fasogbon, I.V., Archibong, V.B., & Anyanwu, E. (2025). Exploring the Phytochemical Profile, Antioxidant and Anti-Inflammatory Potential of *Bidens pilosa*: A Systematic Review. *Frontiers in Pharmacology* 16: 1569527. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1569527>
- Félix Rábago, A., & Hernández Moreno, M. D. C. (2024). Modelo teórico de análisis para la estigmatización social de los quelites. *Revista mexicana de sociología* 86 (4): 871-903. <https://doi.org/10.22201/iis.01882503p.2024.4.62665>
- García, A. K., Vargas Madriz, Á. F., Mendoza Juárez, A. W., Roldán Padrón, O., & Chávez Servín J. L. (2021). Efecto térmico del blanqueado culinario en el perfil fenólico de ocho diferentes quelites presentes en la dieta tradicional mexicana. *Digital ciencia@uaqro*, 14 (1):80-94. <https://revistas.uaq.mx/index.php/ciencia/article/view/115>

- García, H. S., Santiago-López, L., González-Córdova, A. F., Vallejo-Cordoba, B., & Hernández-Mendoza, A. (2022). Evaluation of a pseudocereal suitability to prepare a functional fermented beverage with epiphytic lactic acid bacteria of Huauzontle (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*). *LWT* 155: 112913. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112913>
- Ghorani, V., Saadat, S., Khazdair, M. R., Gholamnezhad, Z., El-Seedi, H., & Boskabady, M. H. (2023). Phytochemical characteristics and anti-inflammatory, Immunoregulatory, and antioxidant effects of *Portulaca oleracea* L.: A comprehensive review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2023. (1): 2075444. <https://doi.org/10.1155/2023/2075444>
- Godínez-Santillán, R. I., Chávez-Servín, J. L., García-Gasca, T., & Guzmán-Maldonado, S. H. (2019). Phenolic characterization and antioxidant capacity of alcoholic extracts from raw and boiled leaves of *Cnidioscolus aconitifolius* (Euphorbiaceae). *Acta Botánica Mexicana*, 126. <https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1493>
- González-Elizondo, M., Ávila-González, H., Piedra Leandro, N. L., Castro Castro, A., González-Elizondo, M. S., & Luna Vargas, U. (2024). Quelites del Gran Nayar, un acercamiento. *Etnobiología* 22 (3): 24-45. <https://www.revistaetnobiologia.mx/index.php/etno/article/view/597>
- Gupta, K., Kumar, A., Tomer, V., Kumar, V., & Saini, M. (2019). Potential of *Colocasia* leaves in human nutrition: Review on nutritional and phytochemical properties. *Journal of food biochemistry* 43 (7): e12878. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12878>
- Idris, O. A., Wintola, O. A., & Afolayan, A. J. (2017). Phytochemical and antioxidant activities of *Rumex crispus* L. in treatment of gastrointestinal helminths in Eastern Cape Province, South Africa. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine* 7 (12): 1071-1078. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.10.008>
- Khatun, A., Imam, M. Z., & Rana, M. S. (2015). Antinociceptive effect of methanol extract of leaves of *Persicaria hydropiper* in mice. *BMC complementary and alternative medicine* 15 (1): 63. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0558-y>
- Kia, P. S., Sadeghi, A., Kashaninejad, M., Zarali, M., & Khomeiri M. (2024). Application of controlled fermented amaranth supplemented with purslane (*Portulaca oleracea*) powder to improve technological functionalities of wheat bread. *Applied Food Research* 4 (1): 100395. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2024.100395>
- Kongdang, P., Dukaew, N., Pruksakorn, D., & Koonrungsomboon, N. (2021). Biochemistry of *Amaranthus* polyphenols and their potential benefits on gut ecosystem: A comprehensive review of the literature. *Journal of Ethnopharmacology* 281: 114547. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114547>
- Li, H., Zhang, J., Li, H., Li, X., Zhang, P., Guo, X., Lin, J., Liao, K., & Ke, L. (2025a). Effect of *Portulaca oleracea* Addition in Health Care Sand on Apparent Nutrient Digestibility, Serum Parameters, and Excreta Microbiota Metabolism in Tumbler Pigeons. *Animals* 15 (22): 3349. <https://doi.org/10.3390/ani15223349>
- Li, Q., Dong, D. D., Huang, Q. P., Li, J., Du, Y. Y., Li, B., Li, H. Q., & Huan, T. (2017). The anti-inflammatory effect of *Sonchus oleraceus* aqueous extract on lipopolysaccharide stimulated RAW 264.7 cells and mice. *Pharmaceutical biology* 55 (1): 799-809. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1280514>
- Li, Z., Chu, T., Sun, X., Zhuang, S., Hou, D., Zhang, Z., Sun, J., Liu, Y., Li, J., & Bian, Y. (2025b). Polyphenols-rich *Portulaca oleracea* L.(purslane) alleviates ulcerative colitis through restoring the intestinal barrier, gut microbiota and metabolites. *Food Chemistry* 468: 142391. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.142391>

- Linares, E., Bye, R., Ortega, N., & Eloy Arce, A. (2017). Quelites: sabores y saberes del sureste del Estado de México. Universidad Nacional Autónoma de México. ISBN 978-607-30-1666-7. <http://www.ibiologia.unam.mx/barra/publicaciones/Recetario%20final-3.pdf>
- Maluwa, C., Zinan'dala, B., Chuljerm, H., Parklak, W., & Kulprachakarn, K. (2025). Watercress (*Nasturtium officinale*) as a Functional Food for Non-Communicable Diseases Prevention and Management: A Narrative Review. *Life* 15 (7): 1104. <https://doi.org/10.3390/life15071104>
- Manzanero-Medina, G. I., Vásquez-Dávila, M. A., Lustre-Sánchez, H., & Pérez-Herrera, A. (2020). Ethnobotany of food plants (quelites) sold in two traditional markets of Oaxaca, Mexico. *South African Journal of Botany* 130: 215-223. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.01.002>
- Mapes, C., & Basurto, F. (2016). Biodiversity and edible plants of Mexico. In: Lira, R., Casas, A., Blancas, J. (eds). *Ethnobotany of Mexico: Interactions of people and plants in Mesoamerica* (pp. 83-131). Springer New York. NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6669-7_5
- McClung de Tapia, E., Martínez Yrizar, D., Ibarra Morales, E., & Adriano Morán, C. C. (2014). los orígenes prehispánicos de una tradición alimentaria en la cuenca de México. *Anales de Antropología*, 48(1): 97-121. [https://doi.org/10.1016/S0185-1225\(14\)70491-6](https://doi.org/10.1016/S0185-1225(14)70491-6)
- Mateos-Maces, L., Chávez-Servia, J. L., Vera-Guzmán, A. M., Aquino-Bolaños, E. N., Alba-Jiménez, J. E., & Villagómez-González, B. B. (2020). Edible leafy plants from Mexico as sources of antioxidant compounds, and their nutritional, nutraceutical and antimicrobial potential: A review. *Antioxidants* 9 (6): 541. <https://doi.org/10.3390/antiox9060541>
- Melilli, M. G., Di Stefano, V., Sciacca, F., Pagliaro, A., Bognanni, R., Scandurra, S., Virzi, N., Gentile, C. & Palumbo, M. (2020). Improvement of fatty acid profile in durum wheat breads supplemented with *Portulaca oleracea* L. quality traits of purslane-fortified bread. *Foods* 9 (6): 764. <https://doi.org/10.3390/foods9060764>
- Mera-Ovando, L. M., Alvarado-Flores, R., Basurto-Peña, F., Bye-Boettler, R., Castro-Lara, D., Evangelista, V., Mapes-Sánchez, C., Martínez-Alfaro, M. Á., Molina N., & Saldívar, J. (2003). "De quelites me como un taco". Experiencia en educación nutricional. *Revista del Jardín Botánico Nacional* 24: 45-49.
- Miao, L., Cheong, M. S., Zhang, H., Khan, H., Tao, H., Wang, Y., & Cheang, W. S. (2025). *Portulaca oleracea* L.(purslane) extract ameliorates intestinal inflammation in diet-induced obese mice by inhibiting the TLR4/NF-κB signaling pathway. *Frontiers in Pharmacology* 15: 1474989. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1474989>
- Monreal-García, H. M., Almaraz Abarca, N., Ávila-Reyes, J. A., Torres-Ricario, R., Delgado-Alvarado, E. A., Gutiérrez-Velázquez, M. V., González-Trillo, A. C., & Vasavilbazo-Saucedo, A. (2024). Riqueza y distribución de quelites de Durango, México: un análisis basado en datos del GBIF. *Biotechnia* 26: e2379. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v26.2379>
- Motti, R. (2022). Wild edible plants: a challenge for future diet and health. *Plants* 11 (3): 344. <https://doi.org/10.3390/plants11030344>
- Narváez-Elizondo, R. E., González-Elizondo, M., Castro-Castro, A., González-Elizondo, M. S., Tena-Flores, J. A., & Chairez-Hernández, I. (2021). Comparison of traditional knowledge about edible plants among young Southern Tepehuans of Durango, Mexico. *Botanical Sciences* 99 (4): 834-849. <https://doi.org/10.17129/botsci.2792>
- Naser, E. H., Mahdi, L. S., & Alasadi, R. T. (2022). Phytochemical constituents and pharmacological activity of *Malva parviflora* plant: A review. *Sci. J. Med. Res* 6 (23): 35-44.
- Navarro-Cortez, R. O., Santiago-Saenz, Y. O., López-Palestina, C. U., Gutiérrez-Tlahque, J., & Piloni-Martini, J. (2023). Application of a Simplex–Centroid Mixture Design to Evaluate the Phenolic Compound Content and Antioxidant Potential of Plants Grown in Mexico. *Foods* 12 (18): 3479. <https://doi.org/10.3390/foods12183479>

- Nkobole, N., Bodede, O., Hussein A. A., & Prinsloo, G. (2021). In vitro α -glucosidase and α -amylase activities of wild and cultivated *Amaranthus* spp. and isolated compounds. *Pharmacognosy Journal*, 13 (6s): 1614-1620. <http://dx.doi.org/10.5530/pj.2021.13.208>
- Noguera-Savelli, E. (2024). Quelites en Santo Domingo Kesté, Campeche: Del campo a la mesa. Desde el Herbario CICY, 16, 52–56. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2024/2024-03-14-ENoguera-Quelites-en-Santo-Domingo-Keste.pdf
- Novitasari, A., Rohmawaty, E., & Rosdianto, A. M. (2024). *Physalis angulata* Linn. as a medicinal plant (Review). *Biomedical Reports* 20 (3): 47. <https://doi.org/10.3892/br.2024.1735>
- Pacheco-Hernández, Y., Lozoya-Gloria, E., Becerra-Martínez, E., & Villa-Ruano, N. (2022). Nutraceutical potential of seven “Quelites” harvested in the northern highlands of Puebla-México. *Horticulturae*, 9 (1): 18. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9010018>
- Park, S. J., Sharma, A., & Lee, H. J. (2020). A review of recent studies on the antioxidant activities of a third-millennium food: *Amaranthus* spp. *Antioxidants*, 9(12), 1236. <https://doi.org/10.3390/antiox9121236>
- Pascual-Mendoza, S., Saynes-Vásquez, A., Pérez-Herrera, A., Meneses, M. E., Coutiño-Hernández, D., & Sánchez-Medina, M. A. (2023). Nutritional composition and bioactive compounds of quelites consumed by indigenous communities in the municipality of Juquila Vijanos, Sierra Norte of Oaxaca, Mexico. *Plant Foods for Human Nutrition* 78 (1): 193-200. <https://doi.org/10.1007/s11130-022-01039-1>
- Perez-Gutierrez, R. M. (2016). Review of *Cucurbita pepo* (Pumpkin) its phytochemistry and pharmacology. *Medicinal Chemistry*, 6(1), 12–21. <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000316>
- Pertiwi, R., Wilar, G., Sumiwi, S. A., & Levita J. (2025). *Colocasia Esculenta* as a Potential Plant-Based Medicine: A Review on Its Bioactive Constituents and Pharmacological Activities. *Journal of Experimental Pharmacology* 17: 755-803. <https://doi.org/10.2147/JEP.S5501133>
- Qian, H., Jia, Y., Zheng, K., Li, C., Shao, J., Wang, J., Xu, H., & Zhou, X. (2024). *Rumex crispus* L.: A comprehensive review on botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and safety. *International Immunopharmacology*, 143 (Part 3): 113569. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.113569>
- Sabbione, A. C., Bengoa, A. A., Garrote, G. L., Scilingo, A., Añon, M. C., & Abraham, A. G. (2024). Amaranth fiber acts as fermentable substrate for children's fecal microbiota. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 32: 100447. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2024.100447>
- Said, W., Khattab, A. A., Hamed, S. A., Abo-Elmaaty, S. A., & Khalil, H. (2024). Identification of Bioactive and Anticancer Properties of *Bidens Pilosa* in-vitro Evidence. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 25 (10): 3551-2558. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2024.25.10.3551>
- Santiago-Saenz, Y. O., Hernández-Fuentes, A. D., López-Palestina, C. U., Garrido-Cauich, J. H., Alatorre-Cruz, J. M., & Monroy-Torres, R. (2019a). Importancia nutricional y actividad biológica de los compuestos bioactivos de quelites consumidos en México. *Revista chilena de nutrición* 46 (5): 593-605. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182019000500593>
- Santiago-Saenz, Y. O., Hernández-Fuentes, A. D., Monroy-Torres, R., Cariño-Cortés, R., & Jiménez-Alvarado, R. (2018). Physicochemical, nutritional and antioxidant characterization of three vegetables (*Amaranthus hybridus* L., *Chenopodium berlandieri* L., *Portulaca oleracea* L.) as potential sources of phytochemicals and bioactive compounds. *Journal of Food Measurement and Characterization* 12 (4): 2855-2864. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9900-7>
- Santiago-Saenz, Y. O., López-Palestina, C. U., Gutierrez-Tlahque, J., Monroy-Torres, R., Pinedo-Espinoza, J. M., & Hernández-Fuentes, A. D. (2020). Nutritional and functional evaluation of

- three powder mixtures based on mexican quelites: alternative ingredients to formulate food supplements. *Food Science and Technology*, 40(4): 1029-1037. <https://doi.org/10.1590/fst.28419>
- Santiago-Saenz, Y. O., Monroy-Torres, R., Rocha-Amador, D. O., & Hernández-Fuentes, A. D. (2019b). Effect of a supplementation with two Quelites on urinary excretion of arsenic in adolescents exposed to water contaminated with the metalloid in a community in the state of Guanajuato, Mexico. *Nutrients* 12 (1): 98. <https://doi.org/10.3390/nu12010098>
- Sarker, U., Rabbani, M. G., Oba, S., Eldehna, W. M., Al-Rashood, S. T., Mostafa, N. M., & Eldahshan, O. A. (2022). Phytonutrients, colorant pigments, phytochemicals, and antioxidant potential of orphan leafy Amaranthus species. *Molecules* 27 (9): 2899. <https://doi.org/10.3390/molecules27092899>
- Seimandi, G., Álvarez, N., Stegmayer, M. I., Fernández, L., Ruiz, V., Favaro, M. A., & Derita, M. (2021). An update on phytochemicals and pharmacological activities of the genus Persicaria and Polygonum. *Molecules* 26 (19): 5956. <https://doi.org/10.3390/molecules26195956>
- Severiano-Pérez, P., Cristians, S., Bye, R., Lucas-Florentino, B., Ramírez-Orejuel, J. C., Linares, E., Mera-Ovando, L. M., Castro-Lara, D., Enríquez-Maldonado, D., Rodríguez-Servín, J., González-Pedroza, M. G., Escalante-Martínez, V., Palma-Pérez Del Valle, J. E., Mendoza-Cruz, M., & Névarez-Duran, A., Silvestre-Lara, P. (2023). Quelites pasados of the Sierra Tarahumara, Chihuahua, Mexico: an interdisciplinary ethnobotanical study of leafy green vegetables. *Economic Botany* 77 (4): 433-454. <https://doi.org/10.1007/s12231-023-09586-7>
- Shahrajabian, M. H., Sun, W., & Cheng, Q. (2020). Chemical components and pharmacological benefits of Basil (*Ocimum basilicum*): A review. *International journal of food properties* 23 (1): 1961-1970. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1828456>
- Silva, R., & Carvalho, I. S. (2014). In vitro antioxidant activity, phenolic compounds and protective effect against DNA damage provided by leaves, stems and flowers of *Portulaca oleracea* (Purslane). *Natural product communications* 9 (1). <https://doi.org/10.1177/1934578X1400900115>
- Studzińska-Sroka, E., Dudek-Makuch, M., Chanaj-Kaczmarek, J., Czepulis, N., Korybalska, K., Rutkowski, R., Luczak, J., Grabowska, K., Bylka, W. & Witowski, J. (2018). Anti-inflammatory Activity and Phytochemical Profile of *Galinsoga parviflora* Cav. *Molecules* 23 (9): 2133. <https://doi.org/10.3390/molecules23092133>
- Vargas-Madriz, Á. F., Kuri-García, A., Luzardo-Ocampo, I., Vargas-Madriz, H., Pérez-Ramírez, I. F., Anaya-Loyola, M. A., Ferriz-Martínez, R. A., Roldán-Padrón, O., Hernández-Sandoval, L., & ... Chávez-Servín, J. L. (2023a). Impact of drying process on the phenolic profile and antioxidant capacity of raw and boiled leaves and inflorescences of *Chenopodium berlandieri* ssp. *berlandieri*. *Molecules* 28 (20): 7235. <https://doi.org/10.3390/molecules28207235>
- Vargas-Madriz, Á. F., Luzardo-Ocampo, I., Chávez-Servín, J. L., Moreno-Celis, U., Roldán-Padrón, O., Vargas-Madriz, H., Vergara-Castañeda, H. A., & Kuri-García, A. (2023b). Comparison of Phenolic compounds and evaluation of antioxidant properties of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass (Asteraceae) from different geographical areas of Queretaro (Mexico). *Plants* 12 (20): 3569. <https://doi.org/10.3390/plants12203569>
- Vecchia, C. A., Locateli, G., Serpa, P. Z., Bianchin Gomes, D., Ernetti, J., Miorando, D., Zanatta, M. E., Silva-Nunes, R. K., Wildner, S. M., Gutiérrez, M. V., Vilegas, W., Somensi, L. B., Silva, L. M., & Roman, J. W. A. (2022). *Sonchus oleraceus* L. promotes gastroprotection in rodents via antioxidant, anti-inflammatory, and antisecretory activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2022 (1): 7413231. <https://doi.org/10.1155/2022/7413231>
- Viesca-González, F. C., Alvarado-Carrillo, D. D. J., & Quintero-Salazar, B. (2022). Los quelites en la ciudad de Toluca, México: su recolección, comercialización y consumo. *Estudios sociales*.

- Revista de alimentación contemporánea y desarrollo regional* 32 (59).
<https://doi.org/10.24836/es.v32i59.1158>
- Waititu, K., Mugo, C., Nyawira, D., & Mwethera, P. (2024). Antidiabetic Properties of *Bidens pilosa* and Its Polyacetylenic Compounds for Management of Diabetes: Systematic Review. *Journal of Biosciences and Medicines* 12 (2): 164-179. <https://doi.org/10.4236/jbm.2024.122013>
- Wang, C., Li, Y., Yao, L., Wu, G., Chang, J., Shu, C., & Chen M. (2014). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of flavonoid from *Portulaca oleracea* L. by response surface methodology and chemical composition analysis. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry* 57 (5): 647-653. <https://doi.org/10.1007/s13765-014-4058-4>
- Xuan, T. D., & Khanh, T. D. (2016). Chemistry and pharmacology of *Bidens pilosa*: an overview. *Journal of pharmaceutical investigation* 46 (2): 91-132. <https://doi.org/10.1007/s40005-016-0231-6>
- Yadav, G., Yadav, V., Patel, A., Das, S., Goyal, M., Satpathy, S., & Patra, A. (2024). Comprehensive review on traditional uses, phytochemistry, pharmacological properties and metal nanoparticles of a leafy vegetable, *Medicago polymorpha*. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports* 11: 100164. <https://doi.org/10.1016/j.ejmcr.2024.100164>
- Yazdanparast, R., Bahramikia, S., & Ardestani, A. (2008). *Nasturtium officinale* reduces oxidative stress and enhances antioxidant capacity in hypercholesterolaemic rats. *Chemico-Biological Interactions*, 172(3), 176-184. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.01.006>

2026 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Bioactive compound production via solid-state fermentation: emerging opportunities

Producción de compuestos bioactivos mediante fermentación en estado sólido: oportunidades emergentes

Luisa Marcela Valdés-Velasco^{1,2}, Quentin Carboué¹, Ernesto Favela-Torres³, Sergio Huerta-Ochoa³, Itza Nallely Cordero-Soto^{4*}

¹ Agro-Biotechnologies Industrielles (ABI), CEBB, AgroParisTech, 3 Rue des Rouges-Terres, 51110, Pomacle, France

² Fundación de Estudios Superiores Monseñor Abraham Escudero Montoya FUNDES, Carrera 7 N° 10-37 Barrio Centro, 733520, Espinal, Colombia

³ Universidad Autonoma Metropolitana, Department of Biotechnology, Iztapalapa Unit, 186 San Rafael Atlixco Avenue, Colonia Vicentina, 09340, Mexico City, Mexico

⁴ Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Durango, Departamento de Ingenierías Química-Bioquímica, Laboratorio Nacional CONAHCYT de Evaluación de Productos Bióticos (LaNAEPBi), Boulevard Felipe Pescador 1830 Oriente. Colonia Nueva Vizcaya, 34180, Durango, México.

* Correspondence Author: e-mail: itza.cordero@itdurango.edu.mx (Itza Nallely Cordero Soto)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v20i1.2152>

Received: November 14, 2025; Accepted: February 19, 2026

Published by the Autonomous University of Chihuahua, through the Research and Postgraduate Department.

Section Editor: Dr. Armando Quintero-Ramos

Abstract

The natural environment is an extraordinary reservoir of microorganisms that generate compounds with significant pharmaceutical relevance. Over the past decades, numerous companies have successfully exploited these microorganisms, primarily through submerged fermentation, to obtain antibiotics, enzymes, and other bioactive molecules. However, submerged fermentation sometimes presents limitations regarding oxygen transfer, production yields, compound stability, foaming, and environmental impact. Solid-state fermentation is a more sustainable alternative technology because it can valorize agro-industrial byproducts as culture media and produce bioactive compounds, contributing to a circular bioeconomy. The pharmaceutical industry is seeking solutions to decrease the costs of production processes and enhance process sustainability, and solid-state fermentation

may provide exciting alternatives. However, challenges remain in scaling up, process control, and optimizing the recovery of bioactive compounds. This review highlights advances in bioactive compounds with potential pharmaceutical applications produced through solid-state fermentation, with particular emphasis on different classes, including antibiotics, biosurfactants, enzymes, polymers, vitamins, and aroma compounds. By addressing current limitations and showcasing innovative applications, solid-state fermentation is positioned as a viable complementary strategy for pharmaceutical bioprocesses.

Keywords: pharmaceutical industry, biological activity, byproducts, valorization, microbial compounds.

Resumen

El entorno natural constituye una valiosa fuente de microorganismos capaces de producir compuestos de gran relevancia farmacéutica. Durante las últimas décadas, numerosas empresas han aprovechado estos microorganismos, principalmente mediante fermentación sumergida, para obtener antibióticos, enzimas y otras moléculas bioactivas. Sin embargo, este sistema de fermentación presenta limitaciones asociadas a la transferencia de oxígeno, los bajos rendimientos de producción para algunos compuestos y su estabilidad, la formación de espuma durante el proceso y su impacto ambiental. En este contexto, la fermentación en estado sólido surge como una alternativa más sostenible, ya que permite valorizar subproductos agroindustriales como sustratos y producir compuestos bioactivos, favoreciendo así el desarrollo de una bioeconomía circular. Dado que la industria farmacéutica busca reducir los costos y aumentar la sostenibilidad de sus procesos, esta tecnología ofrece oportunidades prometedoras. No obstante, aún existen desafíos importantes en cuanto a la escalabilidad, el control del proceso y la optimización de la recuperación de los compuestos producidos. Esta revisión presenta los avances importantes en la obtención de compuestos bioactivos con potencial aplicación farmacéutica mediante fermentación en estado sólido, con especial atención a diversas clases de productos, como antibióticos, biosurfactantes, enzimas, polímeros, vitaminas y compuestos aromáticos. Al analizar las limitaciones actuales y destacar aplicaciones emergentes, se posiciona a la fermentación en estado sólido como una estrategia complementaria y viable para el desarrollo de bioprocesos farmacéuticos más sostenibles.

Palabras clave: industria farmacéutica, actividad biológica, subproductos, valorización, compuestos microbianos.

1. Introduction

Over the centuries, pharmaceuticals have provided many health benefits and improved the quality of human life. They consist of a large and varied group of organic compounds used for their specific biological effects. They penetrate cellular membranes, have a specific mode of action, and can persist in the body. Many pharmaceuticals, such as analgesics, antibiotics, antiepileptics, β -blockers, blood-lipid regulators, antidepressants, anxiolytics, sedatives, contraceptives, steroidal hormones, antineoplastics, and antitumor agents, have been produced and sold worldwide (Salehi & Rashidinejad et al., 2025). The pharmaceutical sector is one of the fastest-growing industries, with a global market worth over a trillion USD (Brekke et al., 2025).

Biotechnology has improved the production of biological pharmaceuticals in the market, such as monoclonal antibodies (e.g., trastuzumab deruxtecan), cytokines, fusion proteins, therapeutic enzymes, recombinant vaccines, blood factors, hormones, and growth factors (Inoue et al., 2020). The above statement can be associated with products that show advantages over synthetic drugs, such as better selectivity, lower toxicity, milder side effects, and being more environmentally friendly (Inoue et al., 2020). Generally, the microbial bioactive compounds are produced by submerged fermentation (SmF), such as steroids (prednisolone, 11- α -hydroxy-progesterone), intermediate compounds (citric acid, fumaric acid), antibiotics (penicillin, cephalosporin, cordycepin), antifungals (polynes), antivirals (Shikimic acid (precursor of oseltamivir), and antiparasitic (ivermectins) (Ma et al., 2023). Many studies have highlighted higher yields of bioactive production when solid-state fermentation (SSF) is involved (Kumar et al., 2021), which can be attributed to more significant biomass growth and oxygen availability. For instance, the commercial production of statins and related substances prefers SSF because of its low media cost, product stability, increased product yield, and increased porosity (Valdés-Velasco et al., 2022).

The trends in scientific research papers and patent documents on solid-state fermentation in pharmaceutical applications are as follows. Research papers were searched in the Scopus® database (www.scopus.com) containing the words (solid AND state AND fermentation AND pharmaceutical or health or pharmacy or medical) in the title, abstract, or keywords, from 2014 to present, resulting in 772 documents. A huge linear increasing trend was observed for the number of papers. The increase was about 75 %. Patent documents were searched in the Lens database (www.lens.org) containing the words (solid AND state AND fermentation AND pharmaceutical) in the keyword or patent field from 2014 to 2024. Around 39851 patent records were found. Therefore, there has been growing interest in this topic over the last 10 years.

This review focuses on bioactive compounds obtained through a specific fermentation technique, SSF, which has shown higher product yields using low-cost substrates than submerged fermentation does. The generalities, benefits, and challenges of the SSF are described in Section 2. Bioactive compounds, including antibiotics, aromas, biosurfactants, polymers, enzymes and vitamins, and their related SSF production are presented in Section 3. Finally, Section 4 presents the conclusions and perspectives of this review.

2. Benefits and challenges of solid-state fermentation

SSF is a microbial culture technique involving the growth of microorganisms on a solid medium in the absence or near absence of free water runoff (Cordero Soto et al., 2025). Water plays an essential role in biological processes, and is absorbed into solid surfaces, where it can be present in the form of a thin film (Valdés-Velasco et al., 2022). Fermentation of solid materials is an ancient technology that has been used since antiquity to produce food. It is widely used in East Asian countries to prepare food on an industrial scale. In contrast, SmF is the preferred for the industrial production of microbial value-added compounds in the West (Cordero Soto et al., 2025). The main reason for this is the heterogeneous nature of the solid medium, which impedes the efficient monitoring of the process, such as temperature, pH, moisture, and substrate concentration, whereas SmF has precise online monitoring devices.

SSF holds tremendous potential for producing microbial compounds compared to SmF. The main advantage of SSF is the possibility of using agro-industrial byproducts as a solid medium. These byproducts are massively overproduced worldwide and still contain an exciting level of nutrients that enable microbial growth (Chilakamarry et al., 2022; Tripathi et al., 2024). The valorization of these wastes through SSF increases the sustainability of the process. From an economic perspective, their use lowers global costs because they are inexpensive, whereas synthetic carbon and nitrogen sources account for a substantial part of the worldwide cost (Costa et al., 2021). Regarding the environmental aspect, this valorization mitigates the negative impact on the environment that may otherwise result from improper waste management, especially in the case of byproducts containing toxic compounds (Mahanta et al., 2008). Finally, this aligns with increasing public expectations regarding the natural origin of products, whether related to the health, cosmetics, or food industries (Cordero Soto et al., 2025).

Regarding raw materials, the requirement for SSF is usually lower, leading to a cheaper initial investment. In addition, low water content usually causes the SSF bioprocesses to have lower surface area occupation and does not require downstream effluent treatment, which impacts the overall cost (Valdés-Velasco et al., 2022). This is always the case, as some SSF processes for enzyme production may require the same amount of water to extract the enzyme, which can be similar to the total water content used in SmF processes. Table 1 presents the main advantages and disadvantages of solid-state fermentation (SSF) and submerged fermentation (SmF) for the production of bioactive compounds.

Table 1. Comparison between Solid-State Fermentation and Submerged Fermentation.

Tabla 1. Comparación entre la fermentación en estado sólido y la fermentación sumergida.

Criterion	Solid-State Fermentation	Submerged Fermentation	Reference
Process control	Limited; difficult control of temperature, pH, and oxygen	High; easy monitoring and control of pH, temperature, and aeration	Cordero Soto et al., 2025
Oxygen transfer	Generally suitable for aerobic microorganisms, but difficult to regulate	Efficient and controllable through agitation and aeration	Mehmood et al., 2022
Water consumption	Low	High	
Operational cost	Generally lower	Higher due to equipment, energy use, and process control	
Scalability	More complex and limited at industrial scale	High; widely applied at industrial scale	
Contamination risk	Lower due to low water activity	Higher due to liquid medium	
Product recovery	More complex; requires additional downstream steps	Easier through filtration or centrifugation	

2.1 Oxygen

The reduced availability of free water in SSF enhances oxygen transfer, thereby promoting microbial growth (Banat et al., 2021; Valdés-Velasco et al., 2022). Oxygen transfer depends on the

available interfacial gas-liquid surface area and the thickness of the wet fungal layer. Besides, SSF describes resistance to phenomena of catabolite repression and substrate inhibition. Hence, enzymes are usually produced in higher yields than those observed in SmF using elevated concentrations of simple sugars with relatively low levels of inducers (Valdés-Velasco *et al.*, 2022).

Despite these benefits, substrate uptake and biomass quantification are challenging because of the close interaction between microorganisms and the solid medium, although indirect methods such as respirometry monitoring for biomass determination may be used.

2.2 Temperature

Another aspect of the solid substrate is its porosity and the formation of mass and heat gradients due to the poor transfer coefficients of the solid matrix, which may lead to the accumulation of heat and gases inside the bioreactor bed, especially at higher production scales (Cordero Soto *et al.*, 2025).

Heat transfer is important because microorganisms often grow in specific temperature ranges, and the fermentation process generates metabolic heat. Different strategies exist to overcome this issue, resulting in a wide diversity of bioreactor designs (Krishania *et al.*, 2018). Two main strategies exist that can be used in combination. The first strategy is based on the forced aeration of moist air through the bed to remove heat, carbon dioxide, and volatile substances through convection (Mehmood *et al.*, 2022). In addition, the water evaporation process, an endergonic reaction, allows efficient heat removal but requires water replenishment, which can be carried out through aeration with water-saturated air (Mehmood *et al.*, 2022). Granulometry and the compressibility index are also key parameters for enhancing the heat transfer (Oiza *et al.*, 2022). The other strategy is agitation, which can release nutrients and impair the formation of gradients, but can disrupt microbial cells, especially in the case of filamentous microorganisms. These damages can be mitigated by modulating parameters such as the frequency and speed of agitation and the type of agitation system, that is, baffles, padded, or rotating drum (Robinson & Nigam, 2003; Finkler *et al.*, 2017). Thus, for each agitated bioprocess, a careful study of the impacts of these parameters must be conducted to achieve a balance between mass and heat transfer gradients and cell disruption. Recent advances in mathematical modeling have led to a deeper understanding of SSF processes and may support the successful development and large-scale implementation of SSF production systems (Perez *et al.*, 2019; Finkler *et al.*, 2021).

2.3 Recovery of biomass and products

Downstream processes account for 70 % of the total production cost. They are not required if the fermented solid is used as a final product, such as conidia, for applications such as pesticides. Thus, bioprocesses have taken advantage of the economic benefits of SSF. However, if they are required, the use of solvents is common and sometimes not environmentally friendly, limiting the pharmaceutical applications of the obtained bioactive compounds and the reuse of solid waste. In addition, solvents can increase the production cost because of the high required volume, their prices, and energy consumption (Oiza *et al.*, 2022). Bioproduct recovery depends on its physical and chemical characteristics, such as thermostability and pH resistance. Thus, alternative methods for bioproduct recovery with reduced environmental and economic impact include ultrasound-assisted

extraction, microwave-assisted extraction, supercritical fluid extraction, solid-liquid extraction, pressurized liquid extraction, subcritical water extraction, solid-solid extraction, and enzyme-assisted extraction (Oiza et al., 2022). However, optimization focused on downstream processes has not been widely studied and is fundamental to the total production cost and environmental impact of SSF.

3. Bioactive compounds obtained by solid-state fermentation

Microbial diversity is a tremendous source of bioactive compounds whose applications range from antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory activities in various critical industries like drugs, healthcare, surgical devices, food preservation, and packaging, to name a few. In the specific case of antimicrobial activities against pathogenic agents, and notably because of the appearance of resistant pathogenic strains to systemic antibiotics, the search for new antimicrobial compounds is of primary importance in the chemistry and biotechnology sectors (Varghese et al., 2020). In this context, the focus has been on antibiotics, biosurfactants, polymers, aromas, enzymes, and vitamins (table 2).

3.1 Antibiotics

Antibiotics are biologically active compounds produced by microorganisms as a defense mechanism to stop or selectively inhibit the growth of other microorganisms. Antibiotic production has been investigated in the last decades using alternative economic sources, such as agro-industrial byproducts, using SmF and SSF (De la Cruz-Quiroz et al., 2019; Zeng et al., 2022). Several factors must be considered, including environmental and biological aspects, physiological characteristics of the microorganisms, and their optimal growth culture (De la Cruz-Quiroz et al., 2019).

Cephalosporin-C (Fig. 1A) was produced in comparable quantities as a secondary metabolite through SSF and SmF. In the case of SSF, sugarcane bagasse was used as a solid medium (Tabaraie et al., 2012). Other studies have reported antibiotic production by SSF, such as the extracellular antibiotic rifamycin B (Fig. 1B), produced by *Amycolatopsis Mediterranea* MTCC 14 from agro-industrial byproducts (Vastrad & Neelagund, 2012). The results of this study showed that ground nutshells and coconut oil cake presented higher yields of antibiotic production than those obtained with groundnut oil cake and rice husks. Paromomycin (Fig. 1C) is an effective antibiotic for treating Gram-positive and Gram-negative bacteria, protozoa, mycobacteria, and numerous antibiotic-resistant pathogens. It is produced by *Streptomyces rimosus* subsp. *paromomycinus* NRRL 2455 through SSF using corn bran impregnated with aminoglycosides as the growth medium (El-Housseiny et al., 2021). Cephamycin C antibiotic production by *Nocardia lactamdurans* was evaluated in SSF using soybean flour with a moisture content of 65 % at 28 °C and an initial pH of 6.5. The maximum cephamycin C production under these conditions was 15.75 mg (g dry solid)⁻¹ (Kagliwal et al., 2009). Henceforth, a gram of dry solid (gds). Other necessary antibiotics produced as secondary metabolites during fermentation include penicillin, neomycin, puromycin, cephabacin, nocardicin A, actinorhodin, enterocin, tetracenomycin, actinomycin, carbomycin, erythromycin, and tetracycline (Kumar et al., 2021; Zeng et al., 2022).

Antibiotic production by biotechnological processes, such as SSF, generally involves the use of a complex medium that may decrease the overall purity of the compound. However, extraction and

purification strategies to obtain high-grade metabolites have been continuously studied to overcome this limitation.

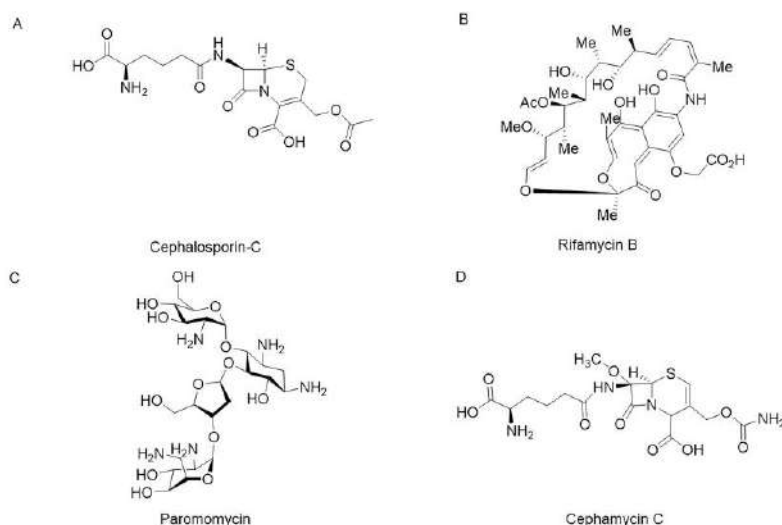


Figure. 1 Chemical structures of antibiotics produced by SSF. A) Cephalosporin-C. B) Rifamycin B. C) Paramomycin. D) Cepharmycin C.

Figura. 1 Estructuras químicas de antibióticos producidos por SSF. A) Cefalosporina C. B) Rifamicina B. C) Paromomicina. D) Cefamicina C.

3.2 Aroma compounds

Aroma compounds are molecules naturally obtained from plants, seeds, and fruits, or through biotechnological processes using microorganisms or isolated enzymes. Their natural production has been strongly performed in the last two decades developing fermentation systems, mainly by SmF (Cordero-Soto et al., 2025). Nevertheless, other approaches, such as SSF, have been proposed for by-product valorization and aroma production (Hadj Saadoun et al., 2021), especially those showing novel applications in the pharmaceutical industry and medical treatments (Arya et al., 2021).

The natural aldehyde 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (Fig. 2A) is the main compound in the extract obtained from the pods of the *Vanilla planifolia* orchid (Arya et al., 2021). This compound, named vanillin, has a sweet flavor and delicate floral fragrance, properties that the food and cosmetic industries have been searching for to increase the quality of their products (Palmerín-Carreño et al., 2019). However, in the last decades, its medicinal and biological properties have been investigated (Arya et al., 2021). Vanillin exhibits antioxidant, anticarcinogenic, anti-inflammatory, anti-apoptotic, neuroprotective, and anti-stress biological activities (Ueno et al., 2019). The consumption of vanillin in a designed high-fat diet for obese mice revealed promising results in reducing adipose tissue and glucose metabolism, among other benefits (Martău et al., 2021). In addition to its intake, vanillin has also been studied in alternative medicine and aromatherapy to elucidate its neuropsychological effects (Ueno et al., 2019).

With these novel applications and the high global demand for vanillin, efforts to obtain this compound through biotechnological processes have increased, as its direct extraction from plants is limited, and the vanillin obtained by microbial/enzymatic bioprocesses is considered a safe and natural source (Martău et al., 2021; Paul et al., 2021). In this sense, recent studies have been carried out by SSF to produce biovanillin. Mehmood et al. (Mehmood, Ahmed, et al., 2022) studied fruit byproducts with a high content of ferulic acid, including pomegranate, banana, and orange peels as substrates to produce biovanillin using *Enterobacter hormaechei*, reaching a maximum yield of 0.09 mg g⁻¹ after 24 h of fermentation. Other food byproducts, such as sugarcane bagasse, wheat straw, corn cob, and rice bran and straw, were evaluated and selected according to their ferulic acid content and biovanillin production by SSF (Mehmood, Saleem, et al., 2022). The results showed that sugarcane bagasse is a promising substrate for producing biovanillin using *Enterobacter hormaechei* at 37.5 °C, pH 7.5, and a moisture content of 70 %.

Phenethyl alcohol (Fig. 2B), also known as 2-Phenylethanol (2-PE), is a higher alcohol with pleasant rose-like notes naturally found in plants and flowers. It is used in the pharmaceutical, cosmetic, and food industries as a preservative because of its efficient antimicrobial and antifungal activities (Martínez et al., 2018; Mierzejewska et al., 2019). 2-PE has been studied as an anti-depressant and anti-stress treatment through inhalation in mice (Ueno et al., 2019). Its biotechnological production has been mainly studied in SmF, especially by coupling in situ product removal techniques to avoid the inhibition of microorganisms. However, other approaches have been explored, such as using food byproducts to valorize or decrease the production costs (Martínez et al., 2018; Martínez-Avila et al., 2021). Soy fiber, rice husk, rice fiber, and apple pomace were evaluated as potential substrates for 2-PE bioconversion through SSF using *Pichia kudriavzevii*. Results showed that the highest 2-PE production (25.2 mg gds⁻¹) was obtained using red apple pomace as the substrate with L-phenylalanine (L-Phe) supplementation after 70 h (Martínez-Avila et al., 2021). The potential of sugarcane bagasse as a single carbon source, supplemented with L-phe, using *Pichia kudriavzevii* in an SSF process was evaluated and optimized, reaching a maximum 2-PE concentration of 27. 2 mg gds⁻¹ (Martínez-Avila et al., 2020). Moreover, sugarcane bagasse was evaluated in SSF to produce 2-PE and its derivative ester, 2-phenethyl acetate (2-PEA) (Fig. 2C), a compound with similar properties and aroma (Martínez et al., 2018). L-phe was added to the media to trigger the Ehrlich pathway in *Kluyveromyces marxianus* yeast. The results showed that the system was adequate for producing 2-PE and its ester, 2-PEA ester (Martínez et al., 2018). Fig. 3 illustrates the mechanism for obtaining 2-PE and its ester, 2-PEA.

2-phenethyl acetate and several fruity aroma compounds, such as isoamyl acetate, decanoate, ethyl dodecanoate, and octanoate, were produced by *Saccharomyces cerevisiae* in SFF from orange peels (Mantzouridou et al., 2015). Lactones have also been obtained using SFF. Try et al. (2018) proposed a novel system based on an impregnated inert support (luffa sponge) using *Yarrowia lipolytica*; the results showed a high yield of 3-hydroxy- γ - decalactone (Fig. 2D). However, the biological activity and medicinal potential of these aroma compounds have been poorly studied, and their study has focused on their application as flavoring agents.

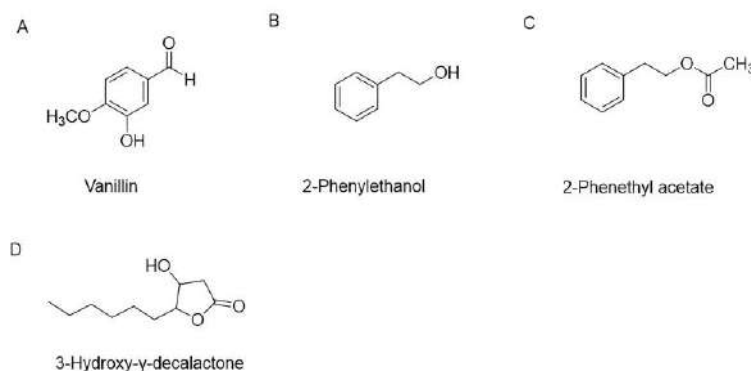


Fig. 2 Chemical structures of aromas produced by SSF. A) Vanillin. B) 2-Phenylethanol. C) 2-Phenethyl acetate. D) 3-hydroxy-γ-decalactone.

Fig. 2 Estructuras químicas de aromas producidos por SSF. A) Vainillina. B) 2-feniletanol. C) Acetato de 2-feniletilo. D) 3-hidroxi-γ-decalactona.

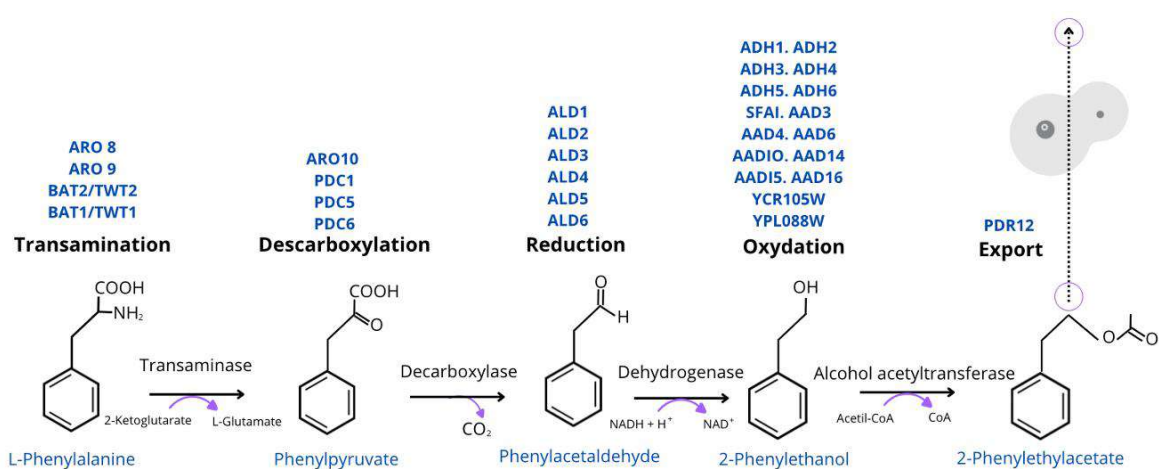


Fig. 3 Ehrlich pathway to produce 2-Phenylethanol and 2-phenylethylacetate.

Fig. 3 Ruta de Ehrlich para la producción de 2-feniletanol y 2-feniletil acetato.

3.3 Biosurfactants

Biosurfactants are amphiphilic compounds that reduce surface tension. Bacteria, yeasts, and fungi produce these compounds, with no reported side effects in humans (Wan et al., 2022). Their environmental toxicity is lower, and their resistance to extreme temperatures, pH, and salinity is higher than that of chemical surfactants (Ribeiro et al., 2020). A critical contemporary biological activity of biosurfactants is the inactivation of SARS-CoV2 by membrane disruption (Banat et al., 2021; Raza et al., 2022). However, large-scale biosurfactant synthesis is limited by its high production costs and low productivity (Banat et al., 2021). For instance, sophorolipids, one of the cheapest biosurfactants in the market, have a sales price estimated at approximately 32 USD Kg⁻¹ versus 1-2 USD Kg⁻¹ for a synthetic surfactant such as sodium lauryl sulfate (Dolman et al., 2019). Therefore, different strategies have been proposed to improve production, including the use of SSF. Indeed, in the case of lipopeptide synthesis, for example, a study showed that SSF, in comparison with SmF,

increased the production tenfold according to the evaluated strains compared to g L^{-1} (Valdés-Velasco et al., 2022). Moreover, because of the absence or near absence of free water, foam formation can be significantly reduced, which is an issue during biosurfactant production using SmF (Chen et al., 2021). Foaming may hinder the overall productivity of the process, requiring the addition of expensive antifoaming agents (Valdés-Velasco et al., 2022). The use of agro-industrial byproducts in SSF presents new challenges in downstream purification owing to the complex nature of the crude extract (Valdés-Velasco et al., 2022). Therefore, using an inert support such as polyurethane foam with an impregnated nutritional solution avoids these problems, facilitating product analysis, purification, control, and monitoring of the bioprocess (Jiménez-Peñalver et al., 2019). This strategy has been successfully used for glycolipid and lipopeptide production in SSF (Gong et al., 2020; Valdés-Velasco et al., 2022).

Biosurfactants are classified according to their structure into glycolipids, lipopeptides, phospholipids, polymeric, and particulates. Glycolipids have potential applications in the pharmaceutical industry because of their antimicrobial, anti-adhesive, antitumor, antioxidant, antiviral, immunomodulatory, enzyme-inhibitory, and insecticide effects (Varvaresou & Iakovou, 2015; Banat et al., 2021). Sophorolipids and rhamnolipids are representative glycolipid biosurfactants. Several studies have reported the production of sophorolipids (Fig. 4A) by SSF using agro-industrial residues as solid supports (Jiménez-Peñalver et al., 2019). For instance, sophorolipids produced by *Starmerella bombicola* (previously *Candida bombicola*) using a mixture of sunflower oil cake and crude soybean oil reached a yield of 0.5 g gds^{-1} and exhibited activity against cancerous cells in human tumor cell lines of hepatocellular carcinoma HepG2 and lung cancer A549 by inhibiting the activities of urokinase and histone deacetylase (Rashad et al., 2014). *Candida bombicola* NRRL Y-17069 also synthesized sophorolipids from sunflower oil cake reaching 0.48 g gds^{-1} . It showed a more efficient reduction in total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, atherogenic index, liver transaminase activity, malondialdehyde, and antioxidant enzymes than rosuvastatin in male albino rats (Nooman et al., 2017).

Rhamnolipid (Fig. 4B) production by *Pseudomonas aeruginosa* attained a concentration of $6.25 \mu\text{g ml}^{-1}$ that was evaluated for its antiproliferative effects against human breast cancer cells (Varvaresou & Iakovou, 2015). The highest reported rhamnolipid concentrations in SSF are 41.87 to 45.4 g L^{-1} of the impregnating solution by *Pseudomonas aeruginosa* grown on a mixture of sugarcane bagasse and sunflower seed meal and a mixture of sugarcane bagasse and corn bran, respectively (Camiliós-Neto et al., 2011; El-Housseiny et al., 2019).

The most studied lipopeptide biosurfactants are those produced by *Bacillus* strains, such as surfactin, iturin, and fengycin (Varvaresou & Iakovou, 2015; Valdés-Velasco et al., 2022). They were produced from millet by *Bacillus subtilis* SPB1 through SSF (20.8 mg gds^{-1}), showing broad-spectrum antimicrobial activity against microorganisms with a multidrug-resistant profile, such as *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus xylosum*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Candida albicans* (Ghribi et al., 2012). *Bacillus cereus* SNAU01 generated lipopeptides using peanut oil cake under SSF, which had potential application as an anti-biofilm agent against *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 2453 and *Escherichia coli* MTCC 2939 (Nalini et al., 2016). Surfactin (Fig. 4C) displays activity against herpes viruses and retroviruses because it inhibits membrane fusion between the virus and host cells, preventing the infection of epithelial cells (Varvaresou & Iakovou, 2015; Banat et al., 2021). Surfactin exhibits anticancer activity against several cancer types, including breast, colon, leukemia, hepatocellular, cervical, oral epidermoid, and pancreatic cancers (Wu et al., 2017). *Bacillus*

pumilus HY1 grown on soybeans as a solid support produced surfactin that inhibited the growth of cancer cell lines MCF-7 and Caco-2 at 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Hong et al., 2021).

Iturin (Fig. 4D) has broad-spectrum antibacterial, hemolytic, anticarcinogenic, and thrombolytic properties (Zhao et al., 2017; Wan et al., 2022). It was synthesized from soybean meal by *Bacillus velezensis* ND under SSF, showing significant potential for industrial production (Shen et al., 2025).

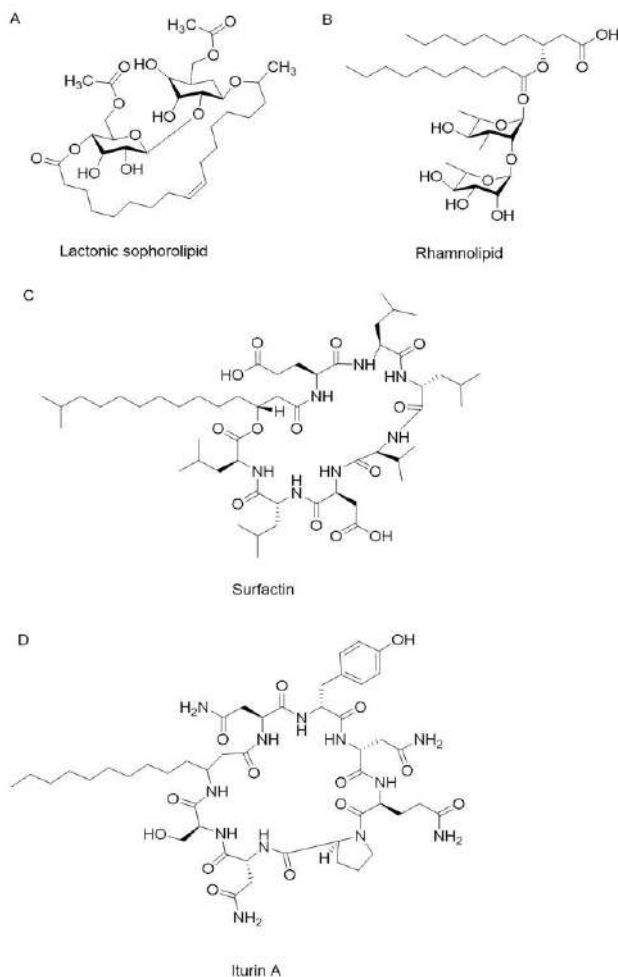


Fig. 4 Chemical structures of biosurfactants produced by SSF. A) Lactonic sophorolipids. B) Rhamnolipid. C) Surfactin. D) Iturin A.

Fig. 4 Estructuras químicas de biosurfactantes producidos por SSF: A) Sofrolípidos lactónicos. B) Ramnolípido. C) Surfactina. D) Iturina A.

3.4 Polymers

Unlike small antimicrobial molecules, polymers offer an effective solution for surface-bound pathogens, particularly when they are biocompatible and sustainable materials for medical applications, such as prostheses and band aids. Furthermore, incorporating antibiotics into polymeric matrices reduces their toxicity, enhances stability, and extends their half-life (Brooks & Brooks, 2014).

Polymers are macromolecules formed from repeating units called monomers. They are an essential class of molecules as they usually support the structural and biological functions of living organisms. In addition to the biological activity studied, many other parameters can be used to characterize a macromolecule, notably its monomeric composition and arrangement, chain length, and morphology.

Moreover, for the same class of molecules, these parameters may have an essential influence on their biological activity (Carboué et al., 2022). A distinction can be made regarding the inherent nature of the antimicrobial properties, although this can also be applied to any biological activity. Indeed, some polymers, such as natural polymers (e.g., chitosan) or synthetic polymers (e.g., polyethyleneimine), exhibit inherent antimicrobial properties. In contrast, some polymers can be chemically functionalized to obtain antimicrobial properties (Jain et al., 2014). It is also possible to functionalize an existing antimicrobial polymer to improve its antimicrobial properties, as in the case where phenolic acid derivatives were grafted onto chitosan (Wang et al., 2019). In the present section, the focus is on the polymers produced by SSF; therefore, only natural polymers with inherent activities were considered.

3.4.1 Carbohydrate polymers

Carbohydrate polymers or polysaccharides are the most prevalent biopolymers on Earth. Among carbohydrate polymers, cellulose is the most abundant, followed by chitin (Shen et al., 2016). A polymer is typically classified as a polysaccharide when it contains at least ten monosaccharide units. Polysaccharides can be classified based on their composition (homo- and heteropolysaccharides), type of glycosidic bonds, and cellular localization, within the cell wall, secreted outside the cell as exopolysaccharides, or retained intracellularly as endopolysaccharides (Osińska-Jaroszuk et al., 2015).

Most fungal exopolysaccharides are produced in SmF from Basidiomycetes and Ascomycetes. Endophytic fungi are an excellent source of exopolysaccharides (Zeng, Yang, Wang, et al., 2019). For instance, two heteropolysaccharides containing arabinose, glucose, mannose, and galactose were produced by *Fusarium solani* grown on a solid medium containing rice, bean dregs, rice bran, and corn bran for 30 days. However, due to the complexity of separating the medium from the mycelium in SSF, it remains unclear whether these compounds are exopolysaccharides or endopolysaccharides. Both molecules showed immunomodulatory activities, and one had interesting antioxidant potential evaluated through a radical scavenging assay. This difference in antioxidant activity was attributed to the difference in sugar composition between heteropolysaccharides. Indeed, a higher content of galactose and glucose resulted in higher antioxidant activity (Zeng, et al., 2019a).

Nonetheless, bacterial exopolysaccharides may also be successfully produced using SSF. For instance, Gram-negative *Bacillus Kosakonia cowanii* was cultivated on sugarcane bagasse and broadbean seed capsules in SSF to produce exopolysaccharides. Considering the cost of the medium and comparing their yield (41.62 mg gds⁻¹) with the yield reported in the literature using SmF and similar conditions (14.88 mg L⁻¹), the authors suggested that 30 % cost saving could be obtained (Gao et al., 2020). SSF media are not limited to lignocellulosic materials; for instance, squid processing byproducts in a mixture with maize cob meal were successfully used as a solid medium to produce exopolysaccharides from *Bacillus licheniformis* during the SSF process (Fang et al., 2013). Xanthan, a heteropolysaccharide of high industrial importance for its use as a texturing agent in food, was

produced from *Xanthomonas campestris* grown on apple pomace, and the yields were comparable to those obtained under SmF conditions (Stredansky & Conti, 1999). Moreover, it is worth mentioning that the presence of oligosaccharides and phenolic compounds generated as degradation products during the enzymatic degradation of lignocellulosic byproducts may also participate in the overall antioxidant potential through inherent and synergistic actions. Thus, when purification of the crude extract is not required, the use of lignocellulosic byproducts in SSF may offer distinct advantages (Forsan et al., 2025).

Another carbohydrate polymer is chitosan (Fig. 5A), which is an N-deacetylated chitin derivative. This deacetylation process is typically incomplete; therefore, chitosan is a copolymer composed of N-acetylglucosamine and glucosamine (Ravi Kumar, 2000). For chitosan, the degree of deacetylation must be greater than 60 %. With a pKa value of 6.3, the amino groups confer solubility to chitosan in mildly acidic aqueous solutions (Hamedi et al., 2018). In such solutions, these functional groups are protonated, giving chitosan its polycationic properties and allowing its absorption onto negative cellular membranes (Raafat et al., 2008). Several models have been proposed to explain the mechanisms underlying the antimicrobial activity of chitosan; for instance, in gram-positive bacteria, the peptidoglycans in the cell wall are hydrolyzed, generating a leakage of the intracellular components and subsequent cellular death.

However, in gram-negative bacteria, chitosan interacts with lipoproteins and lipopolysaccharides from the outer membrane, changing its permeability and blocking the transport of nutrients. Other studies reported the antimicrobial intracellular action of chitosan, which, through crossing the cell membrane, binds to DNA and prevents its transcription (Sahariah & Másson, 2017). Although the antimicrobial activity of chitosan is influenced by its solubility, which is dependent on the degree of deacetylation and solution pH, the role of molecular weight remains unclear and appears to vary across microbial strains (Yilmaz Atay, 2019). Chitosan is traditionally produced by alkali extraction of shells from molluscs and crustaceans. However, fungi also contain this macromolecule in their cell wall. Thus, fungal chitosan can be produced using either SSF or SmF, circumventing the additional steps involved in conventional production, such as decolorization and demineralization (Ghormade et al., 2017). There are examples of the successful production of chitosan using SSF and agroindustrial byproducts such as *Rhizopus oryzae* on soybean meal, corn straw, or potato peel (Suntornsuk et al., 2002; Omogbai & Ikenebomeh, 2013; Kleekayai & Suntornsuk, 2011). The difference in chitosan yields and properties may be observed between SSF and SmF for similar nutritional conditions, but highly depends on the strain and medium used. Nwe et al. (2002), for example, through using *Gongronella butleri*, observed that SmF led to 1.5-fold higher chitosan production compared to the one obtained with SSF – the basis of comparison was the initial carbon source –, although in this case, the chitosan had a lower molecular weight.

3.5 Poly(amino acids)

Poly(amino acids) are biocompatible and biodegradable polymers. A homopoly(amino acid) is composed of one type of amino acid in its backbone. Although a wide variety of amino acids exists, only four homopoly(amino acid)s have been reported in nature to date: poly(γ -glutamic acid), poly(ϵ -L-lysine), poly(γ -L-diaminobutanoic acid), and poly(L-diaminopropionic acid). In contrast, polymers consisting of more than one type of amino acid are called heteropoly(amino acid)s. For instance, poly(L-arginyl-D-histidine) is produced by the ergot fungus *Verticillium kibiense* (Kurihara et al.,

2008). Poly(amino acid)s have interesting biological activities, primarily attributed to their poly-ionic nature.

ϵ -Poly-lysine (Fig. 5B) is an oligomer consisting of 25–35 residues of L-lysine connected by unique linkages between ϵ -amino groups and α -carboxyl groups. It is water-soluble, biodegradable, edible, and non-toxic to humans and the environment (Shih et al., 2006). ϵ -Poly-lysine, similar to chitosan, is a polycationic compound. Indeed, it has primary amine functions along its backbone and thus displays cationic properties, with an isoelectric point of around $\text{pH} = 9$, facilitating electrostatic interactions with negatively charged cell membranes, ultimately leading to membrane disruption and cell death (Cai et al., 2025). The first study dealing with poly- ϵ -lysine production through SSF reported a production yield of $86.62 \text{ mg gds}^{-1}$ using *Streptomyces albulus* growing on a mixture of rapeseed cake and wheat bran supplemented with glucose and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ incubated at 30°C for 8 days (Xu et al., 2017). Notably, a comparable yield ($75.51 \text{ mg gds}^{-1}$) was also achieved under composting conditions with 60 kg of the medium. Considering the cost of raw material and using a yield of 25.8 g L^{-1} as a basis of comparison for production carried out in SmF, they concluded that SSF would allow a 32 % reduction in the culture medium.

Some strains can simultaneously produce different homopoly(amino acid)s. A strain of *S. albulus* was grown on spent mushroom residues using SSF to successfully produce ϵ -poly-lysine and poly(L-diaminopropionic acid) (Fig. 5C) (Kurihara et al., 2008). This co-production is particularly promising for the direct use of crude extracts given the complementary antimicrobial profiles of each compound. For example, compared with ϵ -poly-lysine, poly(L-diaminopropionic acid) exhibits stronger inhibitory activities against yeasts but weaker activities against bacteria (Xia et al., 2013).

Another noteworthy example is poly- γ -glutamic acid (Fig. 5D), which is extensively produced by *Bacillus* species. It is an anionic homo-polyamide composed of D- and L-glutamic acid monomers linked by an amide linkage between the α -amine and γ -carboxylic acid groups. Although anionic in nature, poly- γ -glutamic acid displays notable antimicrobial activity, particularly against Gram-positive bacteria. Both Gram-negative bacteria and poly- γ -glutamic acid are negatively charged, and antimicrobial activity requires more product concentration. Moreover, this activity may be restricted to ionic interactions and the hydrophobic nature of the molecule that participates in cell adhesion (Ijadi Bajestani et al., 2018). Poly- γ -glutamic acid production was successfully performed using SSF and a mixture of swine manure, soybean cake, and wheat bran as the culture medium (Chen et al., 2005). Fang et al. (2020) used *Bacillus amyloliquefaciens* to produce poly- γ -glutamic acid by SSF on corn stalks and soybean meal. The authors compared sterilized and non-sterilized solid media and reported that although the yield was lower, the fermentation process was faster under non-sterilized conditions. This finding is relevant from a process engineering standpoint, as sterilization steps significantly increase production costs on an industrial scale.

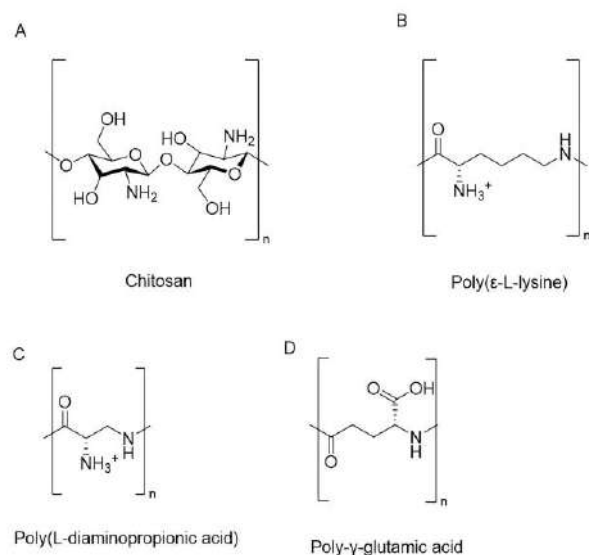


Fig. 5 Chemical structures of polymers produced by SSF. A) Chitosan. B) Poly-ε-lysine. C) Poly(L-diaminopropionic acid). D) poly(γ-glutamic acid).

Fig. 5 Estructuras químicas de polímeros producidos por SSF. A) Quitosano. B) Poli-ε-lisina. C) Poli(ácido L-diaminopropiónico). D) Poli(γ-ácido glutámico).

3.6 Enzymes

Some enzymes with pharmaceutical applications, such as amylases, lipases, and proteases, have been developed under SSF. Amylases belong to a large group of glycosyl hydrolase enzymes that catalyze the breakdown of complex carbohydrates such as starch and dextran. These enzymes are used as diagnostic aids and show potential for diagnostic and therapeutic applications in cancer, infection, wound healing, and drug delivery (Azzopardi et al., 2016). Stable amylases, active over a broad range of pH and temperatures, have been produced from wheat bran as a solid substrate by *Bacillus amyloliquefaciens* KCP2, *Bacillus subtilis* MTCC 121, and *Gongronella butleri* (Raul et al., 2014; Prajapati et al., 2015; Cavaleiro et al., 2017).

Lipases, classified as triacylglycerol acyl hydrolases, are serine hydrolases that hydrolyze the ester bonds of tri-, di-, and mono-glycerides to release fatty acids and glycerol. These enzymes are used to synthesize pharmaceutical intermediates (Ramos Sanchez et al., 2015). For example, a lipase from *Geotrichum candidum* was employed in the stereoselective acetylation of racemic [1- (hydroxy)-4-(3-phenyl) butyl] phosphonic acid diethyl ester to produce a chiral intermediate for the chemical synthesis of an anti-cholesterol drug (Ramos Sanchez et al., 2015). CAL-B lipase was used in a racemic mixture of 2-pentanol to produce a chiral intermediate for the synthesis of anti-Alzheimer drugs synthesis. Lipases from *C. cylindracea* and *C. antarctica* were applied to resolve enantiomers of flurbiprofen, naproxen, ibuprofen, suprofen, and baclofen, and to synthesize antiviral drugs such as lobucavir, an antiviral of hepatitis B, and ribavirin (Ramos Sanchez et al., 2015). Lipases are mainly produced by yeasts and filamentous fungi, which often exhibit higher lipase yields in SSF than in SmF (Ramos Sanchez et al., 2015). Lipid-rich substrates, such as coconut oil cake, sesame oil cake, babassu oil cake, olive cake, and palm kernel cake are preferred for lipase production (Ramos Sanchez

et al., 2015; Lopes et al., 2022). *Yarrowia Lipolytica* IMUFRJ50682, for instance, produced lipase with hydrolytic activity under varying temperature and pH conditions in SSF using canola cake and soybean meal (Souza et al., 2017). Similarly, rice bran and *Jatropha* seed cake were used for lipase production by *Aspergillus niger* (Putri et al., 2020).

Proteases catalyze the hydrolysis of peptide bonds, breaking down proteins into smaller peptides or amino acids (Steudler et al., 2019). Microbial alkaline serine proteases have notable pharmaceutical relevance. Immobilized subtilisins have been incorporated into formulations for the treatment of burns and wounds. Several protease therapies are currently under clinical investigation, owing to their collagenase activity. Alkaline proteases have been used to treat conditions such as Dupuytren's disease, Peyronie's disease, glaucoma, intervertebral disc herniation, debridement, keloids, vitrectomy, and cellulite. Additionally, they are used in therapies for thrombolysis (urokinase, fibrinolytic enzymes), hemophilia (factor VIIa), sepsis (activated protein C), muscle spasms (botulinum toxin A and B), lymphocytic leukemia (asparaginase), purulent wounds, and abscesses (elastoterase) (Matkawala et al., 2021). *Neurospora crassa* CGMCC3088 produced proteases via SSF using okara as a substrate, showing extended stability in organic solvents, which is promising for bioactive ingredient formulation (Zheng et al., 2020). Other commonly used solid substrates include wheat straw, sugarcane bagasse, rice straw, and rice husks (Steudler et al., 2019).

Additionally, peptides with antioxidant activities can be produced using agro-industrial residues and SSF. Bioactive peptides, derived from the hydrolysis of inactive parental proteins, have been shown to reduce blood pressure and address complications associated with diabetes and cancer while also exhibiting antioxidant properties (Manfredini et al., 2021). For instance, antioxidant peptides were generated from grapeseed meal fermented by *Bacillus subtilis* 10160, with concentration-dependent activity (He et al., 2012). In another example, fermentation of soybean meal by *B. amyloliquefaciens*, *Lactobacillus* sp., and *Saccharomyces cerevisiae* led to the elimination of trypsin inhibitors, synthesis of proteases and small peptides, and an increase in phenolic compounds, ultimately enhancing antioxidant activity (Manfredini et al., 2021).

3.7 Vitamins

Vitamins are organic compounds that are essential for the normal functioning of the body because of their biochemical and biological roles. Since the body cannot synthesize some vitamins, they must be obtained from the diet, with plants serving as their primary sources (Ball, 2004). Water-soluble vitamins, such as riboflavin, nicotinic acid, nicotinamide, and vitamin B6 (Fig. 6A, B, C, D), were produced through SSF of tempeh using *Rhizopus oligosporus*, *R. arrhizus*, and *R. stolonifer*. Vitamin B12 (Fig. 6E) was synthesized when *Citrobacter freundii* and *Klebsiella* were added to the SSF process (Pandey et al., 2000), highlighting the importance of microbial synergism. Furthermore, *Rhizopus oligosporus* independently fermented both raw and roasted buckwheat groats, resulting from 1.5 to 3-fold increase in the concentrations of thiamine (B1), pyridoxin (B6), and L-ascorbic acid (Fig. 6F, 6H) (Wronkowska et al., 2015). Similarly, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, and *Torula utilis* enhanced vitamin C production from apple pomace powder (Joshi & Sandhu, 1996), whereas *Lactobacillus casei* improved the vitamin B1 and B2 content of soybean flour (Li et al., 2020).

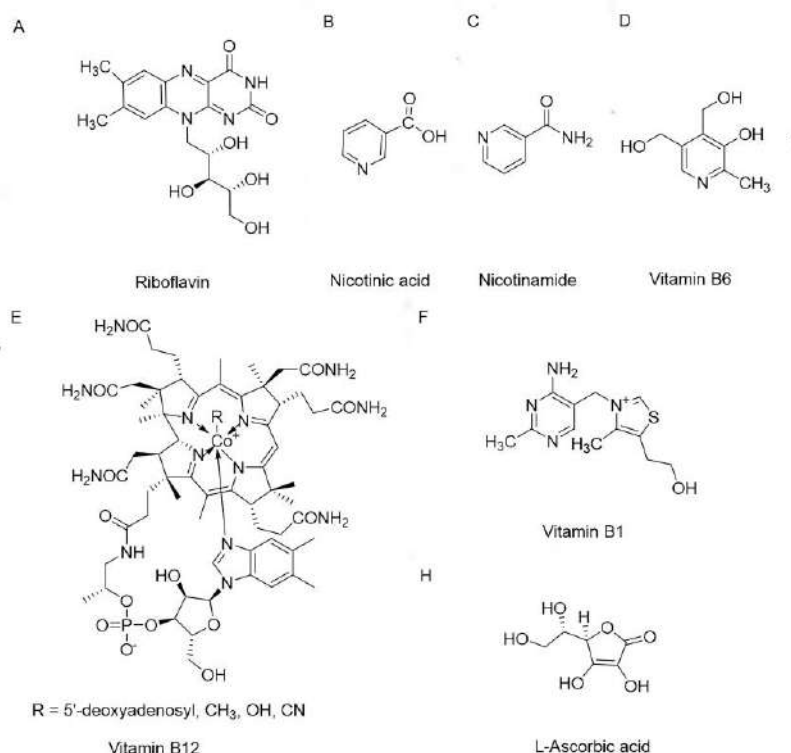


Fig. 6 Chemical structures of vitamins produced by SSF. A) Riboflavin. B) Nicotinic acid. C) Nicotinamide. D) Vitamin B6. E) Vitamin B12. F) Vitamin B1. H) L-Ascorbic acid.

Fig. 6 Estructuras químicas de vitaminas producidas por SSF. A) Riboflavina. B) Ácido nicotínico. C) Nicotinamida. D) Vitamina B6. E) Vitamina B12. F) Vitamina B1. H) Ácido L-ascórbico.

3.8 Miscellaneous

Some secondary metabolites in pharmaceutical products, such as carotenoids, lovastatin, and cordycepin, show great promise owing to their therapeutic properties. Carotenoids, such as lycopene, exhibit potent antioxidant activity and have been associated with improvements in cardiovascular diseases, inflammatory events, oxidative stress-mediated dysfunction, and cancer resistance. Lycopene was extracted through SSF of tomatoe waste using *Aspergillus niger* GH1. It was found that total carotenoid recovery was below 70 % at moisture, highlighting the importance of this parameter in the bioprocess (Mendez-Carmona et al., 2022). Lovastatin (Fig. 7A), a widely used hypercholesterolemic drug, was efficiently produced via SSF of wheat bran by *Aspergillus terreus* ATCC 10020, reaching a yield of 8.67 mg gds⁻¹. In this way, lovastatin significantly reduced insulin levels, body mass, LDL-C, triglycerides, blood glucose, and thiobarbituric acid-reactive substances in mice fed a high-fat diet (Al-Saman et al., 2021). Cordycepin (Fig. 7B), a nucleoside derivative synthesized by *Cordyceps militaris*, is commonly used as a functional food and medicine in Southeast Asia to treat and prevent obesity. It also exhibits anticancer, antiviral, antileukemic, and hypolipidemic activities. SSF using brown rice has emerged as a promising method for cordycepin production, as it is more difficult and costly to purify through chemical synthesis than through biological pathways (Wen et al., 2014).

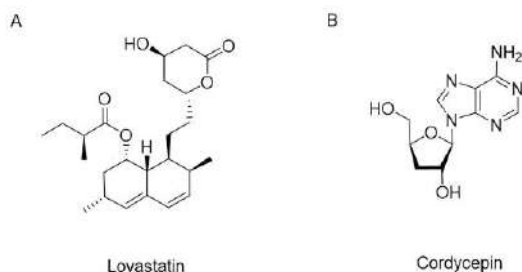


Fig. 7 Chemical structures of miscellaneous secondary metabolites produced by SSF. A) Lovastatin. B) Cordycepin.

Fig. 7 Estructuras químicas de metabolitos secundarios diversos producidos por SSF. A) Lovastatina. B) Cordicepina.

Table 2. Microorganisms and residues used to produce bioactive compounds by Solid-state fermentation.

Tabla 2. Microorganismos y residuos utilizados en la producción de compuestos bioactivos mediante fermentación en estado sólido.

Compound	Bioactive compound	Microorganism	Solid residue / substrate	Reference
Antibiotics	Cephalosporin C	<i>Acremonium chrysogenum</i>	Sugarcane bagasse	Tabaraie et al., 2012
	Rifamycin B	<i>Amycolatopsis mediterranei</i>	Nut shells, coconut oil cake	Vastrad & Neelagund, 2012
	Paromomycin	<i>Streptomyces rimosus</i>	Corn bran	El-Housseiny et al., 2021
Aroma compounds	Vanillin	<i>Enterobacter hormaechei</i>	Sugarcane bagasse, fruit peels	Mehmood et al., 2022
	2-Phenylethanol	<i>Pichia kudriavzevii</i>	Apple pomace, sugarcane bagasse	Martínez-Ávila et al., 2020
Biosurfactants	Sophorolipids	<i>Candida bombicola</i>	Sunflower oil cake + soybean oil	Rashad et al., 2014
	Rhamnolipids	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sugarcane bagasse + corn bran	Camilios-Neto et al., 2011
	Surfactin	<i>Bacillus subtilis</i>	Millet, peanut oil cake	Ghribi et al., 2012
Polymers	Chitosan	<i>Rhizopus oryzae</i>	Potato peel	Kleekayai & Suntornsuk, 2011
	ϵ -Poly-L-lysine	<i>Streptomyces albulus</i>	Rapeseed cake + wheat bran	Xu et al., 2017
Enzymes	Amylases	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Wheat bran	Prajapati et al., 2015
	Lipases	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Canola cake, soybean meal	Souza et al., 2017
Others	Riboflavin, niacin	<i>Rhizopus oligosporus</i>	Soybeans (tempeh)	Pandey et al., 2000
	Lovastatin	<i>Aspergillus terreus</i>	Wheat bran	Al-Saman et al., 2021
	Cordycepin	<i>Cordyceps militaris</i>	Brown rice	Wen et al., 2014

4. Future perspectives of Solid-state fermentation

Although solid-state fermentation (SSF) offers significant advantages to produce bioactive compounds with pharmaceutical potential, several technical and regulatory limitations still constrain its large-scale implementation. The inherent heterogeneity of SSF systems complicates accurate process monitoring and control, particularly for critical parameters such as temperature, moisture content, pH, and oxygen availability. The integration of advanced sensing technologies, predictive modeling, and data-driven control strategies represents a promising pathway to improve process robustness, reproducibility, and scalability.

In addition, the variability of solid substrates, together with the absence of dedicated regulatory frameworks for SSF-based pharmaceutical processes, remains a major barrier to industrial adoption. Future progress will rely on substrate standardization, microbial strain improvement, bioreactor design, and the establishment of clear regulatory guidelines, enabling SSF to evolve from a predominantly laboratory-scale approach into a reliable, scalable, and sustainable platform for pharmaceutical bioprocesses.

5. Conclusion

Pharmaceutical products that contain microbial bioactive compounds play a vital role in promoting human health and represent promising alternatives to synthetic drugs and health care products, offering greater selectivity, reduced toxicity, and fewer side effects. Therefore, the development of novel fermentation strategies to enhance production is important. SSF is a sustainable and cost-effective approach for the pharmaceutical industry, offering high product yields while utilizing low-cost substrates and minimizing environmental impact. Pharmaceutical products typically require high purity, and SSF often uses agro-industrial byproducts. Therefore, the resulting crude extracts tend to be complex and may require extensive downstream processing to meet purity standards. These additional purification steps can significantly increase the overall production costs. Finally, most current studies on SSF for bioactive compound production are limited to lab-scale bioreactors. Therefore, further studies are necessary to address the challenges related to the process scale-up and control. By addressing current limitations and showcasing innovative applications, solid-state fermentation is positioned as a viable complementary strategy for pharmaceutical bioprocesses.

Author contributions

L. M. V. V.: Conceptualización, redacción-revisión y edición. Q. C.: Conceptualización, redacción-revisión. S. H. O.: Supervisión, redacción – revisión. E. F. T.: Supervisión, redacción – revisión y edición. I. N. C. S.: Conceptualización, redacción-revisión y edición.

Acknowledgements

We are grateful to all our laboratory colleagues and research personnel for their helpful advice and assistance.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Al-Saman, M. A., Helmy, M. A., Abdella, A., Wilkins, M. R., El Khalik Gobba, N. A., & Mahrous, H. (2021). Optimization of lovastatin production by *Aspergillus terreus* ATCC 10020 using solid-state fermentation and its pharmacological applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 31, 101906. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2021.101906>
- Arya, S. S., Rookes, J. E., Cahill, D. M., & Lenka, S. K. (2021). Vanillin: a review on the therapeutic prospects of a popular flavouring molecule. *Advances in Traditional Medicine*, 21, 1–17. <https://doi.org/10.1007/s13596-020-00531-w>
- Azzopardi, E., Lloyd, C., Teixeira, S. R., Conlan, R. S., & Whitaker, I. S. (2016). Clinical applications of amylase: Novel perspectives. *Surgery*, 160(1), 26–37. <https://doi.org/10.1016/J.SURG.2016.01.005>
- Ball, G.F.M. (2004). Nutritional Aspects of Vitamins. In: Ball, G. F. M. (ed.) *Vitamins: Their Role in the Human Body* (p. 8). John Wiley & Sons.
- Banat, I. M., Carboué, Q., Saucedo-Castañeda, G., & de Jesús Cázares-Marinero, J. (2021). Biosurfactants: The green generation of speciality chemicals and potential production using Solid-State fermentation (SSF) technology. *Bioresource Technology*, 320 (Part A), 124222. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2020.124222>
- Brekke, K. R., Dalen, D. M., & Straume, O. R. (2025). Taking the Competitor's Pill: When Combination Therapies Enter Pharmaceutical Markets. *Journal of Health Economics*, 101: 102976. <https://doi.org/10.1016/j.jhealeco.2025.102976>
- Brooks, D. B., & Brooks, A. E. (2014). Therapeutic strategies to combat antibiotic resistance. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 78, 14–27. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.10.027>
- Cai, J.-Y., Zhang, C.-J., Wang, J.-Q. Liao, A.-M., Hui, M., Pan, L., & Chen, X.-S. (2025). Advances in ϵ -Poly-Lysine Biosynthesis, Selection of High-Yielding Strains and Regulatory Mechanisms. *Biotechnology Journal*, 20(9), e70111. <https://doi.org/10.1002/biot.70111>
- Camilios-Neto, D., Bugay, C., de Santana-Filho, A. P., Joslin, T., de Souza, L. M., Sasaki, G. L., Mitchell, D. A., & Krieger, N. (2011). Production of rhamnolipids in solid-state cultivation using a mixture of sugarcane bagasse and corn bran supplemented with glycerol and soybean oil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89, 1395–1403. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2987-3>
- Carboué, Q., Fadlallah, S., Lopez, M., & Allais, F. (2022). Progress in Degradation Behavior of Most Common Types of Functionalized Polymers: A Review. *Macromolecular Rapid Communications*, 43(13), 2200254. <https://doi.org/10.1002/marc.202200254>

- Cavalheiro, G. F., Sanguine, I. S., Santos, F. R. D. S., Da Costa, A. C., Fernandes, M., da Paz, M. F., Fonseca, G. G., & Leite, R. S. R. (2017). Catalytic Properties of Amylolytic Enzymes Produced by *Gongronella butleri* Using Agroindustrial Residues on Solid-State Fermentation. *BioMed Research International*, 2017, 507523. <https://doi.org/10.1155/2017/7507523>
- Chen, C., Li, D., Li, R., Shen, F., Xiao, G., & Zhou, J. (2021). Enhanced biosurfactant production in a continuous fermentation coupled with in situ foam separation. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 159, 108206. <https://doi.org/10.1016/J.CEP.2020.108206>
- Chen, X., Chen, S., Sun, M., & Yu, Z. (2005). High yield of poly- γ -glutamic acid from *Bacillus subtilis* by solid-state fermentation using swine manure as the basis of a solid substrate. *Bioresource Technology*, 96(17), 1872–1879. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.01.033>
- Chilakamarry, C. R., Mimi Sakinah, A. M. M., Zularisam, A. W., Sirohi, R., Khilji, I. A., Ahmad, N., & Pandey, A. (2022). Advances in solid-state fermentation for bioconversion of agricultural wastes to value-added products: Opportunities and challenges. *Bioresource Technology*, 343, 126065. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126065>
- Cordero-Soto, I. N., Castillo-Araiza, C. O., García-Martínez, L. E., Prado-Barragán, A., & Huerta-Ochoa, S. (2020). Solid/gas biocatalysis for aroma production: An alternative process of white biotechnology. *Biochemical Engineering Journal*, 164, 107767. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107767>
- Cordero-Soto, I.N., Contreras-Hernández, M.G., Palmerín-Carreño, D.M., Nuñez-García, I.C., & Rutiaga-Quíñones, O.M. (2025). Microbial-Based Technologies for the Reuse of Food By-Products. In: Aguilar-Zárate, P., Haghi, A. K., & Gámez-García, R. (eds.). *Reducing Food Loss and Waste*. (pp.121–144). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-91693-9_6
- Costa, R. dos S., de Almeida, S. S., Cavalcanti, E. d'A. C., Freire, D. M. G., Moura-Nunes, N., Monteiro, M., & Perrone, D. (2021). Enzymes produced by solid state fermentation of agro-industrial by-products release ferulic acid in bioprocessed whole-wheat breads. *Food Research International*, 140, 109843. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109843>
- De la Cruz-Quiroz, R., Ascacio-Valdés, J. A., Rodríguez-Herrera, R., Roussos, S., & Aguilar, C. N. (2019). Phytopathogen Biomass as Inducer of Antifungal Compounds by *Trichoderma asperellum* Under Solid-State Fermentation. In: Singh, H., Keswani, C., Reddy, M., Sansinenea, E., García-Estrada, C. (eds) *Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms*. (pp. 113–124). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-5862-3_6
- Dolman, B. M., Wang, F., & Winterburn, J. B. (2019). Integrated production and separation of biosurfactants. *Process Biochemistry*, 83, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.05.002>
- El-Housseiny, G. S., Aboshanab, K. M., Aboulwafa, M. M., & Hassouna, N. A. (2019). Rhamnolipid production by a gamma ray-induced *Pseudomonas aeruginosa* mutant under solid state fermentation. *AMB Express*, 9, 7. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0732-y>
- El-Housseiny, G. S., Ibrahim, A. A., Yassien, M. A., & Aboshanab, K. M. (2021). Production and statistical optimization of Paromomycin by *Streptomyces rimosus* NRRL 2455 in solid state fermentation. *BMC Microbiology*, 21, 34. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02093-6>
- Fang, J., Liu, Y., Huan, C., Xu, L., Ji, G., & Yan, Z. (2020). Comparison of poly- γ -glutamic acid production between sterilized and non-sterilized solid-state fermentation using agricultural waste as substrates. *Journal of Cleaner Production*, 255, 120248. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120248>
- Fang, Y., Ahmed, S., Liu, S., Wang, S., Lu, M., & Jiao, Y. (2013). Optimization of antioxidant exopolysaccharides production by *Bacillus licheniformis* in solid state fermentation. *Carbohydrate Polymers*, 98(2), 1377–1382. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.07.076>

- Fent, K., Weston, A. A., & Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, 76(2), 122–159. <https://doi.org/10.1016/j.AQUATOX.2005.09.009>
- Finkler, A. T. J., Biz, A., Pitol, L. O., Medina, B. S., Luithardt, H., Luz, L. F. de L., Krieger, N., & Mitchell, D. A. (2017). Intermittent agitation contributes to uniformity across the bed during pectinase production by *Aspergillus niger* grown in solid-state fermentation in a pilot-scale packed-bed bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 121, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2017.01.011>
- Finkler, A. T. J., Weber, M. Z., Fuchs, G. A., Scholz, L. A., de Lima L. Jr, L. F., Krieger, N., Mitchell, D. A., & Jorge, L. M. de M. (2021). Estimation of heat and mass transfer coefficients in a pilot packed-bed solid-state fermentation bioreactor. *Chemical Engineering Journal*, 408, 127246. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.127246>
- Forsan, C. F., Marin, D. F. C., & Brienzo, M. (2025). Revealing Antioxidant Activity of Cellooligosaccharides and Xylooligosaccharides from Banana Leaves, Pseudostem and Guava Seed Cake. *AppliedChem*, 5(3), 21. <https://doi.org/10.3390/appliedchem5030021>
- Gao, H., Lu, C., Wang, H., Wang, L., Yang, Y., Jiang, T., Li, S., Xu, D., & Wu, L. (2020). Production exopolysaccharide from *Kosakonia cowanii* LT-1 through solid-state fermentation and its application as a plant growth promoter. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 955–964. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.209>
- Ghormade, V., Pathan, E. K., & Deshpande, M. V. (2017). Can fungi compete with marine sources for chitosan production? *International Journal of Biological Macromolecules*, 104 (Part B), 1415–1421. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.112>
- Ghribi, D., Abdelkefi-Mesrati, L., Mnif, I., Kammoun, R., Ayadi, I., Saadaoui, I., Maktouf, S., & Chaabouni-Ellouze, S. (2012). Investigation of Antimicrobial Activity and Statistical Optimization of *Bacillus subtilis* SPB1 Biosurfactant Production in Solid-State Fermentation. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, 373682. <https://doi.org/10.1155/2012/373682>
- Gong, Z., He, Q., Che, C., Liu, J., & Yang, G. (2020). Optimization and scale-up of the production of rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa* in solid-state fermentation using high-density polyurethane foam as an inert support. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 43(3), 385–392. <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02234-2>
- Hadj Saadoun, J., Bertani, G., Levante, A., Vezzosi, F., Ricci, A., Bernini, V., & Lazzi, C. (2021). Fermentation of Agri-Food Waste: A Promising Route for the Production of Aroma Compounds. *Foods*, 10(4), 707. <https://doi.org/10.3390/foods10040707>
- Hamed, H., Moradi, S., Hudson, S. M., & Tonelli, A. E. (2018). Chitosan based hydrogels and their applications for drug delivery in wound dressings: A review. *Carbohydrate Polymers*, 199, 445–460. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.114>
- He, R., Ju, X., Yuan, J., Wang, L., Girgih, A. T., & Aluko, R. E. (2012). Antioxidant activities of rapeseed peptides produced by solid state fermentation. *Food Research International*, 49(1), 432–438. <https://doi.org/10.1016/j.JFOODRES.2012.08.023>
- Hong, S.-Y., Lee, D.-H., Lee, J.-H., Haque, M. A., & Cho, K.-M. (2021). Five Surfactin Isomers Produced during Cheonggukjang Fermentation by *Bacillus pumilus* HY1 and Their Properties. *Molecules*, 26(15), 4478. <https://doi.org/10.3390/molecules26154478>
- Ijadi Bajestani, M., Mousavi, S. M., Mousavi, S. B., Jafari, A., & Shojaosadati, S. A. (2018). Purification of extra cellular poly- γ -glutamic acid as an antibacterial agent using anion exchange chromatography. *International Journal of Biological Macromolecules*, 113, 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.082>
- Inoue, M., Sumii, Y., & Shibata, N. (2020). Contribution of Organofluorine Compounds to Pharmaceuticals. *ACS Omega*, 5(19), 10633–10640. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00830>

- Jain, A., Duvvuri, L. S., Farah, S., Beyth, N., Domb, A. J., & Khan, W. (2014). Antimicrobial Polymers. *Advanced Healthcare Materials*, 3(12), 1969–1985. <https://doi.org/10.1002/adhm.201400418>
- Jiménez-Peñalver, P., Rodríguez, A., Daverey, A., Font, X., & Gea, T. (2019). Use of wastes for sophorolipids production as a transition to circular economy: state of the art and perspectives. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 18(3), 413–435. <https://doi.org/10.1007/s11157-019-09502-3>
- Joshi, V. K., & Sandhu, D. K. (1996). Preparation and evaluation of an animal feed byproduct produced by solid-state fermentation of apple pomace. *Bioresource Technology*, 56(2–3), 251–255. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(96\)00040-5](https://doi.org/10.1016/0960-8524(96)00040-5)
- Kagliwal, L. D., Survase, S. A., & Singhal, R. S. (2009). A novel medium for the production of cephamycin C by *Nocardia lactamdurans* using solid-state fermentation. *Bioresource Technology*, 100(9), 2600–2606. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.046>
- Kardos, N., & Demain, A. L. (2011). Penicillin: the medicine with the greatest impact on therapeutic outcomes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 92(4), 677–687. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3587-6>
- Kleekayai, T., & Suntornsuk, W. (2011). Production and characterization of chitosan obtained from *Rhizopus oryzae* grown on potato chip processing waste. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(5), 1145–1154. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0561-x>
- Krishania, M., Sindhu, R., Binod, P., Ahluwalia, V., Kumar, V., Sangwan, R. S., & Pandey, A. (2018). Chapter 5-Design of Bioreactors in Solid-State Fermentation. In: Pandey, A., Larroche, C., & Soccol, C. R. (eds.). *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 83–96). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63990-5.00005-0>
- Kumar, V., Ahluwalia, V., Saran, S., Kumar, J., Patel, A. K., & Singhania, R. R. (2021). Recent developments on solid-state fermentation for production of microbial secondary metabolites: Challenges and solutions. *Bioresource Technology*, 323, 124566. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124566>
- Kurihara, I., Ishii, Y., Kirimura, K., & Kino, K. (2008). Enhancement of poly(arginyl-histidine) production by *Verticillium kibiense* E18. *Biochemical Engineering Journal*, 42(3), 270–275. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.07.007>
- Li, S., Jin, Z., Hu, D., Yang, W., Yan, Y., Nie, X., Lin, J., Zhang, Q., Gai, D., Ji, Y., & Chen, X. (2020). Effect of solid-state fermentation with *Lactobacillus casei* on the nutritional value, isoflavones, phenolic acids and antioxidant activity of whole soybean flour. *LWT*, 125, 109264. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109264>
- Lopes, M., Miranda, S. M., Costa, A. R., Pereira, A. S., & Belo, I. (2022). *Yarrowia lipolytica* as a biorefinery platform for effluents and solid wastes valorization – challenges and opportunities. *Critical Reviews in Biotechnology*, 42(2), 163–183. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1931016>
- Ma, Y. C., Huang, P., Wang, X. L., & Liu, G. Q. (2023). Multi-omics analysis unravels positive effect of rotenone on the cordycepin biosynthesis in submerged fermentation of *Cordyceps militaris*. *Bioresource Technology*, 373, 128705. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2023.128705>
- Mahanta, N., Gupta, A., & Khare, S. K. (2008). Production of protease and lipase by solvent tolerant *Pseudomonas aeruginosa* PseA in solid-state fermentation using *Jatropha curcas* seed cake as substrate. *Bioresource Technology*, 99(6), 1729–1735. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.03.046>
- Małgorzata, W., Joanna, H., & Mariusz Konrad, P. (2015). Effect of solid-state fermentation with *Rhizopus oligosporus* on bioactive compounds and antioxidant capacity of raw and roasted

- buckwheat groats. *Italian Journal of Food Science*, 27(4), 424-431. <https://doi.org/10.14674/1120-1770/ijfs.v373>
- Manfredini, P. G., Cavanhi, V. A. F., Costa, J. A. V., & Colla, L. M. (2021). Bioactive peptides and proteases: characteristics, applications and the simultaneous production in solid-state fermentation. *Biocatalysis and Biotransformation*, 39(5), 360–377. <https://doi.org/10.1080/10242422.2020.1849151>
- Mantzouridou, F. T., Paraskevopoulou, A., & Lalou, S. (2015). Yeast flavour production by solid state fermentation of orange peel waste. *Biochemical Engineering Journal*, 101, 1–8. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2015.04.013>
- Martău, G. A., Călinoiu, L.-F., & Vodnar, D. C. (2021). Bio-vanillin: Towards a sustainable industrial production. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 579–592. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.059>
- Martínez-Avila, O., Muñoz-Torrero, P., Sánchez, A., Font, X., & Barrena, R. (2021). Valorization of agro-industrial wastes by producing 2-phenylethanol via solid-state fermentation: Influence of substrate selection on the process. *Waste Management*, 121, 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.12.036>
- Martínez-Avila, O., Sánchez, A., Font, X., & Barrena, R. (2020). 2-phenylethanol (rose aroma) production potential of an isolated *Pichia kudriavzevii* through solid-state fermentation. *Process Biochemistry*, 93, 94–103. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.03.023>
- Martínez, O., Sánchez, A., Font, X., & Barrena, R. (2018). Bioproduction of 2-phenylethanol and 2-phenethyl acetate by *Kluyveromyces marxianus* through the solid-state fermentation of sugarcane bagasse. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(11), 4703–4716. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8964-y>
- Matkawala, F., Nighojkar, S., Kumar, A., & Nighojkar, A. (2021). Microbial alkaline serine proteases: Production, properties and applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(4), 63. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03036-z>
- Mehmood, T., Ahmed, S., Waseem, R., Saeed, S., Ahmed, W., Irfan, M., & Ullah, A. (2022). Valorization of Fruit Peels into Biovanillin and Statistical Optimization of Process Using *Enterobacter hormaechei* through Solid-State Fermentation. *Fermentation*, 8(2), 40. <https://doi.org/10.3390/fermentation8020040>
- Mehmood, T., Saleem, F., Javed, S., Nawaz, S., Sultan, A., Safdar, A., Ullah, A., Waseem, R., Saeed, S., Abbas, M., Bilal, M., Ahmad, M. M., & Firyal, S. (2022). Biotransformation of Agricultural By-Products into Biovanillin through Solid-State Fermentation (SSF) and Optimization of Different Parameters Using Response Surface Methodology (RSM). *Fermentation*, 8(5), 206. <https://doi.org/10.3390/fermentation8050206>
- Mendez-Carmona, J. Y., Ramírez-Guzman, K. N., Ascacio-Valdes, J. A., Sepulveda, L., & Aguilar, C. N. (2022). Solid-state fermentation for recovery of carotenoids from tomato waste. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 80, 103108. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103108>
- Mierzejewska, J., Dąbkowska, K., Chreptowicz, K., & Sokołowska, A. (2019). Hydrolyzed corn stover as a promising feedstock for 2-phenylethanol production by nonconventional yeast. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 94(3), 777–784. <https://doi.org/10.1002/jctb.5823>
- Mizumoto, S., Hirai, M., & Shoda, M. (2006). Production of lipopeptide antibiotic iturin A using soybean curd residue cultivated with *Bacillus subtilis* in solid-state fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72(5), 869–875. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0389-3>
- Nalini, S., Parthasarathi, R., & Prabudoss, V. (2016). Production and characterization of lipopeptide from *Bacillus cereus* SNAU01 under solid state fermentation and its potential application as

- anti-biofilm agent. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 5, 123–132. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.01.007>
- Nooman, M. U., Mahmoud, M. H., Al-kashef, A. S., & Rashad, M. M. (2017). Hypocholesterolemic impact of newly isolated sophorolipids produced by microbial conversion of safflower oil cake in rats fed high-fat and cholesterol diet. *Grasas y Aceites*, 68(3), e212. <https://doi.org/10.3989/gya.0219171>
- Nwe, N., Chandkrachang, S., Stevens, W. F., Maw, T., Tan, T. K., Khor, E., & Wong, S. M. (2002). Production of fungal chitosan by solid state and submerged fermentation. *Carbohydrate Polymers*, 49(2), 235–237. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(01\)00355-1](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(01)00355-1)
- Oiza, N., Moral-Vico, J., Sánchez, A., Oviedo, E. R., & Gea, T. (2022). Solid-State Fermentation from Organic Wastes: A New Generation of Bioproducts. *Processes*, 10(12), 2675. <https://doi.org/10.3390/pr10122675>
- Omogbai, B., & Ikenebomeh, M. (2013). Solid-state fermentative production and bioactivity of fungal chitosan. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 3(2), 172–175. <https://office2.jmbfs.org/index.php/JMBFS/article/view/7063>
- Osińska-Jaroszuk, M., Jarosz-Wilkolazka, A., Jaroszuk-Ścisł, J., Szałapata, K., Nowak, A., Jaszek, M., Ozimek, E., & Majewska, M. (2015). Extracellular polysaccharides from Ascomycota and Basidiomycota: production conditions, biochemical characteristics, and biological properties. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(12), 1823–1844. <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1937-8>
- Pandey, A. (2003). Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2-3), 81–84. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(02\)00121-3](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00121-3)
- Pandey, A., Soccol, C. R., & Mitchell, D. (2000). New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products. *Process Biochemistry*, 35(10), 1153–1169. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(00\)00152-7](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(00)00152-7)
- Paul, V., Rai, D. C., T.S, R. L., Srivastava, S. K., & Tripathi, A. D. (2021). A comprehensive review on vanillin: its microbial synthesis, isolation and recovery. *Food Biotechnology*, 35(1), 22–49. <https://doi.org/10.1080/08905436.2020.1869039>
- Perez, C. L., Casciatori, F. P., & Thoméo, J. C. (2019). Strategies for scaling-up packed-bed bioreactors for solid-state fermentation: The case of cellulolytic enzymes production by a thermophilic fungus. *Chemical Engineering Journal*, 361, 1142–1151. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.12.169>
- Prajapati, V. S., Trivedi, U. B., & Patel, K. C. (2015). A statistical approach for the production of thermostable and alkophilic alpha-amylase from *Bacillus amyloliquefaciens* KCP2 under solid-state fermentation. *3 Biotech*, 5(2), 211–220. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0213-1>
- Putri, D. N., Khootama, A., Perdani, M. S., Utami, T. S., & Hermansyah, H. (2020). Optimization of *Aspergillus niger* lipase production by solid state fermentation of agro-industrial waste. *Energy Reports*, 6(Supplement 1), 331–335. <https://doi.org/10.1016/J.EGYR.2019.08.064>
- Raafat, D., von Bargen, K., Haas, A., & Sahl, H.-G. (2008). Insights into the Mode of Action of Chitosan as an Antibacterial Compound. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(12), 3764–3773. <https://doi.org/10.1128/AEM.00453-08>
- Ramos Sánchez, L. B., Cujilema-Quitio, M. C., Julian-Ricardo, M. C., Cordova, J., & Fickers, P. (2015). Fungal Lipase Production by Solid-State Fermentation. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, 05(02), 1000203. <https://www.hilarispublisher.com/open-access/fungal-lipase-production-by-solidstate-fermentation-2155-9821.1000203.pdf>
- Rashad, M. M., Nooman, M. U., Ali, M. M., Al-kashef, A. S., & Mahmoud, A. E. (2014). Production, characterization and anticancer activity of *Candida bombicola* sophorolipids by means of solid

- state fermentation of sunflower oil cake and soybean oil. *Grasas y Aceites*, 65(2), e017. <https://doi.org/10.3989/gya.098413>
- Raul, D., Biswas, T., Mukhopadhyay, S., Kumar Das, S., & Gupta, S. (2014). Production and partial purification of alpha amylase from *Bacillus subtilis* (mtcc 121) using solid state fermentation. *Biochemistry Research International*, 2014, 68141. <https://doi.org/10.1155/2014/568141>
- Ravi Kumar, M. N. V. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, 46(1), 1–27. [https://doi.org/10.1016/S1381-5148\(00\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00038-9)
- Raza, Z. A., Shahzad, Q., Rehman, A., Taqi, M., & Ayub, A. (2022). Biosurfactants in the sustainable eradication of SARS COV-2 from the environmental surfaces. *3 Biotech*, 12(10), 273. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03320-1>
- Ribeiro, B. G., Guerra, J. M. C., & Sarubbo, L. A. (2020). Biosurfactants: Production and application prospects in the food industry. *Biotechnology Progress*, 36(5), e3030. <https://doi.org/10.1002/btpr.3030>
- Robinson, T., & Nigam, P. (2003). Bioreactor design for protein enrichment of agricultural residues by solid state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2–3), 197–203. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(02\)00132-8](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00132-8)
- Salehi, M., & Rashidinejad, A. (2025). Multifaceted Roles of Plant-Derived Bioactive Polysaccharides: A Review of Their Biological Functions, Delivery, Bioavailability, and Applications within the Food and Pharmaceutical Sectors. *International Journal of Biological Macromolecules* 290, 138855. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.138855>
- Sahariah, P., & Másson, M. (2017). Antimicrobial Chitosan and Chitosan Derivatives: A Review of the Structure–Activity Relationship. *Biomacromolecules*, 18(11), 3846–3868. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b01058>
- Shen, X., Shamshina, J. L., Berton, P., Gurau, G., & Rogers, R. D. (2016). Hydrogels based on cellulose and chitin: fabrication, properties, and applications. *Green Chemistry*, 18(1), 53–75. <https://doi.org/10.1039/C5GC02396C>
- Shen, Y., Cao, X., Tang, Z. 2025. Simultaneous Production of MK-7 and Iturin A by *Bacillus velezensis* ND. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 197, 268–287. <https://doi.org/10.1007/s12010-024-05012-3>
- Shih, I.-L., Shen, M.-H., & Van, Y.-T. (2006). Microbial synthesis of poly(ϵ -lysine) and its various applications. *Bioresource Technology*, 97(9), 1148–1159. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.08.012>
- Souza, C. E. C., Farias, M. A., Ribeiro, B. D., & Coelho, M. A. Z. (2017). Adding Value to Agro-industrial Co-products from Canola and Soybean Oil Extraction Through Lipase Production Using *Yarrowia lipolytica* in Solid-State Fermentation. *Waste and Biomass Valorization*, 8(4), 1163–1176. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9690-2>
- Steudler, S., Werner, A., & Walther, T. (2019). It Is the Mix that Matters: Substrate-Specific Enzyme Production from Filamentous Fungi and Bacteria Through Solid-State Fermentation. In Steudler, S., Werner, A., Cheng, J. (eds.) *Solid State Fermentation. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, (Vol. 169, pp. 51–81). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/10_2019_85
- Stredansky, M., & Conti, E. (1999). Xanthan production by solid state fermentation. *Process Biochemistry*, 34(6–7), 581–587. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(98\)00131-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(98)00131-9)
- Suntornsuk, W., Pochanavanich, P., & Suntornsuk, L. (2002). Fungal chitosan production on food processing by-products. *Process Biochemistry*, 37(7), 727–729. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(01\)00265-5](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(01)00265-5)

- Tabaraie, B., Ghasemian, E., Tabaraie, T., Rezazarandi, M., & Parvizi, E. (2012). Comparative evaluation of Cephalosporin-C production in solid state fermentation and submerged liquid culture. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2(1), 83–94. <https://office2.jmbfs.org/index.php/JMBFS/article/view/7189>
- Tripathi, M., Diwan, D., Shukla, A. C., Gaffey, J., Pathak, N., Dashora, K., Pandey, A., Sharma, M., Guleria, S., Varjani, S., Nguyen, Q. D., & Gupta, V. K. (2024). Valorization of dragon fruit waste to value-added bioproducts and formulations: A review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 44(6), 1061–1079. <https://doi.org/10.1080/07388551.2023.2254930>
- Try, S., De-Coninck, J., Voilley, A., Chunhieng, T., & Waché, Y. (2018). Solid state fermentation for the production of γ -decalactones by *Yarrowia lipolytica*. *Process Biochemistry*, 64, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.10.004>
- Ueno, H., Shimada, A., Suemitsu, S., Murakami, S., Kitamura, N., Wani, K., Takahashi, Y., Matsumoto, Y., Okamoto, M., Fujiwara, Y., & Ishihara, T. (2019). Comprehensive behavioral study of the effects of vanillin inhalation in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 115, 108879. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108879>
- Valdés-Velasco, L. M., Favela-Torres, E., Théâtre, A., Arguelles-Arias, A., Saucedo-Castañeda, J. G., & Jacques, P. (2022). Relationship between lipopeptide biosurfactant and primary metabolite production by *Bacillus* strains in solid-state and submerged fermentation. *Bioresource Technology*, 345, 126556. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126556>
- Varghese, S. A., Siengchin, S., & Parameswaranpillai, J. (2020). Essential oils as antimicrobial agents in biopolymer-based food packaging - A comprehensive review. *Food Bioscience*, 38, 100785. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100785>
- Vastrad, B. M., & Neelagund, S. E. (2012). Optimization of Process Parameters for Rifamycin B Production Under Solid State Fermentation from *Amicolatopsis Mediterranean* MTCC 14. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 4(2), 101–108. <https://innovareacademics.in/journal/ijcpr/Issues/Vol4Issue2/512.pdf>
- Wan, C., Fan, X., Lou, Z., Wang, H., Olatunde, A., & Rengasamy, K. R. R. (2022). Iturin: cyclic lipopeptide with multifunction biological potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(29), 7976–7988. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1922355>
- Wang, Y., Xie, M., Ma, G., Fang, Y., Yang, W., Ma, N., Fang, D., Hu, Q., & Pei, F. (2019). The antioxidant and antimicrobial activities of different phenolic acids grafted onto chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 225, 115238. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115238>
- Wen, T.-C., Li, G.-R., Kang, J.-C., Kang, C., & Hyde, K. D. (2014). Optimization of Solid-state Fermentation for Fruiting Body Growth and Cordycepin Production by *Cordyceps militaris*. *Chiang Mai Journal of Science* 41(4), 858–872. <https://epg.science.cmu.ac.th/ejournal/journal-detail.php?id=5120>
- Wu, Y.-S., Ngai, S.-C., Goh, B.-H., Chan, K.-G., Lee, L.-H., & Chuah, L.-H. (2017). Anticancer Activities of Surfactin and Potential Application of Nanotechnology Assisted Surfactin Delivery. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 1–22. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00761>
- Xia, J., Xu, H., Feng, X., Xu, Z., & Chi, B. (2013). Poly(l-diaminopropionic acid), a novel non-proteinic amino acid oligomer co-produced with poly(ϵ -l-lysine) by *Streptomyces albulus* PD-1. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(17), 7597–7605. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4936-4>
- Xu, D., Yao, H., Xu, Z., Wang, R., Xu, Z., Li, S., Feng, X., Liu, Y., & Xu, H. (2017). Production of ϵ -poly-lysine by *Streptomyces albulus* PD-1 via solid-state fermentation. *Bioresource Technology*, 223, 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.032>
- Yao, D., Ji, Z., Wang, C., Qi, G., Zhang, L., Ma, X., & Chen, S. (2012). Co-producing iturin A and poly- γ -glutamic acid from rapeseed meal under solid state fermentation by the newly isolated

- Bacillus subtilis* strain 3-10. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(3), 985–991. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0896-y>
- Yilmaz Atay, H. (2019). Antibacterial Activity of Chitosan-Based Systems. In: Jana, S., Jana, S. (eds) *Functional Chitosan* (pp. 457–489). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0263-7_15
- Zeng, X., Yue, C., Ding, Z., Wang, L., Su, Z., Zeng, H., Zhang, B., Li, F., & Zhu, M. (2022). Waste cooking oil: New efficient carbon source for natamycin production by *Streptomyces gilvosporeus* Z8. *Process Biochemistry*, 118, 294–306. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.04.028>
- Zeng, Y.-J., Yang, H.-R., Wang, H.-F., Zong, M.-H., & Lou, W.-Y. (2019a). Immune enhancement activity of a novel polysaccharide produced by *Dendrobium officinale* endophytic fungus *Fusarium solani* DO7. *Journal of Functional Foods*, 53, 266–275. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.12.038>
- Zeng, Y.-J., Yang, H.-R., Wu, X.-L., Peng, F., Huang, Z., Pu, L., Zong, M.-H., Yang, J.-G., & Lou, W.-Y. (2019b). Structure and immunomodulatory activity of polysaccharides from *Fusarium solani* DO7 by solid-state fermentation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 137, 568–575. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.019>
- Zhao, H., Shao, D., Jiang, C., Shi, J., Li, Q., Huang, Q., Rajoka, M. S. R., Yang, H., & Jin, M. (2017). Biological activity of lipopeptides from *Bacillus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(15), 5951–5960. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8396-0>
- Zheng, L., Yu, X., Wei, C., Qiu, L., Yu, C., Xing, Q., Fan, Y., & Deng, Z. (2020). Production and characterization of a novel alkaline protease from a newly isolated *Neurospora crassa* through solid-state fermentation. *LWT*, 122, 108990. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108990>

2026 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Factores importantes para la expresión de proteínas recombinantes en *Escherichia coli*: una revisión

Important factors involved in the expression of recombinant proteins in *Escherichia coli*: a review

Diana Lizzet Murrieta-León^{1,2}, Angel Ramos-Ligonio², y Aracely López-Monteon^{2*}

¹ Doctorado en Ciencias Biomédicas, Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México

² LADISER Inmunología y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, Orizaba, Veracruz, México

*Correspondencia: Correo electrónico: aralopez@uv.mx (Aracely López-Monteon)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v20i1.2160>

Recibido: 23 de noviembre de 2025; Aceptado: 18 de mayo de 2026

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editora de Sección: Dra. Susana Aideé González-Chávez

Resumen

El sistema de expresión en *Escherichia coli* se mantiene como el más utilizado para la producción de proteínas recombinantes debido a su bajo costo, su rápido crecimiento a alta densidad celular, su genética ampliamente caracterizada y la disponibilidad de múltiples herramientas que permiten alcanzar altos niveles de expresión heteróloga. No obstante, este sistema presenta limitaciones importantes, como la formación de cuerpos de inclusión, la ausencia de modificaciones postraduccionales, las dificultades en la correcta formación de enlaces disulfuro y los bajos rendimientos en la expresión de proteínas tóxicas o de membrana. Para superar estas limitaciones, se han desarrollado estrategias que incluyen el uso de cepas y vectores modificados genéticamente. En este contexto, se realizó una revisión bibliográfica orientada por la siguiente pregunta: ¿qué factores influyen en la expresión de proteínas recombinantes en *Escherichia coli*? La búsqueda se realizó en PubMed, Scopus, Web of Science y Google Scholar. Se incluyeron artículos en inglés y español publicados entre 2015 y 2026, correspondientes a estudios originales y revisiones; se excluyeron publicaciones fuera de este periodo, en otros idiomas o sin acceso a texto completo. En conjunto, esta revisión aborda los principales factores y estrategias para optimizar la expresión de proteínas heterólogas en sistemas procariotas.

Palabras clave: *E. coli*, proteínas recombinantes, plásmido, ADN

Abstract

The *Escherichia coli* expression system remains the most widely used for recombinant protein production due to its low cost, rapid growth at high cell density, extensive genetic characterization, and the availability of multiple tools that enable high levels of heterologous expression. However, this system has significant limitations, including the formation of inclusion bodies, the absence of post-translational modifications, difficulties in forming disulfide bonds correctly, and low yields in the expression of toxic or membrane proteins. To overcome these limitations, strategies have been developed that include the use of genetically modified strains and vectors. In this context, a literature review was conducted guided by the question: what factors influence the expression of recombinant proteins in *Escherichia coli*? The search was carried out in PubMed, Scopus, Web of Science and Google Scholar. Articles in English and Spanish published between 2015 and 2026 were included, corresponding to original studies and reviews; publications outside this period, in other languages or without access to full text, were excluded. Therefore, this review addresses the main factors and strategies for optimizing the expression of heterologous proteins in prokaryotic systems.

Keywords: *E. coli*, recombinant proteins, plasmid, DNA

1. Introducción

Las proteínas son biomoléculas importantes que desempeñan diversas funciones en los sistemas biológicos, desde las enzimáticas hasta las de transporte, homeostáticas y estructurales. El estudio de estas y sus diferentes aplicaciones biotecnológicas solía ser una actividad complicada, ya que, para su obtención, se utilizaban fuentes naturales que dificultaban los procesos de extracción y purificación, lo que daba lugar a bajos rendimientos (Ojima-Kato, 2025). Sin embargo, a principios de la década de 1970, Herbert Boyer y Stanley Cohen desarrollaron la tecnología del ADN recombinante, que revolucionó los procesos de clonación y expresión génica, permitiendo la obtención de proteínas recombinantes (PR) de interés biológico en cantidades suficientes para su estudio y aplicación en diversos sectores, como la biomedicina, la industria farmacéutica y la química. La insulina fue el primer producto terapéutico obtenido mediante la tecnología de ADN recombinante para tratar la diabetes (Home, 2021; Yang et al., 2025). En 1980, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) aprobó el uso clínico de la insulina recombinante para el tratamiento de la diabetes, lo que abrió nuevas oportunidades para el desarrollo de PR con fines terapéuticos (Íncir y Kaplan, 2025). Desde entonces, se han desarrollado diferentes productos biotecnológicos con fines terapéuticos como la hormona del crecimiento humana, el interferón humano y el factor VIII antihemofílico, utilizando como células huésped tanto eucariotas como procariotas (Ouyang et al., 2025; Yang et al., 2025).

Actualmente, los sistemas de expresión más utilizados para la producción de PR incluyen huéspedes procariotas, como las bacterias *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) y *Escherichia coli* (*E. coli*), así como sistemas eucariotas, como las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) y *Komagataella phaffii* (antes *Pichia pastoris*). A pesar de esta diversidad, *E. coli* continúa siendo la célula huésped más empleada debido a sus múltiples ventajas, entre las que destacan su rápido crecimiento en fuentes de carbono de bajo costo, su facilidad de manipulación genética y el amplio conocimiento de su biología molecular y bioquímica. Además, se dispone de una amplia variedad de promotores, vectores y cepas bacterianas genéticamente modificadas que favorecen la producción de PR solubles y

biológicamente activas (Herynek et al., 2025). Sin embargo, la principal limitación de este sistema es la ausencia de modificaciones postraduccionales, como la glicosilación, lo que puede dar lugar a proteínas mal plegadas (Chen et al., 2025). Ahora bien, uno de los principales desafíos asociados al uso de sistemas procariotas basados en *E. coli* es la sobreexpresión de proteínas heterólogas, que con frecuencia conduce a la formación de cuerpos de inclusión (*inclusion bodies*, IB). Estas estructuras corresponden a agregados proteicos densos e insolubles que se acumulan en el citoplasma bacteriano como consecuencia de un plegamiento inadecuado (Kimura et al., 2025). La presencia de IB complica significativamente los procesos de recuperación y purificación de la proteína de interés, ya que requiere etapas adicionales de solubilización, desnaturalización y replegamiento *in vitro*. Sin embargo, estos procesos suelen ser ineficientes y, en muchos casos, se traducen en una pérdida parcial o total de la actividad biológica de la PR (de Marco, 2025). No obstante, estas limitaciones pueden mitigarse mediante la optimización de diversos parámetros que abarcan desde la selección de la célula huésped hasta el ajuste de las condiciones de crecimiento y expresión. En este sentido, resulta fundamental considerar factores como la composición del medio de cultivo, el tipo y la concentración del agente inductor, el tiempo de inducción y la temperatura de expresión. Asimismo, en el diseño de la construcción génica, es importante seleccionar adecuadamente el vector de expresión y evaluar el uso de proteínas de fusión que faciliten tanto la expresión como la purificación de la PR. Por lo tanto, en la presente revisión se describen las características de *E. coli* como célula huésped, así como el impacto de los distintos parámetros involucrados en la expresión heteróloga de las PR en este sistema procariota, además de las estrategias desarrolladas para optimizar su producción (Ojima-Kato, 2025).

A pesar de su uso extendido como plataforma de expresión, *E. coli* continúa enfrentando limitaciones significativas en el plegamiento proteico, la ausencia de modificaciones postraduccionales y la baja capacidad predictiva para la expresión heteróloga. Asimismo, la creciente complejidad de las PR de interés biomédico ha puesto de manifiesto la necesidad de transitar de enfoques empíricos a estrategias más racionales e integrativas, que incorporen herramientas de biología sintética e inteligencia artificial (Yang et al., 2025). En este contexto, resulta necesaria una revisión crítica que analice tanto las limitaciones persistentes como las nuevas aproximaciones orientadas a optimizar este sistema de expresión.

En el presente trabajo se realizó una revisión bibliográfica de tipo narrativo, con un enfoque sistemático, con el objetivo de identificar y analizar los principales factores que influyen en la expresión de PR en *E. coli*. La revisión se estructuró en torno a la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuáles son los principales factores que afectan la eficiencia de la expresión de proteínas recombinantes en *E. coli* y cómo inciden en la solubilidad y el rendimiento proteico?

La búsqueda bibliográfica se realizó en las bases de datos PubMed, Scopus, Web of Science y Google Scholar. Se emplearon palabras clave en inglés, incluyendo: "recombinant protein expression", "*Escherichia coli*", "protein solubility", "codon usage", "expression systems", "protein folding" e "inclusion bodies". La estrategia de búsqueda general se construyó mediante operadores booleanos como AND/OR ("recombinant protein expression" AND "*Escherichia coli*") AND ("protein solubility" OR "inclusion bodies" OR "protein folding") AND ("codon usage" OR "expression optimization" OR "expression systems"), con ajustes específicos según la sintaxis de cada base de datos.

Se incluyeron artículos publicados en los últimos diez años (2015–2026), en inglés o español, excepto los artículos seminales necesarios para contextualizar, correspondientes a artículos originales y revisiones científicas enfocados en la expresión de proteínas recombinantes en *E. coli*. Se excluyeron

estudios fuera de este periodo, en otros idiomas, resúmenes sin acceso a texto completo y aquellos centrados exclusivamente en otros sistemas de expresión sin análisis comparativo.

2. Proteínas recombinantes: componentes principales y aplicaciones biotecnológicas

Se denominan proteínas recombinantes (PR) a las proteínas expresadas en sistemas heterólogos, es decir, en organismos distintos del de su origen. La selección de la célula huésped depende de la complejidad y de las características de la proteína en cuestión (Schütz et al., 2023).

La expresión de proteínas en sistemas heterólogos tiene como objetivo producir a gran escala proteínas correctamente plegadas, solubles y con actividad biológica. Las PR se utilizan como base para la obtención de productos biofarmacéuticos, tales como anticuerpos monoclonales, proteínas de fusión, hormonas, vacunas, factores de coagulación, enzimas y péptidos, entre otros, por lo que se consideran fundamentales en el tratamiento de enfermedades importantes (Luo et al., 2025). Según reportes de mercado, el sector de las PR ha mostrado un crecimiento sostenido impulsado por su amplia aplicación en la industria biofarmacéutica, el desarrollo de biológicos y la investigación biomédica (Ojima-Kato, 2025).

La producción de PR depende fundamentalmente de la interacción entre dos componentes clave: la célula huésped y el vector de expresión. La compatibilidad entre ambos es esencial para garantizar el adecuado reconocimiento de los elementos regulatorios del vector por parte de la maquinaria celular de la célula huésped, lo que permite la correcta replicación del material genético, así como la eficiente transcripción y traducción del gen de interés. En este contexto, factores como el origen de replicación, los promotores, los sitios de unión al ribosoma y las señales de terminación deben optimizarse y adaptarse al sistema huésped para maximizar la eficiencia de expresión y la producción de la proteína recombinante (Pouresmaeil y Azizi-Dargahlou, 2023).

2.1 Célula huésped

La selección de la célula huésped representa un paso crítico en la expresión de PR, ya que determina en gran medida la eficiencia y la calidad de la proteína final. Esta elección depende de múltiples factores, entre ellos el costo de producción, la fuente del gen heterólogo, la aplicación biotecnológica de la proteína, las características de la célula huésped y, principalmente, la complejidad estructural de la proteína recombinante objetivo (Eastwood et al., 2023). Durante muchos años se han utilizado células eucariotas y procariotas como sistemas de expresión de PR. Los sistemas eucariotas se utilizan principalmente para proteínas de mayor tamaño y complejidad estructural (>50 kDa). Estos sistemas comprenden microorganismos como los hongos filamentosos, levaduras, células de insecto, células de mamíferos y células vegetales. Entre ellos, las levaduras *S. cerevisiae* y *K. phaffii* representan alternativas debido a su bajo costo de producción, a su alta tasa de crecimiento y a la ausencia de endotoxinas, además de su capacidad para realizar modificaciones postraduccionales importantes en la producción de PR con fines biotecnológicos (Barone et al., 2023; Yang et al., 2024; Under y Dagci, 2024).

Por otro lado, las células de mamífero como CHO y HEK293 son consideradas como el estándar para la producción de proteínas terapéuticas, ya que permiten una glicosilación similar a la humana. Sin embargo, presentan limitaciones asociadas a su lento crecimiento, elevado costo y variabilidad en la calidad del producto final (Hu et al., 2018; Tihanyi y Nyitray, 2020; Fu et al., 2024), estas limitaciones se pueden superar utilizando cepas de *K. phaffii* como SuperMan5 debido a diversas ventajas en términos de eficiencia, costo y escalabilidad. En primer lugar, *K. phaffii* presenta un crecimiento rápido y puede alcanzar densidades celulares altas en medios de cultivo relativamente simples y de bajo costo, lo que reduce significativamente los costos de producción en comparación con los sistemas basados en células CHO, que requieren medios de cultivo complejos y condiciones de cultivo más estrictas. Además, este sistema permite alcanzar altos niveles de expresión de PR y una secreción eficiente hacia el medio extracelular, lo que facilita su recuperación y purificación. A diferencia de las bacterias, *K. phaffii* es un organismo eucariota capaz de realizar ciertas modificaciones postraduccionales, como la formación de enlaces disulfuro y la glicosilación, lo cual resulta esencial para la producción de proteínas funcionales (Vijayakumar y Venkataraman, 2024).

Para la producción de proteínas de menor tamaño (<30 kDa), los sistemas procariotas, como las bacterias *E. coli* y *B. subtilis*, han sido ampliamente utilizados. No obstante, presentan diversas limitaciones, entre las que destacan la ausencia de modificaciones postraduccionales, como la glicosilación, la dificultad para expresar proteínas tóxicas y la formación de cuerpos de inclusión derivados de un plegamiento proteico inadecuado (Rosano et al., 2019; Beygmoradi et al., 2023; Jiang et al., 2024). El sistema de *B. subtilis* ofrece ventajas como la ausencia de membrana externa y lipopolisacáridos (LPS), también llamados endotoxinas, lo que facilita el proceso de secreción de PR; además, *B. subtilis* es considerada segura por la FDA de acuerdo con el estatus de Generalmente Reconocido como Seguro (GRAS) (Cai et al., 2019; Neef et al., 2021; Nguyen y Phan, 2022; Gan et al., 2025).

La selección inadecuada de la célula huésped puede comprometer tanto el rendimiento como la calidad del producto final. Entre las principales consecuencias se incluyen el plegamiento incorrecto de la proteína, la formación de agregados insolubles, la ausencia o la alteración de modificaciones postraduccionales y, en consecuencia, la pérdida de actividad biológica. Asimismo, ciertos sistemas pueden resultar ineficientes para la expresión de proteínas complejas, de membrana o potencialmente tóxicas, lo que limita su aplicabilidad biotecnológica.

En sistemas procariotas como *E. coli*, uno de los principales desafíos asociados a la sobreexpresión de proteínas heterólogas es la formación de IB, que corresponden a agregados proteicos densos e insolubles derivados de un plegamiento inadecuado. Si bien estos agregados pueden proteger a la proteína de la degradación proteolítica, su presencia dificulta la obtención de una proteína funcional.

Para abordar estas limitaciones, se han desarrollado diversas estrategias orientadas tanto a prevenir la formación de IB como a recuperar proteínas funcionales a partir de ellos. Entre las estrategias preventivas destacan la optimización de las condiciones de expresión (temperatura, concentración del inductor y velocidad de síntesis proteica), el uso de cepas modificadas, la expresión de chaperonas y el uso de proteínas de fusión que favorecen la solubilidad. Por otro lado, las estrategias de recuperación incluyen el uso de agentes desnaturizantes (como urea o guanidina), seguidas de protocolos de replegamiento controlado que buscan restaurar la conformación nativa de la proteína.

A pesar de estas limitaciones, *E. coli* continúa siendo una de las plataformas más utilizadas por su versatilidad y capacidad para expresar proteínas que, en otros sistemas, pueden resultar difíciles de

producir. Su rápida tasa de crecimiento, facilidad de manipulación genética y alto rendimiento de expresión la convierten en una herramienta fundamental, particularmente en etapas iniciales de producción y en aplicaciones en las que no se requieren modificaciones postraduccionales complejas. En contraste, sistemas eucariotas como levaduras o células de mamíferos ofrecen ventajas en términos de procesamiento postraduccional, pero implican mayores costos y complejidad operativa, lo que resalta la importancia de una selección racional del sistema de expresión en función de las características específicas de la proteína de interés.

2.2 Vector plasmídico

Se denomina vector plasmídico a una molécula circular de ADN diseñada para integrar en su secuencia un gen que codifica una proteína de interés. Los vectores plasmídicos son diseñados con la finalidad de que el gen sea traducido en una proteína y que tengan la capacidad de replicarse de manera independiente dentro de la célula huésped (Cantoia et al., 2021; Eskandari et al., 2024).

En los últimos años, *E. coli* se ha consolidado como uno de los sistemas más utilizados para la producción de PR. En este contexto, los vectores de expresión desempeñan un papel central en la eficiencia del proceso, en particular mediante la selección del promotor, el origen de replicación y la arquitectura del constructo. Los sistemas basados en el promotor T7, como la familia pET, continúan siendo el estándar de referencia por su capacidad para alcanzar niveles muy altos de expresión; sin embargo, esta sobreexpresión a menudo se asocia con la formación de IB y con problemas de plegamiento proteico (Herynek et al., 2025; de Marco, 2025). En contraste, sistemas como pBAD permiten un control más fino y gradual de la expresión mediante la inducción con arabinosa, lo cual resulta particularmente útil para proteínas potencialmente tóxicas o difíciles de expresar, aunque a expensas de un menor rendimiento global (Íncir y Kaplan, 2024). Asimismo, los vectores basados en promotores híbridos, como tac o trc, ofrecen un equilibrio intermedio entre nivel de expresión y control, aunque presentan niveles basales de transcripción que pueden afectar la estabilidad celular (Jayakrishnan et al., 2024).

Por otro lado, el uso de etiquetas de fusión, como GST, MBP o His-tag, ha demostrado ser una estrategia efectiva para mejorar la solubilidad y facilitar la purificación de PR, mitigando parcialmente los problemas asociados a la agregación (Chen et al., 2025). Adicionalmente, la estabilidad plasmídica y el número de copias, determinados por el origen de replicación, influyen directamente en la carga metabólica de la célula huésped y, en consecuencia, en el rendimiento del sistema, por lo que los vectores de bajo número de copias son una alternativa relevante para la expresión de proteínas tóxicas (Zainuddin et al., 2026). En conjunto, la evidencia reciente sugiere que no existe un sistema universalmente óptimo, sino que la selección del vector debe ajustarse de manera específica a las características de la proteína de interés, considerando un equilibrio entre el nivel de expresión, la solubilidad, la estabilidad y la viabilidad celular (de Marco, 2025; Ocorbin et al., 2025). En la tabla 1 se describen los principales vectores plasmídicos utilizados para la expresión de PR en *E. coli*.

En la Fig. 1 se muestra la estructura común de un vector de expresión, constituido por un promotor, un origen de replicación, un sitio de clonación múltiple (MCS, por sus siglas en inglés), una secuencia que codifica para etiquetas de afinidad o fusión, un gen marcador de selección (resistencia a un antibiótico), una secuencia terminadora y una secuencia para la eliminación de la etiqueta de fusión (Chen et al., 2024; Eskandari et al., 2024).

Tabla 1. Características comparativas de los vectores de expresión utilizados para la producción de proteínas recombinantes en *E. coli*.

Table 1. Comparative features of expression vectors used for recombinant protein production in *E. coli*

Plásmido	Promotor	Capacidad de inserto	No. de copias	Nivel de expresión	Ventajas	Limitaciones
Estabilidad moderada						
pET	T7	≈5-10 kb	Alto	Muy alto	Expresión masiva, control inducible (IPTG), compatible con etiquetas	Cuerpos de inclusión, toxicidad
Vectores His-tag (derivados de pET)	T7	≈5-10 kb	Alto	Alto-Muy alto	Purificación sencilla (Ni-NTA), ampliamente utilizados	Posible agregación
Estabilidad alta						
pBAD	araBAD	≈5-10 kb	Medio-Alto	Medio	Regulación fina, baja expresión basal, útil para proteínas tóxicas	Menor rendimiento
pGEX	tac	≈5-10 kb	Alto	Medio	Fusión GST, facilita purificación y solubilidad	Necesidad de remover etiqueta
pMAL	tac	≈5-10 kb	Alto	Medio	Mejora solubilidad (MBP), útil para proteínas insolubles	Puede interferir con función
pTrc/pKK223	trc/tac	≈5-10 kb	Alto	Medio	Sistema simple, expresión controlada con IPTG	Expresión basal
pACYC184	Variable	≈5-10 kb	Bajo	Bajo	Menor carga celular, útil para proteínas tóxicas	Bajo rendimiento

Referencia: Tomada y modificada de Ojima-Kato et al., 2025; Chen et al., 2025; de Marco, 2025; Herynek et al., 2025; Kimura et al., 2025; Yang et al., 2025.

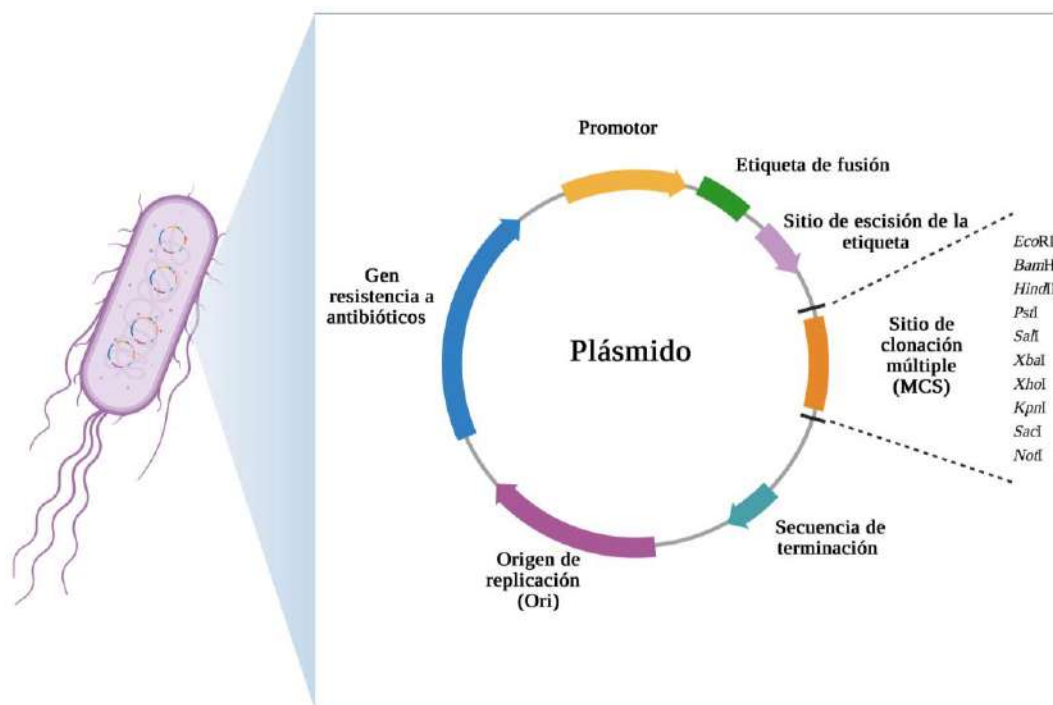


Figura 1. Componentes principales de un vector de expresión de *E. coli*. Creada en BioRender.
<https://BioRender.com/8efxv2p>

Figure 1. Main components of an *E. coli* expression vector. Created with BioRender.
<https://BioRender.com/8efxv2p>

Cada uno de los componentes que constituyen el vector de expresión modulan la eficiencia de la expresión de PR en sistemas procariotas como el de *E. coli*. Por ello, resulta importante comprender a detalle la función de cada componente del vector; en la Tabla 2 se describen brevemente las características de estos componentes (Lozano Terol et al., 2021).

Aunque los vectores de expresión han demostrado ser herramientas esenciales para la producción de proteínas recombinantes, aún persisten limitaciones que afectan tanto la eficiencia como la funcionalidad de las proteínas obtenidas. Entre los principales avances destacan la incorporación de promotores regulables, secuencias de optimización de codones y etiquetas de solubilización, lo que ha favorecido la estabilidad y el rendimiento de las proteínas en huéspedes bacterianos. Sin embargo, su eficiencia depende de factores como la célula huésped, las características estructurales y el objetivo de la proteína recombinante. En este sentido, aunque en los últimos años se han desarrollado nuevos vectores optimizados para la producción de proteínas, su elección requiere un análisis crítico que considere todos estos factores, así como su aplicación biotecnológica. Cabe destacar que los vectores no son plataformas universales.

Tabla 2. Componentes de un vector de expresión.**Table 2.** Components of an expression vector.

Componente	Característica
Origen de replicación	Secuencia de nucleótidos en el ADN donde se inicia la replicación.
Promotor	Sitio de unión de la ARN polimerasa con el ADN para iniciar la transcripción del gen que codifica para la proteína recombinante.
Etiquetas de fusión	Secuencias peptídicas o proteínas completas que se agregan al extremo amino o carboxilo terminal de las proteínas recombinantes con la finalidad de aumentar la solubilidad, replegamiento y optimizar el proceso de purificación.
Codón de iniciación	Es una secuencia de ARN de tres nucleótidos (es decir, un codón) que indica a la maquinaria celular el lugar de la cadena en el que comienza la traducción del ARN mensajero.
Sitio de escisión de proteasa	Secuencia codificante para la eliminación de etiquetas de afinidad. Por ejemplo; el factor Xa, la trombina, la proteasa SUMO y la proteasa TEV.
Sitio de clonación múltiple (MCS)	Secuencia de ADN que contiene una serie de sitios únicos de reconocimiento para enzimas de restricción para la inserción del gen de interés.
Codón de terminación	Secuencia de tres nucleótidos que indica la terminación de la síntesis proteica en la célula.
Marcador de selección	Gen que confiere resistencia a un antibiótico para la selección de las células que incorporan el vector recombinante. Por ejemplo, la ampicilina, kanamicina, cloranfenicol o tetraciclina.

Referencia: tomada y modificada de: Kaur et al., 2018; Pouresmaeil y Azizi-Dargahlou, 2023.

3. Componentes clave del vector de expresión que influyen en la producción y solubilidad proteica

3.1 Promotor de expresión

El promotor es el elemento principal del vector de expresión, ya que su función principal es regular el inicio de la transcripción génica mediante la unión de la ARN polimerasa al ADN. La fuerza del promotor es uno de los principales factores que determinan la carga metabólica y a su vez, la eficiencia de expresión, induciendo hasta más del 30 % de la expresión de las proteínas celulares totales. Un promotor idóneo debe tener una alta afinidad por la ARN polimerasa y, a su vez, minimizar la expresión basal de las proteínas antes de la inducción y aumentar significativamente la síntesis de ARNm tras la adición del inductor (Cazier y Blazeck, 2021). En este contexto, los promotores derivados del operón lac (PT7lac, P_{trc} y P_{tac}) operan mediante una regulación negativa mediada por el represor LacI, siendo inducibles por lactosa o por su análogo sintético isopropil-β-D-1-tiogalactopiranosido (IPTG). Mientras que los promotores P_{trc} y P_{tac} se consideran promotores fuertes y bien caracterizados, el sistema PT7 sobresale por su potencia transcripcional, dependiente

de la ARN polimerasa del bacteriófago T7, presente en cepas bacterianas como *E. coli* BL21(DE3), la cual es cinco veces mayor que la polimerasa endógena (Du et al., 2021; Schuster y Reisch, 2022). En contraste, el promotor PBAD se considera como un promotor de fuerza intermedia con una menor tasa de expresión en comparación con PT7lac, P_{trc} y P_{tac} permitiendo un control más robusto de la transcripción (Lozano Terol et al., 2021). En definitiva, la selección del promotor no debe basarse únicamente en su fuerza, ya que promotores fuertes como PT7 pueden generar una sobrecarga metabólica significativa en el huésped, lo que afecta el crecimiento bacteriano y, por consiguiente, el correcto plegamiento de las PR. Por otro lado, promotores de fuerza media como PBAD a pesar de tener una menor tasa de expresión, ofrecen un control más estricto de la expresión, reduciendo la inestabilidad plasmídica y evitando la acumulación de proteínas mal plegadas o tóxicas (Íncir y Kaplan, 2024).

3.2 Etiquetas de fusión

Las etiquetas de fusión, también denominadas proteínas de fusión constituyen herramientas muy eficientes para la identificación, producción y purificación de proteínas. Estas etiquetas son moléculas compuestas por aminoácidos (AA) exógenos que se agregan al extremo amino (N) o extremo carboxilo (C) de la proteína de interés con una alta afinidad por un ligando químico o biológico específico. Su incorporación puede cumplir diversas funciones, como aumentar la solubilidad de la proteína, reducir su toxicidad en la célula huésped, favorecer el correcto plegamiento proteico y optimizar su purificación (Zhao et al., 2019; Mishra, 2020; Beygmoradi et al., 2023; Arakawa y Akuta, 2025). Entre las etiquetas de mayor tamaño se encuentran la proteína de unión a maltosa (MBP), el glutatión S-transferasa (GST), el modificador pequeño relacionado con la ubiquitina (SUMO), tioredoxina A (TrxA), NusA (sustancia A que utiliza N), proteína disulfuro isomerasa I (DsbA), las cuales aumentan la solubilidad de la PR en sistemas como el de *E. coli* y en algunos casos también favorecen la purificación de la PR (Nemergut et al., 2021; Lamer y Vederas, 2023; Okoto et al., 2023).

Por otro lado, existen etiquetas de menor tamaño, como las de polihistidinas (polyHis) o poliarginina (polyArg), que interfieren menos con la PR. La etiqueta de polyArg está constituida por 5 o 6 residuos de arginina, dicha etiqueta permite la purificación de la proteína mediante intercambio catiónico (Sánchez et al., 2022; Yildiz et al., 2024). No obstante, la etiqueta de polihistidinas (polyHis) es la más utilizada debido a su baja inmunogenicidad y a que no interfiere con la actividad biológica de la PR. La purificación con polyHis se realiza mediante cromatografía de afinidad con metales inmovilizados (IMAC), en la que se forman enlaces de coordinación con iones de transición como Ni²⁺, Co²⁺, Zn²⁺ y Cu²⁺ inmovilizados en una matriz (Loughran et al., 2023). Entre las resinas más empleadas en la purificación por IMAC se encuentran la agarosa de carboximetil-aspartato (Talon, de ClonTech) y la agarosa de ácido Ni (II)-nitrilotriacético (Ni-NTA). Sin embargo, el uso de la resina de Ni-NTA ofrece mayores ventajas, ya que se trata de una matriz económica con alta capacidad de unión a los residuos de histidina. La resina Ni-NTA permite la elución de las proteínas en condiciones suaves mediante un gradiente de imidazol (Mooney et al., 2015; Freitas et al., 2022; Kanoh et al., 2023).

La incorporación de etiquetas de fusión en PR es una estrategia ampliamente utilizada para mejorar la purificación y la solubilidad de las proteínas en sistemas como *E. coli*. No obstante, la elección de la etiqueta adecuada depende de la proteína a producir y de las condiciones experimentales, como MBP o GST ha demostrado ser efectivo incrementando la solubilidad y el plegamiento de las

proteínas, pero también pueden interferir en la actividad biológica o dificultar su eliminación posterior (Pina et al., 2021). En contraste, las etiquetas pequeñas, como la polyArg o la His-tag, suelen interferir menos con la estructura de la proteína y, en el contexto inmunológico, ofrecen ventajas por su baja inmunogenicidad en comparación con proteínas de fusión de mayor tamaño, como la GST, lo cual representa una ventaja en el estudio de vacunas a partir de PR (Sánchez et al., 2022; Yildiz et al., 2024).

3.3 Uso de codones

El código genético incluye 61 codones (secuencias de 3 nucleótidos) que codifican 20 aminoácidos diferentes. Mayoritariamente, los AA están codificados por múltiples codones sinónimos, por lo que se dice que el código genético es "degenerado". La preferencia por codones distintos entre organismos parece ser un fenómeno común, denominado sesgo de uso de codones. Esta preferencia varía según el microorganismo y está relacionada con las cantidades de ARNt presentes. Este fenómeno interfiere con la eficiencia de la traducción al ajustar la tasa de elongación del proceso, es decir, la velocidad a la que el ribosoma avanza a lo largo del ARNm (añadiendo AA a la cadena polipeptídica) no es constante y puede acelerarse o desacelerarse según los codones que encuentra (Quax et al., 2015; Lipinski et al., 2018). El sesgo en el uso de codones afecta la expresión de proteínas recombinantes en el sistema procariota de *E. coli* cuando el ARNm del gen recombinante contiene codones raros que difieren del patrón de uso de codones de la bacteria. Es probable que la presencia de un codón raro en un gen heterólogo pueda generar desplazamientos en el marco de la traducción, causando la terminación prematura de la síntesis de proteínas, la omisión de codones, incorporación de AA de forma incorrecta y una traducción lenta del ARNm, lo que provoca una disminución en la expresión de la PR de interés (Quax et al., 2015; Zhong et al., 2017; Roots et al., 2025).

Para contrarrestar el sesgo en el uso de codones, los investigadores han recurrido a dos estrategias principales. La primera consiste en sustituir los codones raros por codones de uso frecuente en *E. coli* al sintetizar el gen modificado. La otra alternativa consiste en utilizar una cepa de *E. coli* modificada genéticamente que puede traducir eficientemente estos codones, como, por ejemplo, la cepa Rosetta (Novagen, EE. UU.) que suministra ARNt para los codones raros como AGG, AGA, AUA, CUA, CCC y GGA en un plásmido compatible resistente al cloranfenicol. La optimización del uso de codones es un enfoque utilizado en ingeniería genética para mejorar la expresión de genes heterólogos, mediante la sustitución de codones sinónimos según el sesgo de uso de codones de un organismo (Zhong et al., 2017; Ortega et al., 2022; Paremskaia et al., 2024). Por ejemplo, una alta velocidad de traducción puede favorecer una mayor producción en cantidad, pero, a la par, podría comprometer la conformación, la estabilidad y la funcionalidad de la PR final. En este sentido, el principal reto es integrar la optimización de codones con otros parámetros, como el sistema de expresión, el diseño del vector y las condiciones de cultivo, para alcanzar un equilibrio entre el rendimiento y la calidad de la proteína a producir en un sistema procariota como *E. coli*.

4. Optimización de diferentes factores para la expresión de proteínas recombinantes en el sistema de *E. coli*

La producción de proteínas en sistemas procariotas es un proceso complejo que plantea múltiples desafíos, entre los cuales la formación de IB es el más común, debido al plegamiento incorrecto de la proteína. Los IB suelen ocasionar la pérdida de la relación estructura-función de una PR (Hashemzadeh et al., 2021). Por lo tanto, para poder aumentar la eficiencia en la producción de PR utilizando este sistema, es necesario el desarrollo de estrategias que permitan estandarizar o ajustar diversas etapas mediante la modificación de distintos parámetros como: el vector de expresión, la cepa huésped, el promotor, tipo y concentración del inductor, expresión con chaperonas, la composición y las condiciones del medio de cultivo, el uso de etiquetas de fusión, entre otros, que se describirán a continuación.

4.1 Optimización del vector de expresión

La selección adecuada del vector de expresión es clave para el nivel de expresión de la proteína de interés. Los vectores plasmídicos desempeñan un papel destacado en la clonación molecular, ya que se emplearon en los primeros estudios sobre ADN recombinante. Desde entonces hasta la fecha, los plásmidos son una de las plataformas más utilizadas para la ingeniería genética y la expresión de genes recombinantes en sistemas bacterianos (Green y Sambrook, 2021; de Lorenzo y Martínez-García, 2025). Un vector de expresión plasmídico está constituido por componentes esenciales para que un gen de interés clonado sea transcrito y/o traducido en una célula huésped. Los distintos componentes de un vector plasmídico (Fig. 1) pueden diseñarse y optimizarse estratégicamente para maximizar la expresión de proteínas recombinantes. La elección y combinación adecuadas de estos componentes permiten modular tanto el nivel de expresión como la estabilidad y funcionalidad de la proteína producida (Fig. 2).

Actualmente, la ingeniería de vectores ha permitido el diseño de una amplia diversidad de construcciones plasmídicas comerciales que optimizan cada uno de sus componentes, con el objetivo de mitigar las limitaciones metabólicas en la producción de PR en sistemas procariotas como *E. coli*. Entre los componentes más relevantes se encuentran el replicón y el promotor, que regulan directamente el número de copias del plásmido y la tasa de iniciación transcripcional, respectivamente. En este sentido, el equilibrio entre ambos componentes es fundamental, debido a que una excesiva tasa transcripcional satura la maquinaria biosintética de la célula huésped, desencadena estrés celular y favorece la agregación de la proteína en IB, o también genera toxicidad celular. Es importante destacar que una "máxima expresión" no es sinónimo de una "expresión óptima" por lo que, en términos ideales, la optimización de un vector de expresión en *E. coli* no radica en maximizar un solo parámetro, sino en buscar un equilibrio entre todos los elementos que conforman al plásmido como el replicón, promotor, etiquetas de fusión, marcadores de selección, secuencias reguladoras con el fin de garantizar el rendimiento y calidad de la PR.

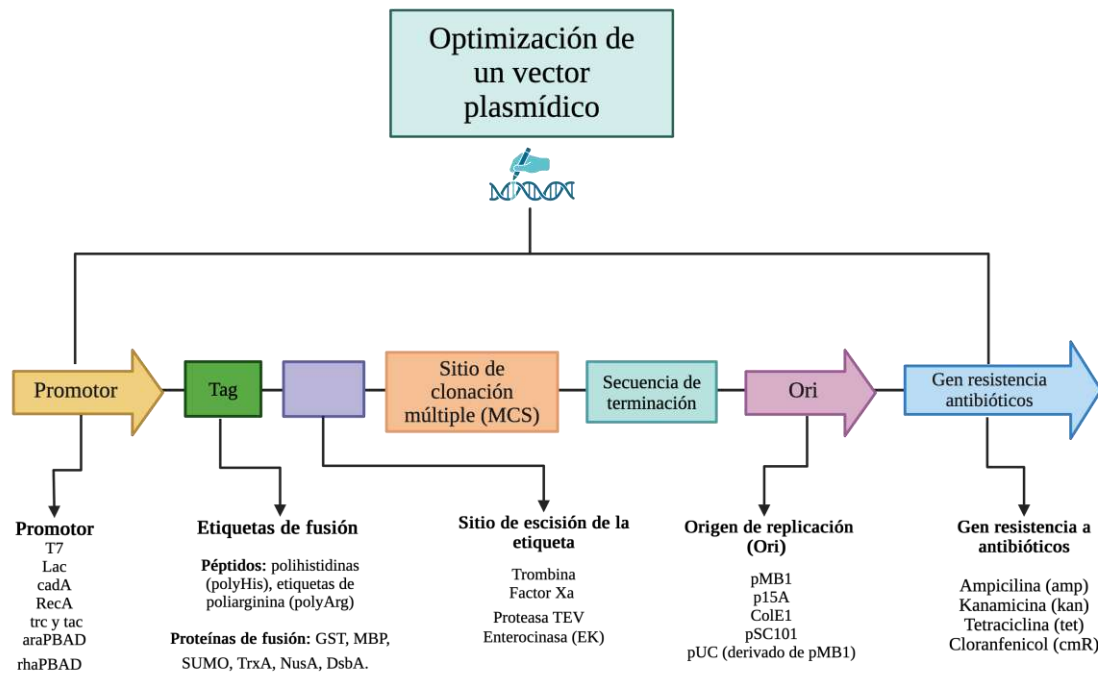


Figura 2. Alternativas para la optimización de un vector de expresión de proteínas recombinantes en el sistema de *E. coli*. Creada en BioRender. <https://BioRender.com/tijm818>

Figure 2. Alternatives for optimizing a recombinant protein expression vector in the *E. coli* system. Created with BioRender. <https://BioRender.com/tijm818>

4.2 Optimización del replicón

Los plásmidos se caracterizan por tener un replicón en su estructura que desempeña un papel importante en el control del número de copias de plásmidos que se pueden generar. Un replicón es una secuencia completa de ADN capaz de replicarse de manera autónoma a partir de un único origen de replicación y de los elementos de control *cis* que lo acompañan (Ekundayo y Bleichert, 2019; Ramiro-Martínez et al., 2025). Por esta razón, uno de los puntos clave a considerar durante la elección del vector de expresión, es el número de copias del plásmido controlado por el replicón. Cabe destacar que el uso de plásmidos con un alto número de copias para la expresión de proteínas no implica un mayor rendimiento de la PR. Lo anterior se debe a que un aumento en el número de copias del plásmido representa una mayor carga metabólica para el sistema y, en consecuencia, la tasa de crecimiento bacteriano se ve afectada, provocando inestabilidad del plásmido, dando como resultado un menor rendimiento en la expresión de la PR (Joshi et al., 2022). Otro factor a considerar es la compatibilidad entre los plásmidos, que está relacionada con su mecanismo de replicación. Aquellos plásmidos con una relación filogenética cercana tienden a presentar una mayor incompatibilidad, lo que significa que no pueden replicarse simultáneamente en la misma célula, ya que compiten entre sí por reclutar factores de replicación (Rouches et al., 2022). Algunos de los orígenes de replicación y los plásmidos comúnmente utilizados se enlistan en la Tabla 3.

Tabla 3. Orígenes de replicación más utilizados en el sistema de expresión de *E. coli*.**Table 3.** Most used origins of replication in the *E. coli* expression system.

Replicón	Plásmido	Número de copias	Mecanismo de regulación de la cantidad de copias del plásmido	Referencias
pMB1	pBR322	15-60	Controla el procesamiento del pre-ARNII en el cebador.	Rossi et al., 1996 Parada y Mariani, 1991
colE1	colE1	15-20	Utiliza un sistema de replicación dependiente de ARNII para regular el número de copias en la célula.	Camps, 2010
pMB1 modificado	pUC	500-700	La ARNII es el pre-iniciador que desencadena la replicación del plásmido.	Sutcliffe, 1978
p15A	pACYC	18-22	Secuestradores de la proteína RepA	Chang y Cohen, 1978
pSC101	pSC101	<5	Secuestradores de la proteína RepA	Ingmer et al., 2001 Manen y Caro, 1991

Referencia: tomada y modificada de: Kaur et al., 2018; Pouresmaeil y Azizi-Dargahlou, 2023; Eskandari et al., 2024.

4.3 Optimización del promotor

Dado que el promotor desempeña un papel fundamental en la regulación de la expresión génica, su selección es un factor clave en la producción de proteínas en sistemas procariotas. El sistema de *E. coli* generalmente requiere promotores fuertes y estrictamente controlados para aumentar la eficiencia de la producción de proteínas heterólogas, reduciendo la toxicidad o la carga metabólica del sistema durante la fase de crecimiento. En este sentido, el vector de expresión pET (derivado del plásmido pBR322) basado en el promotor T7 del bacteriófago T7 es el sistema de expresión más utilizado en *E. coli* (Khananisho et al., 2023). En este plásmido, el gen de interés se clona bajo el control del promotor T7, que es reconocido por la ARN polimerasa del fago T7 (T7 ARNP) bajo el control transcripcional de un promotor *lac* UV5. Por ello, el promotor puede inducirse mediante la adición de lactosa o de un análogo como el IPTG. Sin embargo, algunas de las desventajas de este sistema se asocian con una alta tasa de transcripción, que puede provocar destrucción ribosómica y muerte celular. La expresión del nivel basal de la ARN polimerasa T7 se puede regular con la adición de glucosa entre 0.5 a 1 % al medio y con la coexpresión de lisozima T7 proporcionada por un plásmido compatible (pLysS o pLysE) con el objetivo de unirse a la ARN polimerasa T7 e inhibir la transcripción del gen recombinante (Shilling et al., 2020; Singh, 2020). Además del promotor T7, existen otros promotores ampliamente utilizados en el sistema de *E. coli*, que se describen en la Tabla 4.

Tabla 4. Promotores más utilizados en la expresión de proteínas recombinantes en *E. coli*.**Table 4.** Promoters most used in the expression of recombinant proteins in *E. coli*.

Promotor	Origen	Inductor	Característica	Referencias
Lac	<i>E. coli</i>	IPTG	Es un promotor débil que forma parte del operón <i>lac</i> , es regulado con la degradación de la lactosa.	Giordano et al., 1989 Gronenborn, 1976
trc y tac	<i>E. coli</i>	IPTG, térmico	Es un promotor de alto nivel de expresión. Sirve para controlar y aumentar el nivel de expresión de genes de interés.	Amann y Brosius, 1985 de Boer et al., 1983
T7	Fago T7	IPTG o lactosa	Promotor que utiliza la ARN polimerasa T7. Para el control de proteínas tóxicas, necesita el sistema T7 <i>lac</i> para un control estricto de la inducción.	Studier y Moffatt, 1986
Promotor del fago pL	Fago <i>lambda</i>	Térmico	Requiere de una cepa huésped sensible a los cambios de temperatura. Niveles medios de expresión sin el uso de inductores.	Menart et al., 2003 Elvin et al., 1990
araPBAD		Arabinosa	El promotor PBAD impulsa la producción de la ARN polimerasa T7. Es un promotor ideal para la expresión de proteínas tóxicas.	Giacalone et al., 2006 Guzman et al., 1995
rhaPBAD		L-ramnosa	Promotor regulado por dos activadores, RhaS y RhaR. RhaS junto con L-ramnosa se une a su vez al promotor rhaP BAD y al promotor rhaP T y activa la transcripción de los genes.	Wegerer et al., 2008 Egan y Schleif, 1993
proU	<i>E. coli</i>	Osmolaridad	Codifica un sistema de transporte de glicina betaína de alta afinidad que es osmóticamente inducible.	Mellies et al., 1994
RecA	<i>E. coli</i>	Ácido nalidíxico	RecA estimula la relajación del ADN al interactuar posiblemente con la topoisomerasa I.	Reckinger et al., 2007 Keller et al., 1990

phoA	<i>E. coli</i>	Falta de fosfato	Promotor derivado de la fosfatasa alcalina de <i>E. coli</i> (phoA), que permite una expresión alta y estrictamente controlada de proteínas recombinantes en <i>E. coli</i> .	Wang et al., 2005 Lübke et al., 1995
cadA	<i>E. coli</i>	pH	Un promotor sensible al cadmio.	Yoon y Silver, 1991
nar	<i>E. coli</i>	Condiciones anaeróbicas, presencia de nitrato.	Un promotor dependiente de oxígeno disuelto (DO).	Hwang et al., 2017

Referencia: tomada y modificada de Rosano et al., 2019; Pouresmaeil y Azizi-Dargahlou, 2023.

A pesar de que la mayoría de los promotores disponibles se activan con inductores químicos, existen otros sistemas de expresión con promotores que se activan a partir de cambios de pH o temperatura en un sistema de expresión de *E. coli*. Un ejemplo de sistema de expresión termoinducible, es el basado en los promotores pL y/o pR, que son regulados por el represor termolábil mutante cI857 del fago lambda λ . Este sistema induce la expresión de la proteína heteróloga cuando se eleva la temperatura del medio de cultivo por encima de 37 °C (Restrepo-Pineda et al., 2022). Por el contrario, el promotor cspA es inducido por un choque frío, consistente en el descenso de la temperatura del medio de cultivo a 15 °C. Una de las principales ventajas del promotor cspA es la alta estabilidad del ARNm del gen de interés, lo que favorece la transcripción y la solubilidad de la PR a bajas temperaturas (Bartolo-Aguilar et al., 2022). El sistema de plásmidos pCold tiene una estructura principal derivada de pUC118 que utiliza el promotor cspA, estos plásmidos se han utilizado ampliamente por su alto nivel de expresión de proteínas solubles en sistemas bacterianos de *E. coli* (Li et al., 2018). Actualmente, se han desarrollado modificaciones en la estructura de los plásmidos pCold para optimizar los procesos de purificación mediante el uso de etiquetas como GST, la etiqueta de 6 histidinas (6xHis) y la etiqueta SUMO (Li et al., 2018; Nemergut et al., 2021; Lamer y Vederas, 2023; Okoto et al., 2023).

Finalmente, la optimización del promotor es un aspecto importante para lograr una producción adecuada de PR en *E. coli*. A pesar de que se cuenta con promotores fuertes como los T7 o tac los cuales se caracterizan por inducir niveles altos de transcripción, su uso de manera errónea puede generar consecuencias negativas como la saturación metabólica de la célula huésped, lo que compromete la solubilidad de la proteína. Por el contrario, promotores regulables o híbridos, como los plásmidos pCold ofrecen la posibilidad de modular la expresión de manera más controlada y precisa (Qiao et al., 2019; Boontip et al., 2021). De forma que, la selección del promotor no debe enfocarse exclusivamente en maximizar la transcripción, sino en lograr un equilibrio entre los distintos parámetros que consideren la estructura de la proteína, el nivel de expresión requerido, las condiciones de cultivo y las aplicaciones biotecnológicas o terapéuticas de la PR.

4.4 Optimización de la célula huésped: *E. coli*

El sistema de expresión en *E. coli* es uno de los más importantes para la producción de proteínas recombinantes en bacterias. A partir de las cepas de *E. coli* K-12 y BL21 se han diseñado nuevas cepas con modificaciones genéticas que se describen en la Tabla 5. Cada una de estas cepas modificadas tiene un objetivo específico, por ejemplo: brindar mayor estabilidad del ARNm, un control estricto de la expresión génica, ausencia de proteasas, mayor estabilidad del plásmido recombinante, aumentar la capacidad para formar enlaces disulfuro, mayor capacidad para expresar genes de tipo eucariota y la optimización de la expresión de proteínas tóxicas o con codones raros (Hayat et al., 2018; Rosano et al., 2019; Lozano Terol et al., 2021).

Tabla 5. Cepas de *E. coli* más utilizadas en la producción de proteínas recombinantes
Table 5. *E. coli* strains most used in the production of recombinant proteins

Cepa	Derivación	Característica	Referencias
BL21	B834	Expresión de proteínas de alto nivel y fácil inducción. Deficiente en proteasas <i>Lon</i> y <i>OmpT</i>	Gottesman, 1996
BL21(DE3)	BL21	Expresión de proteínas bajo el control del promotor de T7/deficiencia de proteasas <i>Lon</i> y <i>OmpT</i> .	Daegelen et al., 2009 Du et al., 2021 Heyde y Nørholm, 2021
BL21 trxB	BL21	Cepa mutante trxB deficiente de las proteasas <i>Lon</i> y <i>OmpT</i> que facilita la formación de enlaces disulfuro citoplasmáticos.	Makino et al., 2011
BL21-pLys	BL21	Contiene el plásmido pLysS con el gen de la lisozima, un inhibidor de la ARN polimerasa de T7, reduce la actividad basal y permite que se establezcan genes relativamente tóxicos en la misma célula bajo el control de un promotor de T7.	Studier, 1991 Agrawal et al., 2024
BL21-Codón Plus (DE3)-RI(P)L	BL21	El plásmido pRI(P)L mejora la expresión de proteínas eucariotas que contienen codones raros (AGG, AGA, AUA, CUA).	Ojima-Kato, 2025
HMS174	K-12	Mutante recA para aumentar la estabilidad del plásmido recombinante.	Disela et al., 2023
JM83	K-12	Induce la secreción de proteínas recombinantes en el periplasma.	Campbell et al., 1978
Lemo21	BL21	Ajusta los niveles de expresión de proteínas mediante suplementación con ramnosa.	Morão et al., 2022

Origami	K-12	La mutación en los genes <i>trxB</i> y <i>gor</i> promueve la formación de enlaces disulfuro en el citoplasma en presencia de condiciones más oxidantes.	Makino et al., 2011 Kaplan et al., 2016
Rosetta	BL21	Es deficiente de proteasas y aumenta la expresión de proteínas eucariotas que contienen codones raros en <i>E. coli</i> (AUA, AGG, AGA, CGG, CUA, CCC y GGA).	Chumjan et al., 2023 Íncir y Kaplan, 2024
Rosetta-gami	BL21	Mejora la expresión de proteínas eucariotas que contienen codones raros y la mutante <i>trxB/gor</i> promueve la formación de enlaces disulfuro citoplasmáticos.	Zarkar et al., 2020 Morão et al., 2022 Hajihassan et al., 2025
SoluBL21	BL21	Se utiliza para la expresión de proteínas solubles de mamíferos.	Deatherage et al., 2012 Hata et al., 2013
C41(DE3)	BL21	Cepa mutante diseñada para la sobreexpresión de proteínas tóxicas y de membrana.	Schlegel et al. 2015 Ni et al., 2020
C43(DE3)	BL21	Doble mutante diseñada para la expresión de proteínas de membrana. Tiene un represor <i>LacI</i> mutado que se une más tiempo al operador <i>lac</i> retrasando la transcripción de T7ARNP.	Kwon et al., 2015 Hsieh et al., 2017

Referencia: tomada y modificada de Rosano et al., 2019; Pouresmaeil y Azizi-Dargahlou, 2023.

Sistemas híbridos, como la cepa Rosetta-gamiTM combinan las características de las cepas Rosetta y Origami, permitiendo tanto la provisión de ARNt para codones poco frecuentes como la expresión de proteínas con enlaces disulfuro (Zarkar et al., 2020). Actualmente, la cepa BL21(DE3) continúa siendo el huésped más utilizado para la expresión de PR, gracias a sus múltiples ventajas, como la ausencia de proteasas que degradan la PR expresada. Sin embargo, uno de los principales retos en el uso de estos sistemas procariotas es la elevada carga metabólica asociada a la sobreexpresión, que disminuye la tasa de crecimiento bacteriano, causando una disminución en el rendimiento de la proteína recombinante. En conclusión, a pesar de la amplia variedad de cepas bacterianas disponibles en el mercado, es importante recalcar que no existe una cepa que sea considerada como universal, ya que la eficiencia en la producción de PR en el sistema de *E. coli* depende de una elección basada en un análisis en el cual se consideran elementos como el tipo de vector de expresión, el tipo de promotor y la capacidad metabólica de la célula huésped.

4.5 Optimización de las condiciones de cultivo

La optimización de las condiciones de cultivo es un factor crucial para mejorar la expresión de PR en *E. coli*. Diversos estudios han demostrado que la regulación precisa de la disponibilidad de oxígeno, del pH, de la fuente de carbono, de la composición del medio y de la tasa de crecimiento puede aumentar significativamente la eficiencia de producción de una PR (Zhang et al., 2022; Eskandari et al., 2024). La alta densidad celular y un ambiente de restricción de oxígeno en un cultivo de *E. coli* altera el metabolismo de la bacteria y se forman productos de degradación no deseados como el acetato y etanol, que aumentan la toxicidad y afectan el crecimiento celular (Millard et al., 2021; Qi et al., 2023).

El medio Luria-Bertani, también conocido como LB, es el más utilizado para el cultivo de *E. coli*. Es un medio rico en aminoácidos catabolizables, carece de azúcares recuperables y su osmolaridad es idónea para el crecimiento bacteriano en la fase logarítmica temprana (Wang et al., 2023). No obstante, su capacidad para alcanzar altas densidades celulares es limitada, por lo que es necesaria la adición de otros componentes, como el extracto de levadura, peptona, glucosa, glicerol, así como sodio y cloruro de magnesio ($MgCl_2$), para obtener densidades celulares finales más altas (Ganjave et al., 2021). A pesar de que el medio LB es el más utilizado en la industria, existen otras alternativas, como el medio TB (Terrific Broth), SB (Super Broth) y el medio mínimo M9, que son superiores al LB para alcanzar densidades celulares más altas (Packiam et al., 2020; Eskandari et al., 2024; Snoeck et al., 2024).

En 2005 surgió uno de los grandes avances en la composición de los medios: se incorporaron los medios de autoinducción (Studier, 2005). Estos sistemas de autoinducción tienen varias ventajas sobre los métodos clásicos para la expresión de proteínas recombinantes, dado que se elimina la necesidad de interrumpir el cultivo o de utilizar inductores externos como el IPTG, un compuesto que puede ejercer efectos citotóxicos en las células hospedadoras y que, económicamente, es más caro que la lactosa (Studier, 2014; Dvorak et al., 2015; Tahara et al., 2021). En su lugar, estos sistemas emplean una combinación precisa y optimizada de fuentes de carbono basadas en glucosa, lactosa y glicerol. Durante la fase inicial de crecimiento, la glucosa actúa como la fuente de carbono preferida, inhibiendo el consumo de lactosa hasta su agotamiento, que normalmente ocurre en la parte media o final de la fase logarítmica. Una vez agotada la glucosa, la célula comienza a metabolizar el glicerol y la lactosa, siendo esta última responsable de la inducción de la expresión proteica regulada por el operón *lac* (Kim et al., 2022). Este enfoque no solo evita la necesidad de monitorear y manipular la biomasa para la adición manual del inductor, sino que también ofrece una inducción altamente reproducible y eficiente (Tahara et al., 2021; Abedin et al., 2024).

La optimización de la agitación y la aireación es fundamental en un cultivo de *E. coli*. Como se mencionó anteriormente, la limitación de oxígeno en el sistema puede desencadenar toxicidad y afectar el crecimiento celular. Sin embargo, esto se puede solucionar a través del aumento de la velocidad de agitación. Además, el volumen de un cultivo de *E. coli* debe ser menor o igual al 10 % de la capacidad del matraz de agitación (Takahashi y Aoyagi, 2020). Uno de los principales problemas en la expresión de proteínas, en especial las de origen viral y eucariota, es la formación de IB. Las proteínas que se expresan como IB en *E. coli* son inactivas e insolubles, y tienen enlaces disulfuro intramoleculares e intermoleculares erróneos (Singh et al., 2015; Kopp et al., 2023; Zhang et al., 2022). Una de las múltiples estrategias para evitar la formación de los IB en el sistema de *E. coli*

es reducir la temperatura del medio de cultivo entre 15 °C y 25 °C. La disminución de la temperatura favorece el plegamiento correcto de las proteínas recién sintetizadas, lo que les confiere mayor estabilidad (Singh et al., 2015). De hecho, algunos estudios han reportado la expresión exitosa de proteínas a temperaturas de hasta 4 °C y en procesos prolongados de hasta 72 horas, logrando así un plegamiento adecuado y minimizando la agregación proteica (Bhatwa et al., 2021). Cabe destacar que los ajustes relacionados con la adición de inductores, cambios de temperatura, pH o aditivos a la composición inicial del medio de cultivo dependen totalmente de las características de la proteína de interés, así como del sistema de expresión y la cepa huésped previamente seleccionada.

6. Conclusiones

El sistema de expresión procariota de *E. coli* se ha demostrado como uno de los más eficaces y versátiles para la producción de PR, y es ampliamente utilizado en diversos sectores por su bajo costo y su simplicidad. Como se analizó en la presente revisión, la obtención de PR funcionales y solubles depende de un equilibrio entre la célula huésped, la estructura del vector y las condiciones de cultivo. La evolución de sistemas de inducción clásicos a estrategias más sofisticadas como medios de cultivo basados en la autoinducción, incorporación de etiquetas de fusión y la ingeniería de codones, ha permitido disminuir limitaciones como el sesgo de codones y la formación de agregados proteicos insolubles. Sin embargo, la deficiencia de modificaciones postraduccionales complejas y la constante formación de IB confirma que el sistema de expresión de *E. coli* no es un sistema universal, sino una plataforma que requiere realizar ajustes dependiendo de la proteína de interés a expresar, mediante la optimización del diseño de vectores, la selección de cepas especializadas y la optimización de bioprocesos, con la finalidad de transformar dicho sistema en una plataforma de producción robusta y escalable para las próximas generaciones de productos biotecnológicos.

Agradecimientos

El autor de correspondencia expresa su agradecimiento a todos los que participaron en la creación de este texto, especialmente a Diana Lizzet Murrieta-León, becaria de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (1055447) en el Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas de la Universidad Veracruzana. Este artículo forma parte del proyecto DGI:28043202479 registrado en SIREL.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses relacionado con la publicación de este artículo.

Nomenclatura

AA	Aminoácido
ADN	Ácido desoxirribonucleico

ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
ARNt	Ácido ribonucleico de transferencia
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
C	Extremo carboxi terminal
cspA	Promotor de choque frío
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos
GRAS	Generalmente Reconocido como Seguro
GST	Glutación-S-transferasa
IB	Cuerpos de inclusión
IMAC	Cromatografía de afinidad a metales inmovilizados
IPTG	Isopropil- β -D-1-tiogalactopiranosido
kDa	Kilodalton
<i>K. phaffii</i>	<i>Komagataella phaffii</i>
LB	Medio Luria-Bertani
LPS	Lipopolisacárido
MBP	Proteína de unión a maltosa
MCS	Sitio de clonación múltiple
N	Extremo amino terminal
Ni-NTA	Agarosa de ácido Ni(II)-nitrilotriacético
ORF	Marco de lectura abierto (del inglés, open reading frame)
ori	Origen de replicación
pCold	Vector de expresión por choque frío
pET	Vector de expresión
pH	Potencial de hidrógeno
PR	Proteína recombinante
<i>S. cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
SB	Super caldo
SUMO	Modificador pequeño relacionado con ubiquitina
T7	Promotor del bacteriófago T7
T7ARNP	ARN polimerasa del bacteriófago T7
TB	Medio líquido excelente
TrxA	Tioredoxina A
β	Beta

7. Referencias

- Abedin, S., Ranjbari, J., Haeri, A., Vahidi, H., & Moghimi, H. R. (2024). Design and characterization of an osmotic pump system for optimal feeding and pH control in *E. coli* culture to increase biomass. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 23(1), e138677. <https://doi.org/10.5812/ijpr-138677>
- Agrawal, S., Padmaswari, M. H., Stokes, A. L., Maxenberger, D., Reese, M., Khalil, A., & Nelson, C. E. (2024). Optimizing recombinant Cas9 expression: insights from *E. coli* BL21(DE3) strains for

- enhanced protein purification and genome editing. *Biomedicines*, 12(6), 1226. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12061226>
- Amann, E., & Brosius, J. (1985). "ATG vectors" for regulated high-level expression of cloned genes in *Escherichia coli*. *Gene*, 40(2-3), 183–190. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(85\)90041-1](https://doi.org/10.1016/0378-1119(85)90041-1)
- Arakawa, T., & Akuta, T. (2025). Beyond purification: Evolving roles of fusion tags in biotechnology. *Current Issues in Molecular Biology*, 47(9), 768. <https://doi.org/10.3390/cimb47090768>
- Barone, G. D., Emmerstorfer-Augustin, A., Biundo, A., Pisano, I., Coccetti, P., Mapelli, V., & Camattari, A. (2023). Industrial production of proteins with *Pichia pastoris*-*Komagataella phaffii*. *Biomolecules*, 13(3), 441. <https://doi.org/10.3390/biom13030441>
- Bartolo-Aguilar, Y., Chávez-Cabrera, C., Flores-Cotera, L. B., Badillo-Corona, J. A., Oliver-Salvador, C., & Marsch, R. (2022). The potential of cold-shock promoters for the expression of recombinant proteins in microbes and mammalian cells. *Journal, Genetic Engineering & Biotechnology*, 20(1), 173. <https://doi.org/10.1186/s43141-022-00455-9>
- Beygmoradi, A., Homaei, A., Hemmati, R., & Fernandes, P. (2023). Recombinant protein expression: Challenges in production and folding related matters. *International Journal of Biological Macromolecules*, 233, 123407. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123407>
- Bhatwa, A., Wang, W., Hassan, Y. I., Abraham, N., Li, X. Z., & Zhou, T. (2021). Challenges associated with the formation of recombinant protein inclusion bodies in *Escherichia coli* and strategies to address them for industrial applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 630551. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.630551>
- Boontip, T., Waditee-Sirisattha, R., Honda, K., & Napathorn, S. C. (2021). Strategies for Poly(3-hydroxybutyrate) Production using a cold-shock promoter in *Escherichia coli*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 666036. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.666036>
- Cai, D., Rao, Y., Zhan, Y., Wang, Q., & Chen, S. (2019). Engineering *Bacillus* for efficient production of heterologous protein: current progress, challenge and prospect. *Journal of Applied Microbiology*, 126(6), 1632–1642. <https://doi.org/10.1111/jam.14192>
- Campbell, J. L., Richardson, C. C., & Studier, F. W. (1978). Genetic recombination and complementation between bacteriophage T7 and cloned fragments of T7 DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 75(5), 2276–2280. <https://doi.org/10.1073/pnas.75.5.2276>
- Camps, M. (2010). Modulation of ColE1-like plasmid replication for recombinant gene expression. *Recent Patents on DNA & Gene Sequences*, 4(1), 58–73. <https://doi.org/10.2174/187221510790410822>
- Camps, S., Padmaswari, M. H., Stokes, A. L., Maxenberger, D., Reese, M., Khalil, A., & Nelson, C. E. (2024). Optimizing recombinant Cas9 expression: insights from *E. coli* BL21(DE3) strains for enhanced protein purification and genome editing. *Biomedicines*, 12(6), 1226. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12061226>
- Cantoia, A., Aguilar Lucero, D., Ceccarelli, E. A., & Rosano, G. L. (2021). From the notebook to recombinant protein production in *Escherichia coli*: Design of expression vectors and gene cloning. *Methods in Enzymology*, 659, 19–35. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2021.07.008>
- Cazier, A. P., & Blazeck, J. (2021). Advances in promoter engineering: Novel applications and predefined transcriptional control. *Biotechnology Journal*, 16(10), e2100239. <https://doi.org/10.1002/biot.202100239>
- Chang, A. C., & Cohen, S. N. (1978). Construction and characterization of amplifiable multicopy DNA cloning vehicles derived from the P15A cryptic miniplasmid. *Journal of Bacteriology*, 134(3), 1141–1156. <https://doi.org/10.1128/jb.134.3.1141-1156.1978>

- Chen, A., Dong, Y., Jiang, H., Wei, M., Ren, Y., & Zhang, J. (2024). Application of plasmid stabilization systems for heterologous protein expression in *Escherichia coli*. *Molecular Biology Reports*, 51(1), 939. <https://doi.org/10.1007/s11033-024-09881-z>
- Chen, S., Shan, B., Luo, Y., Mo, G., Rasheed, U., Lv, L., Yang, X., & Lu, Q. (2025). Molecular chaperone effects on recombinant yield and binding characteristics of an ABA-specific scFv in *Escherichia coli*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 13, 1643833. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2025.1643833>
- Chumjan, W., Sangchalee, A., Somwang, C., Mookda, N., Yaikeaw, S., & Somsakeesit, L. O. (2023). Outer membrane protein N expressed in Gram-negative bacterial strain of *Escherichia coli* BL21 (DE3) Omp8 Rosetta strains under osmoregulation by salts, sugars, and pHs. *PloS One*, 18(8), e0288096. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0288096>
- Daegelen, P., Studier, F. W., Lenski, R. E., Cure, S., & Kim, J. F. (2009). Tracing ancestors and relatives of *Escherichia coli* B, and the derivation of B strains REL606 and BL21(DE3). *Journal of Molecular Biology*, 394(4), 634–643. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2009.09.022>
- de Boer, H. A., Comstock, L. J., & Vasser, M. (1983). The tac promoter: a functional hybrid derived from the trp and lac promoters. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 80(1), 21–25. <https://doi.org/10.1073/pnas.80.1.21>
- de Lorenzo, V., & Martínez-García, E. (2025). On the choice of the right plasmid vector(s) in the times of synthetic biology. *Microbial Biotechnology*, 18(12), e70273. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.70273>
- de Marco, A. (2025). Recent advances in recombinant production of soluble proteins in *E. coli*. *Microbial Cell Factories*, 24(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s12934-025-02646-8>
- Deatherage, C. L., Hadziselimovic, A., & Sanders, C. R. (2012). Purification and characterization of the human γ -secretase activating protein. *Biochemistry*, 51(25), 5153–5159. <https://doi.org/10.1021/bi300605u>
- Disela, R., Bussy, O. L., Geldhof, G., Pabst, M., & Ottens, M. (2023). Characterisation of the *E. coli* HMS174 and BLR host cell proteome to guide purification process development. *Biotechnology Journal*, 18(9), e2300068. <https://doi.org/10.1002/biot.202300068>
- Du, F., Liu, Y. Q., Xu, Y. S., Li, Z. J., Wang, Y. Z., Zhang, Z. X., & Sun, X. M. (2021). Regulating the T7 RNA polymerase expression in *E. coli* BL21 (DE3) to provide more host options for recombinant protein production. *Microbial Cell Factories*, 20(1), 189. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01680-6>
- Dvorak, P., Chrast, L., Nikel, P. I., Fedr, R., Soucek, K., Sedlackova, M., Chaloupkova, R., de Lorenzo, V., Prokop, Z., & Damborsky, J. (2015). Exacerbation of substrate toxicity by IPTG in *Escherichia coli* BL21(DE3) carrying a synthetic metabolic pathway. *Microbial Cell Factories*, 14, 201. <https://doi.org/10.1186/s12934-015-0393-3>
- Eastwood, T. A., Baker, K., Streather, B. R., Allen, N., Wang, L., Botchway, S. W., Brown, I. R., Hiscock, J. R., Lennon, C., & Mulvihill, D. P. (2023). High-yield vesicle-packaged recombinant protein production from *E. coli*. *Cell Reports Methods*, 3(2), 100396. <https://doi.org/10.1016/j.crmeth.2023.100396>
- Egan, S. M., & Schleif, R. F. (1993). A regulatory cascade in the induction of *rhaBAD*. *Journal of Molecular Biology*, 234(1), 87–98. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1993.1565>
- Ekundayo, B., & Bleichert, F. (2019). Origins of DNA replication. *PLoS Genetics*, 15(9), e1008320. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008320>
- Elvin, C. M., Thompson, P. R., Argall, M. E., Hendry, P., Stamford, N. P., Lilley, P. E., & Dixon, N. E. (1990). Modified bacteriophage lambda promoter vectors for overproduction of proteins in *Escherichia coli*. *Gene*, 87(1), 123–126. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(90\)90503-j](https://doi.org/10.1016/0378-1119(90)90503-j)

- Eskandari, A., Nezhad, N. G., Leow, T. C., Rahman, M. B. A., & Oslan, S. N. (2024). Essential factors, advanced strategies, challenges, and approaches involved for efficient expression of recombinant proteins in *Escherichia coli*. *Archives of Microbiology*, 206(4), 152. <https://doi.org/10.1007/s00203-024-03871-2>
- Freitas, A. I., Domingues, L., & Aguiar, T. Q. (2022). Tag-mediated single-step purification and immobilization of recombinant proteins toward protein-engineered advanced materials. *Journal of Advanced Research*, 36, 249–264. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.06.010>
- Fu, Y., Han, Z., Cheng, W., Niu, S., Wang, T., & Wang, X. (2024). Improvement strategies for transient gene expression in mammalian cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1), 480. <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13315-y>
- Gan, T., Liu, Y., Qiao, Y., Dong, Y., Feng, J., Chen, X., & Zhu, L. (2025). Translation regulation in *Bacillus subtilis* and its applications in heterologous protein expression: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 311(Part 1), 143653. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.143653>
- Ganjave, S. D., Dodia, H., Sunder, A. V., Madhu, S., & Wangikar, P. P. (2021). High cell density cultivation of *E. coli* in shake flasks for the production of recombinant proteins. *Biotechnology Reports (Amsterdam, Netherlands)*, 33, e00694. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00694>
- Giacalone, M. J., Gentile, A. M., Lovitt, B. T., Berkley, N. L., Gunderson, C. W., & Surber, M. W. (2006). Toxic protein expression in *Escherichia coli* using a rhamnose-based tightly regulated and tunable promoter system. *BioTechniques*, 40(3), 355–364. <https://doi.org/10.2144/000112112>
- Giordano, T. J., Deuschle, U., Bujard, H., & McAllister, W. T. (1989). Regulation of coliphage T3 and T7 RNA polymerases by the lac repressor-operator system. *Gene*, 84(2), 209–219. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(89\)90494-0](https://doi.org/10.1016/0378-1119(89)90494-0)
- Gottesman, S. (1996). Proteases and their targets in *Escherichia coli*. *Annual Review of Genetics*, 30, 465–506. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.30.1.465>
- Green, M. R., & Sambrook, J. (2021). Cloning and transformation with plasmid vectors. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2021(11), 10.1101/pdb.top101170. <https://doi.org/10.1101/pdb.top101170>
- Gronenborn, B. (1976). Overproduction of phage lambda repressor under control of the lac promoter of *Escherichia coli*. *Molecular & General Genetics: MGG*, 148(3), 243–250. <https://doi.org/10.1007/BF00332898>
- Guzman, L. M., Belin, D., Carson, M. J., & Beckwith, J. (1995). Tight regulation, modulation, and high-level expression by vectors containing the arabinose PBAD promoter. *Journal of Bacteriology*, 177(14), 4121–4130. <https://doi.org/10.1128/jb.177.14.4121-4130.1995>
- Hajihassan, Z., Yaseri, A., & Yazdi, M. (2025). Optimization of recombinant neurturin expression in *Escherichia coli* using response surface methodology. *Biotechnology Letters*, 47(2), 36. <https://doi.org/10.1007/s10529-025-03575-7>
- Hashemzadeh, M. S., Mohammadi, M., Ghaleh, H. E. G., Sharti, M., Choopani, A., & Panda, A. K. (2021). Expression, solubilization, refolding and final purification of recombinant proteins as expressed in the form of "classical inclusion bodies" in *E. coli*. *Protein and Peptide Letters*, 28(2), 122–130. <https://doi.org/10.2174/0929866527999200729182831>
- Hata, S., Kitamura, F., & Sorimachi, H. (2013). Efficient expression and purification of recombinant human μ -calpain using an *Escherichia coli* expression system. *Genes to Cells: Devoted to Molecular & Cellular Mechanisms*, 18(9), 753–763. <https://doi.org/10.1111/gtc.12071>
- Hayat, S. M. G., Farahani, N., Golichenari, B., & Sahebkar, A. (2018). Recombinant Protein Expression in *Escherichia coli* (*E. coli*): What We Need to Know. *Current Pharmaceutical Design*, 24(6), 718–725. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180131121940>

- Herynek, Š., Svoboda, J., Huličiak, M., Peleg, Y., Škultétová, L., Mikulecký, P., & Schneider, B. (2025). Increasing recombinant protein production in *E. coli* via FACS-based selection of N-terminal coding DNA libraries. *The FEBS Journal*, 292(5), 1070–1085. <https://doi.org/10.1111/febs.17376>
- Heyde, S. A. H., & Nørholm, M. H. H. (2021). Tailoring the evolution of BL21(DE3) uncovers a key role for RNA stability in gene expression toxicity. *Communications Biology*, 4(1), 963. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02493-4>
- Home, P. (2021). The evolution of insulin therapy. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 175, 108816. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.108816>
- Hsieh, S. K., Yu, Y. J., Tang, N. Y., Lin, J. R., & Jinn, T. R. (2017). Expression of Mastoparan B, a venom peptide, via *Escherichia coli* C43 (DE3) coupled with an artificial oil body-cyanogen bromide technology platform. *Protein and Peptide Letters*, 24(11), 1021–1029. <https://doi.org/10.2174/0929866524666170724161900>
- Hu, J., Han, J., Li, H., Zhang, X., Liu, L. L., Chen, F., & Zeng, B. (2018). Human embryonic kidney 293 cells: A vehicle for biopharmaceutical manufacturing, structural biology, and electrophysiology. *Cells, Tissues, Organs*, 205(1), 1–8. <https://doi.org/10.1159/000485501>
- Hwang, H. J., Kim, J. W., Ju, S. Y., Park, J. H., & Lee, P. C. (2017). Application of an oxygen-inducible nar promoter system in metabolic engineering for production of biochemicals in *Escherichia coli*. *Biotechnology and Bioengineering*, 114(2), 468–473. <https://doi.org/10.1002/bit.26082>
- İncir, İ., & Kaplan, Ö. (2024). *Escherichia coli* as a versatile cell factory: Advances and challenges in recombinant protein production. *Protein Expression and Purification*, 219, 106463. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2024.106463>
- İncir, İ., & Kaplan, Ö. (2025). *Escherichia coli* in the production of biopharmaceuticals. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 72(2), 528–541. <https://doi.org/10.1002/bab.2664>
- Ingmer, H., Miller, C., & Cohen, S. N. (2001). The RepA protein of plasmid pSC101 controls *Escherichia coli* cell division through the SOS response. *Molecular Microbiology*, 42(2), 519–526. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02661.x>
- Jayakrishnan, A., Wan Rosli, W. R., Tahir, A. R. M., Razak, F. S. A., Kee, P. E., Ng, H. S., Chew, Y.-L., Lee, S.-K., Ramasamy, M., Tan, C. S., & Liew, K. B. (2024). Evolving paradigms of recombinant protein production in pharmaceutical industry: A rigorous review. *Sci*, 6(1), 9. <https://doi.org/10.3390/sci6010009>
- Jiang, R., Yuan, S., Zhou, Y., Wei, Y., Li, F., Wang, M., Chen, B., & Yu, H. (2024). Strategies to overcome the challenges of low or no expression of heterologous proteins in *Escherichia coli*. *Biotechnology Advances*, 75, 108417. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2024.108417>
- Joshi, S. HN., Yong, C., & Gyorgy, A. (2022). Inducible plasmid copy number control for synthetic biology in commonly used *E. coli* strains. *Nature Communications*, 13(1), 6691. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34390-7>
- Kanoh, S., Shiraki, K., Wada, M., Tanaka, T., Kitamura, M., Kato, K., & Hirano, A. (2023). Chromatographic purification of histidine-tagged proteins using zirconia particles modified with phosphate groups. *Journal of Chromatography. A*, 1703, 464112. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.464112>
- Kaplan, O., Zárubová, J., Mikulová, B., Filová, E., Bártová, J., Bačáková, L., & Brynda, E. (2016). Enhanced Mitogenic Activity of Recombinant Human Vascular Endothelial Growth Factor VEGF₁₂₁ Expressed in *E. coli* Origami B (DE3) with Molecular Chaperones. *PloS One*, 11(10), e0163697. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163697>

- Kaur, J., Kumar, A., & Kaur, J. (2018). Strategies for optimization of heterologous protein expression in *E. coli*: Roadblocks and reinforcements. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 803–822. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.080>
- Keller, J., Gerber, R., Del Tito, B. J., Jr, Vannicolo, D., & Arcuri, E. J. (1990). Effects of mutations altering SOS regulation on a nalidixic acid-inducible system for the production of heterologous proteins in *Escherichia coli*. *Journal of Industrial Microbiology*, 6(3), 199–206. <https://doi.org/10.1007/BF01577697>
- Khananisho, D., Cumming, A. J., Kulakova, D., Shilling, P. J., & Daley, D. O. (2023). Tips for efficiently maintaining pET expression plasmids. *Current Genetics*, 69(4-6), 277–287. <https://doi.org/10.1007/s00294-023-01276-0>
- Kim, H. J., Jeong, H., & Lee, S. J. (2022). Glucose Transport through *N*-Acetylgalactosamine Phosphotransferase System in *Escherichia coli* C Strain. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(8), 1047–1053. <https://doi.org/10.4014/jmb.2205.05059>
- Kimura, S., Yamamoto, W., Miyamoto, A., Imamura, K., & Futami, J. (2025). Pre-folding purification procedures for inclusion body-derived non-tagged cationic recombinant proteins with multiple disulfide bonds for efficient refolding. *Biotechnology Progress*, 41(3), e3532. <https://doi.org/10.1002/btpr.3532>
- Kopp, J., Bayer, B., Slouka, C., Striedner, G., Dürkop, M., & Spadiut, O. (2023). Fundamental insights in early-stage inclusion body formation. *Microbial Biotechnology*, 16(5), 893–900. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14117>
- Kwon, S. K., Kim, S. K., Lee, D. H., & Kim, J. F. (2015). Comparative genomics and experimental evolution of *Escherichia coli* BL21(DE3) strains reveal the landscape of toxicity escape from membrane protein overproduction. *Scientific Reports*, 5, 16076. <https://doi.org/10.1038/srep16076>
- Lamer, T., & Vederas, J. C. (2023). Simplified cloning and isolation of peptides from "sandwiched" SUMO-peptide-intein fusion proteins. *BMC Biotechnology*, 23(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s12896-023-00779-5>
- Li, J., Han, Q., Zhang, T., Du, J., Sun, Q., & Pang, Y. (2018). Expression of soluble native protein in *Escherichia coli* using a cold-shock SUMO tag-fused expression vector. *Biotechnology Reports (Amsterdam, Netherlands)*, 19, e00261. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2018.e00261>
- Lipinszki, Z., VERNYIK, V., Farago, N., Sari, T., Puskas, L. G., Blattner, F. R., Posfai, G., & Gyorfy, Z. (2018). Enhancing the translational capacity of *E. coli* by resolving the codon bias. *ACS Synthetic Biology*, 7(11), 2656–2664. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.8b00332>
- Lozano Terol, G., Gallego-Jara, J., Sola Martínez, R. A., Martínez Vivancos, A., Cánovas Díaz, M., & de Diego Puente, T. (2021). Impact of the expression system on recombinant protein production in *Escherichia coli* BL21. *Frontiers in Microbiology*, 12, 682001. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.682001>
- Luo, X., Ma, Y., & Xiang, Q. (2025). New frontiers in the production of functional recombinant proteins. *Bioengineering (Basel, Switzerland)*, 12(4), 351. <https://doi.org/10.3390/bioengineering12040351>
- Loughran, S. T., Bree, R. T., & Walls, D. (2023). Poly-Histidine-tagged protein purification using immobilized metal affinity chromatography (IMAC). In: Loughran, S.T., Milne, J.J. (eds) Protein Chromatography. *Methods in Molecular Biology* (Humana, New York, NY.), 2699, 193–223. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3362-5_11
- Lübke, C., Boidol, W., & Petri, T. (1995). Analysis and optimization of recombinant protein production in *Escherichia coli* using the inducible pho A promoter of the *E. coli* alkaline

- phosphatase. *Enzyme and Microbial Technology*, 17(10):923–928. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(94\)00130-j](https://doi.org/10.1016/0141-0229(94)00130-j)
- Makino, T., Skretas, G., & Georgiou, G. (2011). Strain engineering for improved expression of recombinant proteins in bacteria. *Microbial Cell Factories*, 10, 32. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-32>
- Manen, D., & Caro, L. (1991). The replication of plasmid pSC101. *Molecular Microbiology*, 5(2), 233–237. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1991.tb02103.x>
- Mellies, J., Brems, R., & Villarejo, M. (1994). The *Escherichia coli* proU promoter element and its contribution to osmotically signaled transcription activation. *Journal of Bacteriology*, 176(12), 3638–3645. <https://doi.org/10.1128/jb.176.12.3638-3645.1994>
- Menart, V., Jevsevar, S., Vilar, M., Trobis, A., & Pavko, A. (2003). Constitutive versus thermoinducible expression of heterologous proteins in *Escherichia coli* based on strong PR, PL promoters from phage lambda. *Biotechnology and Bioengineering*, 83(2), 181–190. <https://doi.org/10.1002/bit.10660>
- Millard, P., Enjalbert, B., Uttenweiler-Joseph, S., Portais, J. C., & Létisse, F. (2021). Control and regulation of acetate overflow in *Escherichia coli*. *eLife*, 10, e63661. <https://doi.org/10.7554/eLife.63661>
- Mishra, V. (2020). Affinity Tags for Protein Purification. *Current Protein & Peptide Science*, 21(8), 821–830. <https://doi.org/10.2174/1389203721666200606220109>
- Mooney, J. T., Fredericks, D. P., Christensen, T., Bruun Schiødt, C., & Hearn, M. T. (2015). N-terminal processing of affinity-tagged recombinant proteins purified by IMAC procedures. *Journal of Molecular Recognition: JMR*, 28(7), 401–412. <https://doi.org/10.1002/jmr.2456>
- Morão, L. G., Manzine, L. R., Clementino, L. O. D., Wrenger, C., & Nascimento, A. S. (2022). A scalable screening of *E. coli* strains for recombinant protein expression. *PloS One*, 17(7), e0271403. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0271403>
- Neef, J., van Dijk, J. M., & Buist, G. (2021). Recombinant protein secretion by *Bacillus subtilis* and *Lactococcus lactis*: pathways, applications, and innovation potential. *Essays in Biochemistry*, 65(2), 187–195. <https://doi.org/10.1042/EBC20200171>
- Nemergut, M., Škrabana, R., Berta, M., Plückthun, A., & Sedláč, E. (2021). Purification of MBP fusion proteins using engineered DARPin affinity matrix. *International Journal of Biological Macromolecules*, 187, 105–112. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.117>
- Nguyen, H. D., & Phan, T. T. P. (2022). A protocol to enhance soluble protein expression in the cytoplasm of *Bacillus subtilis*. In: Garcia Fruitós, E., Arís Giralt, A. (eds) *Insoluble Proteins. Methods in Molecular Biology* (Humana, New York, NY.), 2406, 233–243. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1859-2_14
- Ni, Z., Li, Z., Wu, J., Ge, Y., Liao, Y., Yuan, L., Chen, X., & Yao, J. (2020). Multi-path optimization for efficient production of 2'-fucosyllactose in an engineered *Escherichia coli* C41 (DE3) derivative. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 611900. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.611900>
- Oscorbin, I. P., Kunova, M. S., & Filipenko, M. L. (2025). Optimization of conditions for production of soluble *E. coli* poly(A)-polymerase for biotechnological applications. *Biology*, 14(1), 48. <https://doi.org/10.3390/biology14010048>
- Ojima-Kato, T. (2025). Advances in recombinant protein production in microorganisms and functional peptide tags. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 89(1), 1–10. <https://doi.org/10.1093/bbb/zbae147>
- Okoto, P. S., Sonniata, S., Sakhel, B., Muhoza, D., Adams, P., & Kumar, T. K. S. (2023). A simple purification method for heat-stable recombinant low molecular weight proteins and peptides via

- GST-fusion products. In: Sousa, Â., Passarinha, L. (eds) *Advanced Methods in Structural Biology. Methods in Molecular Biology* (Humana, New York, NY.), 2652, 147–169. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3147-8_8
- Ortega, C., Oppezzo, P., & Correa, A. (2022). Overcoming the solubility problem in *E. coli*: Available approaches for recombinant protein production. In: Garcia Fruitós, E., Arís Giralt, A. (eds) *Insoluble Proteins. Methods in Molecular Biology* (Humana, New York, NY.), 2406, 35–64. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1859-2_2
- Ouyang, R., Gu, H., Yuan, J., Sun, Y., & Zhao, X. (2025). Global trends in recombinant human growth hormone for the treatment of idiopathic short stature: a bibliometric analysis. *Frontiers in Medicine*, 12, 1577396. <https://doi.org/10.3389/fmed.2025.1577396>
- Packiam, K. A. R., Ramanan, R. N., Ooi, C. W., Krishnaswamy, L., & Tey, B. T. (2020). Stepwise optimization of recombinant protein production in *Escherichia coli* utilizing computational and experimental approaches. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(8), 3253–3266. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10454-w>
- Parada, C. A., & Mariani, K. J. (1991). Mechanism of DNA A protein-dependent pBR322 DNA replication. DNA A protein-mediated trans-strand loading of the DNA B protein at the origin of pBR322 DNA. *The Journal of Biological Chemistry*, 266(28), 18895–18906. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)55148-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)55148-6)
- Paremskaia, A. I., Kogan, A. A., Murashkina, A., Naumova, D. A., Satish, A., Abramov, I. S., Feoktistova, S. G., Mityaeva, O. N., Deviatkin, A. A., & Volchkov, P. Y. (2024). Codon-optimization in gene therapy: promises, prospects and challenges. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 12, 1371596. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1371596>
- Pina, A. S., Batalha, Í. L., Dias, A. M. G. C., & Roque, A. C. A. (2021). Affinity tags in protein purification and peptide enrichment: An overview. In: Labrou, N.E. (eds) *Protein Downstream Processing. Methods in Molecular Biology* (Humana, New York, NY.), 2178, 107–132. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0775-6_10
- Pouresmaeil, M., & Azizi-Dargahlou, S. (2023). Factors involved in heterologous expression of proteins in *E. coli* host. *Archives of Microbiology*, 205(5), 212. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03541-9>
- Qi, W., Jonker, M. J., Teichmann, L., Wortel, M., & Ter Kuile, B. H. (2023). The influence of oxygen and oxidative stress on de novo acquisition of antibiotic resistance in *E. coli* and *Lactobacillus lactis*. *BMC Microbiology*, 23(1), 279. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-03031-4>
- Qiao, J., Li, W., Lin, S., Sun, W., Ma, L., & Liu, Y. (2019). Co-expression of Cas9 and single-guided RNAs in *Escherichia coli* streamlines production of Cas9 ribonucleoproteins. *Communications Biology*, 2, 161. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0402-x>
- Quax, T. E. F., Claassens, N. J., Söll, D., & van der Oost, J. (2015). Codon bias as a means to fine-tune gene expression. *Molecular Cell*, 59(2), 149–161. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.05.035>
- Ramiro-Martínez, P., de Quinto, I., Lanza, V. F., Gama, J. A., & Rodríguez-Beltrán, J. (2025). Universal rules govern plasmid copy number. *Nature Communications*, 16(1), 6022. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-61202-5>
- Reckinger, A. R., Jeong, K. S., Khodursky, A. B., & Hiasa, H. (2007). RecA can stimulate the relaxation activity of topoisomerase I: Molecular basis of topoisomerase-mediated genome-wide transcriptional responses in *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Research*, 35(1), 79–86. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl981>
- Restrepo-Pineda, S., Rosiles-Becerril, D., Vargas-Castillo, A. B., Ávila-Barrientos, L. P., Luviano, A., Sánchez-Puig, N., García-Hernández, E., Pérez, N. O., Trujillo-Roldán, M. A., & Valdez-Cruz, N.

- A. (2022). Induction temperature impacts the structure of recombinant HuGM-CSF inclusion bodies in thermoinducible *E. coli*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 59. <https://www.ejbiotechnology.info/index.php/ejbiotechnology/article/view/2022.08.004>
- Roots, C. T., Hill, A. M., Wilke, C. O., & Barrick, J. E. (2025). Codon usage modulates the relationship between the burden and yield of protein overexpression. *Journal of Biological Engineering*, 19(1), 50. <https://doi.org/10.1186/s13036-025-00521-z>
- Rosano, G. L., Morales, E. S., & Ceccarelli, E. A. (2019). New tools for recombinant protein production in *Escherichia coli*: A 5-year update. *Protein Science: A Publication of the Protein Society*, 28(8), 1412–1422. <https://doi.org/10.1002/pro.3668>
- Rossi, M., Brigidi, P., Gonzalez Vara y Rodriguez, A., & Matteuzzi, D. (1996). Characterization of the plasmid pMB1 from *Bifidobacterium longum* and its use for shuttle vector construction. *Research in Microbiology*, 147(3), 133–143. [https://doi.org/10.1016/0923-2508\(96\)80213-0](https://doi.org/10.1016/0923-2508(96)80213-0)
- Rouches, M. V., Xu, Y., Cortes, L. B. G., & Lambert, G. (2022). A plasmid system with tunable copy number. *Nature Communications*, 13(1), 3908. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31422-0>
- Sánchez, J. M., Carratalá, J. V., Serna, N., Unzueta, U., Nolan, V., Sánchez-Chardi, A., Voltà-Durán, E., López-Laguna, H., Ferrer-Miralles, N., Villaverde, A., & Vazquez, E. (2022). The poly-Histidine tag H6 mediates structural and functional properties of disintegrating, protein-releasing inclusion bodies. *Pharmaceutics*, 14(3), 602. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030602>
- Schlegel, S., Genevaux, P., & de Gier, J. W. (2015). De-convoluting the genetic adaptations of *E. coli* C41(DE3) in Real Time reveals how alleviating protein production stress improves yields. *Cell Reports*, 10(10), 1758–1766. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.02.029>
- Schuster, L. A., & Reisch, C. R. (2022). Plasmids for controlled and tunable high-level expression in *E. coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(22), e00939-22. <https://doi.org/10.1128/aem.00939-22>
- Schütz, A., Bernhard, F., Berrow, N., Buyel, J. F., Ferreira-da-Silva, F., Haustraete, J., van den Heuvel, J., Hoffmann, J. E., de Marco, A., Peleg, Y., Suppmann, S., Unger, T., Vanhoucke, M., Witt, S., & Remans, K. (2023). A concise guide to choosing suitable gene expression systems for recombinant protein production. *STAR Protocols*, 4(4), 102572. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2023.102572>
- Shilling, P. J., Mirzadeh, K., Cumming, A. J., Widesheim, M., Köck, Z., & Daley, D. O. (2020). Improved designs for pET expression plasmids increase protein production yield in *Escherichia coli*. *Communications Biology*, 3(1), 214. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0939-8>
- Singh, A. (2020). Design of improved pET expression plasmids. *Nature Methods*, 17(7), 655. <https://doi.org/10.1038/s41592-020-0904-y>
- Singh, A., Upadhyay, V., Upadhyay, A. K., Singh, S. M., & Panda, A. K. (2015). Protein recovery from inclusion bodies of *Escherichia coli* using mild solubilization process. *Microbial Cell Factories*, 14, 41. <https://doi.org/10.1186/s12934-015-0222-8>
- Snoeck, S., Guidi, C., & De Mey, M. (2024). "Metabolic burden" explained: stress symptoms and its related responses induced by (over)expression of (heterologous) proteins in *Escherichia coli*. *Microbial Cell Factories*, 23(1), 96. <https://doi.org/10.1186/s12934-024-02370-9>
- Studier, F. W. (1991). Use of bacteriophage T7 lysozyme to improve an inducible T7 expression system. *Journal of Molecular Biology*, 219(1), 37–44. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(91\)90855-z](https://doi.org/10.1016/0022-2836(91)90855-z)
- Studier, F. W. (2005). Protein production by auto-induction in high density shaking cultures. *Protein Expression and Purification*, 41(1), 207–234. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2005.01.016>

- Studier, F. W. (2014). Stable expression clones and auto-induction for protein production in *E. coli*. In: Chen, Y. (eds) Structural Genomics. *Methods in Molecular Biology* (Humana Press, Totowa, NJ.), 1091, 17–32. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-691-7_2
- Studier, F. W., & Moffatt, B. A. (1986). Use of bacteriophage T7 RNA polymerase to direct selective high-level expression of cloned genes. *Journal of Molecular Biology*, 189(1), 113–130. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(86\)90385-2](https://doi.org/10.1016/0022-2836(86)90385-2)
- Sutcliffe, J. G. (1978). Nucleotide sequence of the ampicillin resistance gene of *Escherichia coli* plasmid pBR322. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 75(8), 3737–3741. <https://doi.org/10.1073/pnas.75.8.3737>
- Tahara, N., Tachibana, I., Takeo, K., Yamashita, S., Shimada, A., Hashimoto, M., Ohno, S., Yokogawa, T., Nakagawa, T., Suzuki, F., & Ebihara, A. (2021). Boosting Auto-Induction of Recombinant Proteins in *Escherichia coli* with Glucose and Lactose Additives. *Protein and Peptide Letters*, 28(10), 1180–1190. <https://doi.org/10.2174/0929866528666210805120715>
- Takahashi, M., & Aoyagi, H. (2020). Analysis and effect of conventional flasks in shaking culture of *Escherichia coli*. *AMB Express*, 10(1), 77. <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01013-7>
- Tihanyi, B., & Nyitray, L. (2020). Recent advances in CHO cell line development for recombinant protein production. *Drug Discovery Today. Technologies*, 38, 25–34. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2021.02.003>
- Unver, Y., & Dagci, I. (2024). *Komagataella phaffii* (*Pichia pastoris*) as a powerful yeast expression system for biologics production. *Frontiers in Bioscience (Elite edition)*, 16(2), 19. <https://doi.org/10.31083/j.fbe1602019>
- Vijayakumar, V. E., & Venkataraman, K. (2024). A systematic review of the potential of *Pichia pastoris* (*Komagataella phaffii*) as an alternative host for biologics production. *Molecular Biotechnology*, 66(7), 1621–1639. <https://doi.org/10.1007/s12033-023-00803-1>
- Wang, H., Guo, J., Chen, X., & He, H. (2023). The metabolomics changes in Luria-Bertani broth medium under different sterilization methods and their effects on *Bacillus* growth. *Metabolites*, 13(8), 958. <https://doi.org/10.3390/metabo13080958>
- Wang, Y., Ding, H., Du, P., Gan, R., & Ye, Q. (2005). Production of *phoA* promoter-controlled human epidermal growth factor in fed-batch cultures of *Escherichia coli* YK537 (pAET-8). *Process Biochemistry*, 40(9):3068–3074. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.010>
- Wegerer, A., Sun, T., & Altenbuchner, J. (2008). Optimization of an *E. coli* L-rhamnose-inducible expression vector: test of various genetic module combinations. *BMC Biotechnology*, 8, 2. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-8-2>
- Yang, S., Song, L., Wang, J., Zhao, J., Tang, H., & Bao, X. (2024). Engineering *Saccharomyces cerevisiae* for efficient production of recombinant proteins. *Engineering Microbiology*, 4(1), 100122. <https://doi.org/10.1016/j.engmic.2023.100122>
- Yang, Y., Shahinozzaman, M., Shin, H., Bupp, S., & Sourbier, C. (2025). Impact of structure and formulation changes on the function of insulin products. *Frontiers in Endocrinology*, 16, 1601119. <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1601119>
- Yildiz, A. N., Kasapbasi, E. E., Yurtsever, Z., & Yurtsever, M. (2024). DFT study on the His-tag binding affinity of metal ions in modeled hexacationic metal complexes. *ACS Omega*, 9(46), 45920–45925. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c05422>
- Yoon, K. P., & Silver, S. (1991). A second gene in the *Staphylococcus aureus* cadA cadmium resistance determinant of plasmid pI258. *Journal of Bacteriology*, 173(23), 7636–7642. <https://doi.org/10.1128/jb.173.23.7636-7642.1991>

- Zainuddin, H. S., Murali, S. K., & Mansell, T. J. (2026). Engineered stable, antibiotic-free, high-level protein expression in the probiotic chassis *Escherichia coli* Nissle 1917. *Biotechnology and Bioengineering*, 123(3), 776–784. <https://doi.org/10.1002/bit.70130>
- Zarkar, N., Nasiri Khalili, M. A., Khodadadi, S., Zeinoddini, M., & Ahmadpour, F. (2020). Expression and purification of soluble and functional fusion protein DAB389 IL-2 into the *E. coli* strain Rosetta-gami (DE3). *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 67(2), 206–212. <https://doi.org/10.1002/bab.1833>
- Zhang, Z. X., Nong, F. T., Wang, Y. Z., Yan, C. X., Gu, Y., Song, P., & Sun, X. M. (2022). Strategies for efficient production of recombinant proteins in *Escherichia coli*: alleviating the host burden and enhancing protein activity. *Microbial Cell Factories*, 21(1), 191. <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01917-y>
- Zhao, M., Vandersluis, M., Stout, J., Haupts, U., Sanders, M., & Jacquemart, R. (2019). Affinity chromatography for vaccines manufacturing: Finally ready for prime time? *Vaccine*, 37(36), 5491–5503. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.02.090>
- Zhong, C., Wei, P., & Zhang, Y. -H.P. (2017). Enhancing functional expression of codon-optimized heterologous enzymes in *Escherichia coli* BL21(DE3) by selective introduction of synonymous rare codons. *Biotechnology and Bioengineering*, 114(5), 1054–1064. <https://doi.org/10.1002/bit.26238>

2026 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Prevalencia de alteraciones musculoesqueléticas y su asociación con riesgo ergonómico en personal administrativo: un estudio transversal

Prevalence of musculoskeletal disorders and their association with ergonomic risk in administrative staff: A cross-sectional study

Jesús Daniel Estupiñán Vargas¹, Blanca G. Beltrán¹, Alfonso Ramiro Sánchez López², Acosta-Montes JO¹, Adriana Chávez-Calderón^{1*}

¹ Facultad de Enfermería y Nutriología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Circuito Universitario, Campus II. Chihuahua, Chihuahua, México. C.P.31125.

² Universidad Autónoma de Guadalajara. Posgrado Ciencias de la Salud, Guadalajara, Jalisco, México. Av Montevideo (esq. Av Acueducto). C.P. 44670

*Correspondencia: Correo electrónico: adchavez@uach.mx (Adriana Chávez-Calderón)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v20i1.2046>

Recibido: 25 de agosto de 2025; Aceptado: 20 de noviembre de 2025

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editora de Sección: Dra. Silvia Giono-Cerezo

Resumen

Los trastornos musculoesqueléticos (TME) representan un problema de salud laboral creciente en el ámbito de los trabajadores administrativos, asociado a posturas estáticas inadecuadas y condiciones ergonómicas deficientes. El objetivo fue evaluar la prevalencia de TME y su asociación con el riesgo ergonómico en trabajadores administrativos universitarios. Se realizó un estudio observacional, exploratorio y descriptivo de corte transversal con 40 trabajadores administrativos. La evaluación de TME se realizó mediante el Cuestionario Nórdico de Kuorinka y el método ROSA para el riesgo ergonómico. Se verificó la normalidad de los datos sociodemográficos y antropométricos mediante la prueba de Shapiro-Wilk ($\alpha=0.05$). Se utilizó Chi-cuadrado para analizar la asociación entre TME y regiones anatómicas, y regresión logística ordinal para evaluar la asociación con variables independientes (sexo, edad, IMC y riesgo ergonómico) con significancia de $\alpha=0.05$ e intervalos de confianza del 95 %. Los resultados evidenciaron una prevalencia general de TME del 95 %, siendo la región lumbar la más afectada (65 %), seguida de la cervical (60 %) y la espalda alta (35 %). El análisis de riesgo ergonómico reveló que el 62,5 % de los trabajadores presentó riesgo muy alto, el 22,5 % alto y el 15 % extremo. No se observó asociación estadísticamente significativa entre TME y los riesgos ergonómicos de la estación de trabajo, excepto en el hombro derecho. Estos hallazgos proporcionan evidencia científica para identificar a trabajadores que requieren una intervención

ergonómica prioritaria, contribuyendo a la implementación de estrategias preventivas específicas en el entorno laboral del personal administrativo universitario.

Palabras clave: trastornos musculoesqueléticos, riesgo ergonómico, trabajadores administrativos, salud laboral, Cuestionario Nórdico Kuorinka, Método ROSA.

Abstract

Musculoskeletal disorders (MSDs) represent a growing occupational health problem in administrative workers, associated with inadequate static postures and poor ergonomic conditions. The objective was to evaluate the prevalence of MSDs and their association with ergonomic risk in university administrative workers. An observational, exploratory, and descriptive cross-sectional study was carried out with 40 administrative workers. The evaluation of MSDs was performed using the Nordic Questionnaire and the ROSA method to assess ergonomic risk. The normality of the sociodemographic and anthropometric data was verified using the Shapiro-Wilk test ($\alpha=0.05$). Chi-square was used to analyze the association between MSDs and anatomical regions, and ordinal logistic regression was used to evaluate the association with independent variables (sex, age, BMI, and ergonomic risk) with significance of $\alpha=0.05$ and 95 % confidence intervals. The results showed an overall prevalence of MSDs of 95 %, with the lumbar region being the most affected (65 %), followed by the cervical region (60 %) and the upper back (35 %). Ergonomic risk analysis revealed that 62.5 % of workers presented a very high risk, 22.5 % a high risk, and 15 % an extreme risk. There was no statistically significant association between MSDs and ergonomic workstation hazards, except in the right shoulder. These findings provide scientific evidence to identify workers who require priority ergonomic intervention, contributing to the implementation of specific preventive strategies in the work environment of university administrative staff.

Keywords: musculoskeletal disorders, ergonomic risk, administrative workers, occupational health, Nordic Kuorinka Questionnaire, ROSA.

1. Introducción

Los trastornos musculoesqueléticos (TME) representan una problemática de magnitud global que tiene una repercusión económica considerable, ya que afectan a aproximadamente 1 710 millones de personas en el mundo y constituyen la principal causa de discapacidad a nivel global (Molina Aragonés et al., 2023). El dolor lumbar es una de las principales afectaciones a los trabajadores de oficina, en donde las posturas inadecuadas, manipulación incorrecta de cargas, tareas repetitivas y el sedentarismo prolongado aumentan las molestias en cuello, espalda y extremidades superiores (Putsa et al., 2022).

La complejidad etiológica de los TME se caracteriza por su desarrollo gradual y multifactorial, lo que hace que su diagnóstico sea frecuentemente tardío. Diversos estudios han establecido una interacción entre las características del trabajador como estilo de vida, sexo y las condiciones del ambiente físico y organizativo laboral (Echezuria 2013). La sintomatología es variada, como fatiga, sensación de peso, dolor, entumecimiento, parestesias, rigidez, que afecta principalmente el cuello, tronco y extremidades superiores e inferiores, y estos síntomas se relacionan con los riesgos derivados de las

propias instalaciones, equipos y diseños de puesto de trabajo (Habibi et al., 2017; Besharati et al., 2020).

La digitalización y el aumento del sedentarismo han transformado el trabajo de oficina. El trabajador, en promedio, puede permanecer 10.6 horas diarias sentado frente a pantallas, lo que favorece posturas estáticas y movimientos repetitivos, elevando el riesgo de desarrollar TME (Castro García et al., 2021). La prevalencia del dolor lumbar en usuarios de equipos informáticos y personal de oficina oscila entre 17 % al 64 %, por la influencia de múltiples factores como los riesgos ergonómicos y psicosociales (Echezurúa Marval et al., 2013; Sánchez Medina, 2018^a; Molina Aragón et al., 2023).

El impacto de los TME se extiende más allá de un padecimiento individual, llega a generar una carga económica y sanitaria significativa en la Unión Europea. Según la European Agency for Safety and Health at Work (2019), los TME son un problema de salud relacionado principalmente con el trabajo, afectando a aproximadamente tres de cada cinco trabajadores, generando ausentismo laboral y pérdidas en la productividad, causando gastos para las empresas y los sistemas de salud. En México son la principal causa de años vividos con discapacidad, donde los principales trastornos son: lumbalgia, dolor cervical, osteoartritis, artritis reumatoide que ocasionan en los trabajadores gran discapacidad porque limitan la movilidad, deterioran la función articular, incrementan el dolor crónico y el deterioro de la calidad de vida (Clark et al., 2023).

La evolución hacia trabajos administrativos más digitalizados ha intensificado los factores de riesgo por las prolongadas posturas sedentarias que afectan al sistema osteomuscular, favoreciendo la atrofia de fibras, la rigidez de las articulaciones en la circulación local, generando micro lesiones y dolencias crónicas en cuello y espalda baja, por lo que conocer los principales TME y los factores ergonómicos críticos que pueden desencadenarlos como: silla sin soporte lumbar, ni ajustes de altura, pies parcialmente suspendidos, distancia y altura de pantalla incorrecta, por lo que identificarlos es necesario para poder diseñar e implementar acciones preventivas que mejoren la salud del sistema musculoesquelético y optimicen el rendimiento laboral (Mohammadipour et al., 2018; Montoya Domínguez y Cetre Palacios, 2022; Stefane et al., 2024).

Otros factores que se relacionan con los riesgos ergonómicos y que dependen de la configuración de la estación de trabajo, son la insuficiencia de pausas activas, elevada carga de trabajo, prolongación de las jornadas frente al ordenador que esto favorece la cronificación de los síntomas y en el personal administrativo universitario se combina el uso intensivo de computadoras con jornadas extensas, por lo que se convierten en trabajadores especialmente vulnerables a TME (Vernaza-Pinzón & Sierra-Torres, 2005; Putsa et al., 2022).

En México, la normatividad vigente en la materia riesgos ergonómicos (STPS, 2018) recomienda la aplicación del Cuestionario Nórdico de Kuorinka, que tiene como objetivo recolectar información de nueve regiones anatómicas clave (cuello, hombros, codos, muñecas/maños, espalda alta y baja, caderas, rodillas y tobillos/pies), que permiten evaluar de manera rápida, fiable y económica la presencia de dolor, molestias o limitación funcional del último año y de la última semana de actividades laborales, lo que genera una visión amplia de la sintomatología crónica y aguda del trabajador, que es esencial para diseñar estrategias preventivas y de seguimiento. En la evaluación del riesgo ergonómico el método Rapid Office Strain Assessment (ROSA), esta específicamente orientado a los riesgos asociados con el trabajo en computadora, evaluado posturas inadecuadas y factores de riesgo relacionados con el uso de equipos de oficina como el ratón, monitor, teclado, silla, etc., que proporcionan información sobre la necesidad de una posible intervención ergonómica por

la priorización objetiva del riesgo ergonómico identificado (Matos y Arezes, 2015; Mohammadipour et al., 2018).

Los factores de riesgo ergonómicos comunes identificados por el método ROSA están relacionados con la estación de trabajo, posturas incómodas y posiciones estáticas prolongadas, los cuales se relacionan directamente con los TME (Cuestionario Nórdico de Korincua), como el dolor de cuello, hombros y espalda baja, que es prevalente entre los trabajadores de oficina. Por lo anterior, asociaciones de carácter mundial, como la International Labour Organization (ILO) y European Agency for Safety and Health at Work (EU-OSHA), señalan la importancia de realizar estudios que combinen la evaluación de los síntomas de los trabajadores y de los riesgos ergonómicos que están presentes dentro de su ambiente de trabajo para de esta manera diseñar y aplicar estrategias ergonómicas adaptadas al contexto del área de trabajo general (Hulshof et al., 2021). Por ello, el presente estudio evaluó la prevalencia de TME y los riesgos ergonómicos del personal administrativo de una universidad, con el fin de establecer bases sólidas para el diseño y la futura implementación de intervenciones ergonómicas preventivas.

2. Materiales y métodos

2.1 Diseño del estudio

Se realizó un estudio observacional, descriptivo y analítico de corte transversal, con enfoque cuantitativo, para caracterizar la prevalencia de TME, identificar los factores de riesgo ergonómicos y evaluar las asociaciones entre ambos en trabajadores administrativos de una institución de educación superior ubicada en Jalisco, México.

2.2 Población de estudio

La población objetivo del estudio estuvo compuesta por 42 trabajadores administrativos de tiempo completo del departamento administrativo de la universidad. Los trabajadores desempeñan funciones relacionadas con la gestión académica, los recursos humanos, las finanzas y los servicios generales. El tamaño de muestra se calculó utilizando la fórmula de poblaciones finitas ($n=40$), con un margen de error del 5 % y un nivel de confianza del 95 %, lo que aseguró una muestra estadísticamente representativa. Los criterios de inclusión para los participantes fueron: trabajadores con edad entre 18 y 65 años, personal administrativo con más de un año de experiencia en el puesto, empleados que desempeñen exclusivamente funciones administrativas en la oficina y aceptación voluntaria de participación mediante la firma del consentimiento informado. En los criterios de exclusión, el personal administrativo en formación o periodo de prueba y trabajadores con incapacidad médica activa o licencia de ausencia durante el periodo de estudio.

2.3 Instrumentos de medición

Evaluación de trastornos musculoesqueléticos

El Cuestionario Nórdico de Kuorinka es un instrumento estandarizado y validado internacionalmente para la detección de síntomas musculoesqueléticos en contextos de salud laboral (Kuorinka et al., 1987; véase Material Suplementario). El cuestionario se basa en el historial de TME en zonas del cuerpo (cuello, hombros, codos, muñecas/manos, espalda superior, caderas/músculos, rodillas y tobillos/pies), permitiendo evaluar la presencia de dolor, molestias o incomodidades en los últimos 12 meses y 7 días, así como su impacto funcional en las actividades laborales y cotidianas. En el presente estudio se aplicó una versión adaptada del Cuestionario Nórdico de Kuorinka. El cuestionario se aplicó de forma digital mediante formularios electrónicos en la plataforma Google Forms, garantizando la confidencialidad y el anonimato de los participantes. La aplicación fue supervisada por un médico especialista en salud laboral para resolver dudas y asegurar la correcta implementación del instrumento.

Evaluación del riesgo ergonómico

El método ROSA es específico para su aplicación en puestos de trabajo de oficinas administrativas y evalúa de manera sistemática los elementos que los componen, como sillas, superficies de trabajo, pantallas, teclados, ratones y otros equipos de oficina. La puntuación del método ROSA oscila entre 1 y 10, y establece cinco niveles de actuación según el nivel de riesgo del lugar de trabajo (Tabla 1). De manera general, las puntuaciones de 5 o superiores representan un nivel de riesgo alto que requiere de una intervención inmediata (Pramono et al., 2022).

Tabla 1. Rangos de puntuación del método ROSA.

Table 1. ROSA method scores rango.

Puntuación	Riesgo	Nivel	Actuación
1	Inapreciable	0	No es necesaria actuación
2;3;4	Mejorable	1	Pueden mejorarse algunos elementos del puesto
5	Alto	2	Es necesario actuación
6;7;8	Muy alto	3	Es necesario actuar cuanto antes
9;10	Extremo	4	Es necesaria la actuación urgente

La evaluación ROSA se realizó mediante la observación directa del puesto de trabajo durante la jornada laboral, complementada con registro fotográfico para su posterior análisis detallado. Se efectuaron mediciones manuales de las dimensiones del puesto de trabajo utilizando instrumentos calibrados para su uso; adicionalmente, se realizaron breves entrevistas con los trabajadores para aclarar aspectos específicos relacionados con su puesto de trabajo y las actividades que realizan normalmente.

2.4 Consideraciones éticas

El estudio fue desarrollado conforme a los principios éticos establecidos en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial y las normativas mexicanas vigentes, incluyendo la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y la NOM-012-SSA3-2012. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los participantes, garantizando la confidencialidad y el uso exclusivo académico de los datos recopilados. Se establecieron acuerdos de confidencialidad con la institución participante y se aseguró el anonimato en el manejo de los datos personales, en cumplimiento del Reglamento de la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares.

2.5 Análisis estadístico

Los datos fueron capturados y procesados en hojas de cálculo de Excel y analizados con Minitab. Se realizó un análisis estadístico descriptivo para caracterizar la muestra, incluyendo medidas de tendencia central y de dispersión para todas las variables cuantitativas. Se verificó la normalidad de las variables cuantitativas (edad, peso, talla e índice de masa corporal) mediante la prueba de Shapiro-Wilk ($\alpha = 0.05$). Si las variables no cumplían con la distribución normal, se analizaban mediante pruebas no paramétricas equivalentes. En el análisis de asociación entre TME y regiones anatómicas se utilizó la prueba de Chi-cuadrado. Posteriormente, se realizó un análisis multivariado mediante regresión logística ordinal para evaluar la asociación entre las variables independientes (sexo, edad, IMC y riesgo ergonómico) y la variable dependiente (TME). La bondad de ajuste del modelo se evaluó mediante pruebas de Pearson y desviación ($p > 0.05$). Los modelos de regresión logística se evaluaron a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ e intervalos de confianza del 95 % para los coeficientes estimados (odds ratio).

3. Resultados y discusión

Características sociodemográficas y antropométricas de los trabajadores administrativos.

La muestra estuvo compuesta por 40 trabajadores administrativos que cumplieron con todos los criterios de inclusión. Se observó una marcada prevalencia femenina (80 %), hallazgo que coincide con estudios previos en ambientes administrativos y refleja tanto la mayor concentración de mujeres en puestos administrativos como su vulnerabilidad a padecer TME (Bagheri y GHajahi, 2019; Rodrigues et al., 2019). La prueba de Shapiro-Wilk mostró que la variable talla fue la única con una distribución normal ($p > 0.100$). Edad, peso e IMC presentaron p-valores cercanos o inferiores al punto de corte, por lo que se aplicaron pruebas no paramétricas en los análisis posteriores ($p < 0.05$; Tabla 2). El índice de masa corporal (IMC) promedio fue de $24.91 \pm 5.03 \text{ kg/m}^2$, indicando que se encuentra en el límite superior del rango normal, con el 50 % de los trabajadores en peso normal, 37.5 % de sobrepeso y 12.5 % de obesidad grado I. Estos datos son relevantes desde la perspectiva de ergonomía ya que en estudios previos se ha incluido el IMC como un factor de riesgo modificable en la generación de los TME. Esto se explica por el incremento en la carga mecánica de las articulaciones

y músculos, especialmente en la zona lumbar y rodillas, generando una menor resistencia física y mayor tensión ansiógena (Sánchez Medina, 2018; Rodrigues et al., 2019; Besharati et al., 2020).

Tabla 2. Características demográficas y antropométricas de la población estudiada.

Table 2. Demographic and anthropometric characteristics of the study population.

Variable	Media $\pm$ DE	Rango	p-valor*
Edad (años)	38.05 $\pm$ 9.36	26-59	0.020
Talla (cm)	164.6 $\pm$ 9.19	150-186	>0.100
Peso (kg)	67.63 $\pm$ 15.11	41-120	0.040
IMC (kg/m ²)	24.91 $\pm$ 5.03	15.06-41.52	0.047

*p-valor de normalidad (Shapiro-Wilk)

Prevalencia de trastornos musculoesqueléticos

En el análisis del cuestionario Nórdico de Kuorinka, se evidenció una prevalencia general de TME del 95 % en la población estudiada (Fig. 1). La región lumbar presentó la mayor prevalencia de síntomas (65 %), seguida por la región cervical (60 %) y la espalda alta (35 %). La distribución se mantuvo consistente tanto para los síntomas en los últimos 12 meses y 7 días. La cronicidad de los síntomas se evidenció en la alta proporción de casos que persistieron en la última semana.

En los resultados de la aplicación del cuestionario de Nordico de Kuorinka, se observó la prevalencia alta de TME del 95 % del personal administrativo evaluado, provocando incapacidades en el 28 % de la población y en la última semana el 53 % presentó algún tipo de molestia. En investigaciones previas realizadas en entornos laborales sedentarios con uso de pantallas constante por más de 4 horas diarias, se ha reportado que las manos/muñeca derecha son frecuentemente la región corporal más afectada, seguida por la columna lumbar con afecciones superiores 90 % de la población afectada (Castro García et al., 2021; Wicaksono et al., 2024; Nurul Fajria y Ismiyah, 2025).

La distribución anatómica de los TME identificados en el estudio coincide con patrones reportados, en los que la espalda baja, el cuello, la espalda alta y el hombro fueron las partes del cuerpo más afectadas. Estos patrones de afectación sugieren que las demandas ergonómicas del trabajo administrativo generan cargas biomecánicas similares, independientemente del contexto cultural o geográfico. La identificación temprana de síntomas mediante este tipo de instrumentos permite evidenciar la cronicidad en el estudio que es preocupante desde la perspectiva de salud ocupacional, lo que generará en un futuro la importancia de realizar una intervención para prevenir la persistencia de estos síntomas (Mohammadipour et al., 2018; AlOmar et al., 2021).

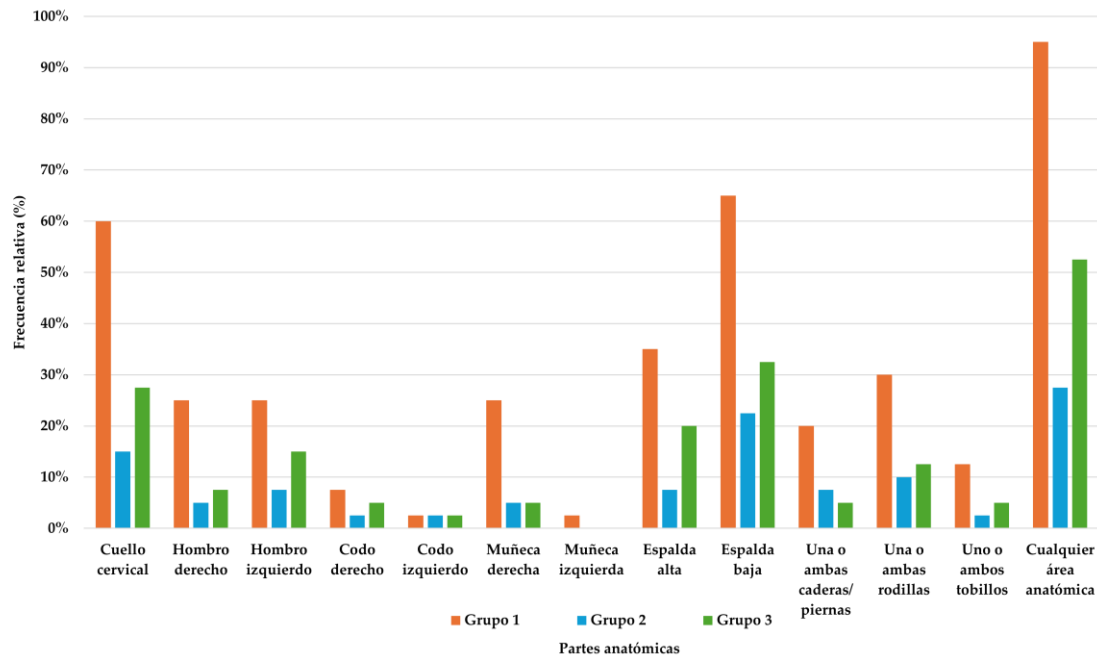


Figura 1. Prevalencia de trastornos musculoesqueléticos: Grupo 1: Dolor o molestia en los últimos 12 meses; Grupo 2: Incapacidad en los últimos 12 meses; Grupo 3: presencia de molestias o dolor en los últimos 7 días.

Figure 1. Prevalence of musculoskeletal disorders: Group 1: pain or discomfort in the last 12 months; Group 2: Disability in the previous 12 months; Group 3: presence of discomfort or pain in the last 7 days.

Evaluación del riesgo ergonómico mediante el método ROSA

En el análisis del riesgo ergonómico de los distintos componentes del puesto de trabajo. La estación de trabajo está compuesta por una silla de oficina, un escritorio, un monitor, un teclado, un ratón y en algunos casos un teléfono de escritorio, en donde el trabajador realiza tareas de oficina como entrada de datos, manejo de documentos, correos electrónicos y atención a llamadas telefónicas, y la iluminación es principalmente artificial mediante luminarias de techo. Por lo cual para la evaluación del riesgo ergonómico se determinó la frecuencia relativa de varias de las características importantes como la evaluación de la silla en donde la altura del asiento (43 %) contaban con las rodillas flectadas a 90° aproximadamente, lo que ayuda a distribuir el peso corporal minimizando la tensión en las articulaciones de cadera y columna, en cambio el 20 % no presentaban incluso contacto con el suelo lo que genera una mala posición ergonómica. Con respecto a la profundidad del asiento, el 75 % tenía asientos demasiado largos y no se podía ajustar la distancia de la base. Con respecto al reposabrazos, el 42 % se encontraba a una altura adecuada, lo que permitía al trabajador mantener los hombros relajados, mientras que el 58 % restante no contaba con las dimensiones adecuadas. También se observó que ningún reposabrazos era ajustable y que el 94 % de estos eran de superficie dura o estaban dañados, incluso algunos no contaban con reposabrazos. En el caso del respaldo de la silla, se identificó que el 68 % de los respaldos se encontraban entre 95 y 110°, lo que representa un apoyo lumbar adecuado (Tabla 3). El diseño inadecuado de la estación de trabajo, como la altura inapropiada de la silla y la falta de accesorios ergonómicos, contribuye a una postura deficiente y aumenta la tensión en el cuerpo (Salehi Sahlabadi et al., 2020; Iram et al., 2022).

Tabla 3. Evaluación del riesgo ergonómico de los componentes del puesto de trabajo en personal administrativo.
Table 3. Ergonomic risk assessment of job components in administrative coworkers.

Componente evaluado	Parámetro	Adecuado (%)	Inadecuado (%)	Observaciones adicionales
Altura del asiento	Flexión rodillas 90°	43 %	57 %	20 % sin apoyo plantar
Profundidad del asiento	Distancia apropiada	25 %	75 %	0 % regulable
Reposabrazos	Altura adecuada	42 %	58 %	0 % ajustable, 94 % superficie dura/dañada
Respaldo	Ángulo 95-110°	68 %	32 %	28 % no utiliza respaldo
Pantalla	Nivel visual óptimo	45 %	55 %	95 % maneja documentos sin atril
Teléfono	Posición neutral	74 %*	25 %*	86 % sin manos libres (*n=35)
Mouse	Alineación hombro	75 %	25 %	100 % altura correcta
Teclado	Muñecas rectas	68 %	32 %	93 % plataforma no ajustable

En la valoración de la pantalla de su equipo de cómputo, el 55 % de las personas la usaban 30° por debajo del nivel de los ojos y el 95 % maneja documentos y no cuenta con un atril para elevarlos, lo que genera un esfuerzo ergonómico. En el uso del teléfono se observó que solo 35 trabajadores usan teléfono, de los cuales el 74 % está a menos de 30 cm y se usa alzado con la mano y el cuello neutral. Resalta que el 86 % no tiene manos libres. Se observó que el 75 % de los trabajadores usan el ratón en una posición alineada con el hombro, todos a la misma altura que el teclado y sin apoyos duros en la muñeca. El teclado se utiliza con las muñecas rectas y los hombros relajados en el 68 % de los trabajadores, pero las plataformas o teclados en los que se usan no son ajustables en el 93 % de los casos.

Los resultados de la evaluación de los componentes del puesto de trabajo evidencian deficiencias ergonómicas, en particular la altura inadecuada del asiento, en la que el 20 % de los participantes no tenían contacto con el suelo; esto genera compresión vascular y tensión muscular en las extremidades inferiores. La profundidad inadecuada de los asientos genera una postura estática prolongada que puede contribuir al desarrollo de TME en la región lumbar y las extremidades inferiores. Los reposabrazos, por su parte, son fundamentales para mantener los hombros relajados y reducir la tensión en la región cervical y en el trapecio superior. Las pantallas, al estar en una posición por debajo del nivel de los ojos y el manejo de documentos sin atril, generan una flexión cervical sostenida que contribuye al desarrollo del síndrome de cabeza hacia adelante y tensión en la musculatura cervical posterior. Todo esto al final genera una reducción en la eficiencia laboral (Sonne et al., 2012; Matos y Arezes, 2015; Habibi et al., 2017; de Barros et al., 2022).

En el análisis del tiempo de exposición a los componentes del puesto de trabajo de cada uno de los accesorios en la jornada laboral (Tabla 4), los objetos que más se utilizan son la silla y la pantalla, con un promedio de más de 4 horas diarias (95 %). Seguido por el ratón y el teclado (85 %) y finalmente

el uso del teléfono fue en menor tiempo con 1 hora (63 %). Una exposición prolongada a estaciones de trabajo mal configuradas se asocia con un incremento significativo de la prevalencia de TME, particularmente en las regiones lumbar y cervical. El uso excesivo del ratón y teclado es un factor de riesgo importante, pero en menor medida que la silla y la pantalla, en general estos se asocian a trastornos en extremidades superiores, particularmente en muñeca y antebrazo (Sonne et al., 2012; Gallagher et al., 2023).

Tabla 4. Tiempo de exposición de los componentes evaluados en el puesto de trabajo.

Table 4. Exposure time to the components evaluated at the workstation.

Equipo	< 1 hora (%)	-4 horas (%)	> 4 horas (%)
Silla	0	2	98
Pantalla	0	2	98
Mouse	3	12	85
Teclado	0	15	85
Teléfono	63	28	9

Clasificación de los niveles de riesgo ergonómico

En general, los trabajadores que participaron en el estudio presentaron algún nivel de riesgo ergonómico (Fig. 2) en donde el nivel muy alto se presentó en el 62.5 % (n=25), el nivel alto en el 22.5 % (n=9) y el riesgo extremo en el 15 % (n=6), de la población analizada. Estos resultados muestran una distribución alarmante de los niveles de riesgo ergonómico, en la que el 100 % de los trabajadores presenta un nivel de riesgo, lo que sugiere la necesidad de una intervención para mejorar las condiciones ergonómicas de los trabajadores. Los trabajadores con riesgo extremo presentan una mayor probabilidad de desarrollar TME incapacitantes ya que en estudios previos se ha descrito que existe un riesgo 3.5 veces mayor de desarrollar TME severos comparado con aquellos de riesgo moderado (Sonne et al., 2012; Kim et al., 2020; Salehi Sahlabadi et al., 2020).

Los períodos extendidos por pasar sentado sin descansos pueden llevar a molestias y problemas musculoesqueléticos, particularmente en la espalda baja y la cintura, aunados a las posturas incómodas y estáticas como encorvarse o inclinarse hacia adelante, son factores de riesgo comunes que el método ROSA puede identificar (Mardi et al., 2015; Ridhosari et al., 2024).

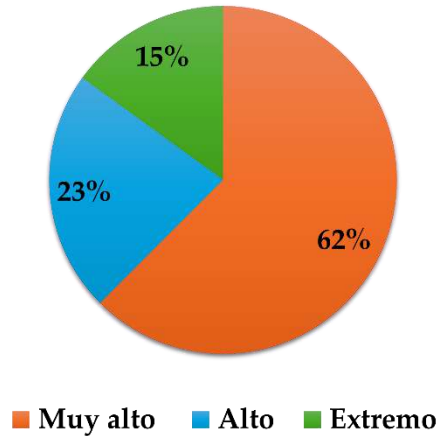


Figura 2. Distribución de los niveles de riesgo ergonómico en trabajadores administrativos.

Figure 2. Levels of ergonomic risk in university administrative personnel.

Asociación entre TME y riesgo ergonómico

El análisis de la asociación mediante la prueba de Chi-cuadrado demostró que, en la mayoría de las regiones anatómicas no se encontró evidencia estadística de asociación entre TME y los niveles de riesgo ergonómico, excepto en el hombro derecho, donde sí existe una asociación significativa. (Tabla 5). Utilizando el valor crítico determinado de 5.99 la única hipótesis nula que no se rechazó fue en la posición anatómica del hombro derecho, presentando una distribución entre los niveles de riesgo alto, muy alto y extremo. La muestra analizada estadísticamente no evidenció que los TME dependan del nivel de riesgo ergonómico.

La alta prevalencia observada en los TME de cervicales y zona lumbar, aunque no presentaron asociación estadísticamente significativa con los niveles de riesgo ergonómicos analizados por el método ROSA, sugiere que otros factores no evaluados por este método podrían estar influyendo en su desarrollo. La asociación estadísticamente significativa entre los TME de hombro derecho y los niveles de riesgo ergonómico, se puede explicar por la naturaleza específica de las tareas administrativas que requieren movimientos repetitivos del miembro superior dominante, especialmente por el uso prolongado del ratón y la manipulación de documentos. En cambio, las regiones anatómicas con mayor prevalencia de TME (zonas lumbar y cervical) no mostraron asociación estadísticamente significativa con los niveles de riesgo del método ROSA. En el estudio realizado por Liebrechts et al. (2016), encontraron datos similares en donde el método subestimó el riesgo de TME en estas regiones comparado con métodos más específicos como el RULA (Rapid Upper Limb Assessment). Por otro lado, Mohammadipour et al. (2018) en su investigación relacionaron que los TME cervicales en trabajadores de oficina están más relacionados con factores psicosociales, carga de trabajo y pausas inadecuadas que con la configuración física del puesto de trabajo evaluada por ROSA.

Tabla 5. Asociación entre trastornos musculoesqueléticos y niveles de riesgo ergonómico por región anatómica.
Table 5. Association between musculoskeletal disorders and ergonomic risk levels by anatomical region.

TME presentes por parte anatómica	Distribución de frecuencias por nivel de riesgo			Prueba de Chi cuadrado
	Alto n=9	Muy alto n=25	Extremo n=6	
Cuello cervical	56 %	60 %	67 %	0.19
Hombro derecho	44 %	12 %	50 %	6.07
Hombro izquierdo	33 %	20 %	33 %	0.89
Codo derecho	11 %	4 %	17 %	1.34
Muñeca derecha	22 %	28 %	17 %	0.38
Espalda alta	22 %	36 %	50 %	1.25
Espalda baja	67 %	72 %	33 %	3.19
Una o ambas caderas/ piernas	22 %	20 %	17 %	0.07
Una o ambas rodillas	33 %	28 %	33 %	0.13
Uno o ambos tobillos	22 %	8 %	17 %	1.34
Cualquier área anatómica	100 %	92 %	100 %	1.26

Grados de libertad (df) = 2; valor crítico $\chi^2 = 5.99$. Nivel de significancia $\alpha = 0.05$; riesgos ergonómicos categorizados según el método ROSA: alto, muy alto, extremo. n=40.

El hombro derecho fue la única región con asociación significativa con los TME, se desarrolló un modelo de regresión logística ordinal para evaluar la contribución de variables sociodemográficas (edad, sexo, IMC) y de riesgo ergonómico a la severidad de TME de hombro derecho. El modelo presentó una excelente bondad de ajuste: prueba de Pearson $X^2=76.72$ ($p=0.996$) y la prueba de desviación: $X^2=53.31$, ($p=1.00$). Las variables como la edad, el IMC y el sexo no mostraron una asociación significativa con la severidad del TME de hombro. Se realizó la evaluación de los diferentes niveles de riesgo del método ROSA, en donde el nivel de riesgo alto presentó un coeficiente de odds ratio (OR) de 5.4 en comparación con otras categorías de riesgo para la predicción de la severidad de TME del hombro derecho.

4. Conclusiones

El estudio documenta una prevalencia muy elevada de TME en trabajadores administrativos universitarios, con afectación predominante en regiones lumbares y cervicales, y un riesgo ergonómico muy alto en la mayoría de la población estudiada. Sin embargo, los análisis estadísticos muestran ausencia de una asociación significativa entre factores de riesgo ergonómico y la mayoría de los TME, con excepción del hombro derecho. Esta disociación sugiere que la etiología es multifactorial y no se explica completamente por factores ergonómicos aislados de la estación de trabajo. Con la identificación de trabajadores con alto riesgo ergonómico, se cuenta con un indicador relevante para proponer una intervención, en particular. Por otro lado, la ausencia de asociación en

otras regiones corporales implica que intervenciones ergonómicas exclusivamente centradas en el rediseño de las estaciones de trabajo podrían tener un impacto limitado si no abordan simultáneamente determinantes psicosociales y organizacionales. Se recomienda realizar estudios posteriores con abordajes multimodales para esclarecer la etiología de TME en entornos administrativos. En este contexto la vigilancia médica sistematizada y la optimización ergonómica constituyen estrategias aplicables basadas en los hallazgos actuales.

Contribuciones de los autores

Las contribuciones de los autores fueron las siguientes: J. D. E. V.: Investigación (principal), metodología, gestión de datos, análisis formal y validación. A. R. S. L.: Investigación (apoyo), metodología, gestión de datos, análisis formal, recursos. J. O. A. M.: Análisis formal, validación, revisión y edición. B. G. B. P.: Administración del proyecto, supervisión, validación, revisión y edición. A. Ch. C.: Conceptualización, metodología, gestión de datos, análisis de datos, recursos, escritura-borradores originales, escritura-revisión y edición, administración del proyecto.

Agradecimientos

Los autores expresan su sincero agradecimiento a las autoridades universitarias de la UACH y la UAG y al área de recursos humanos por facilitar el acceso a los trabajadores administrativos para la realización de la investigación. Agradecemos especialmente a los trabajadores administrativos que participaron voluntariamente en el estudio, por su tiempo, disposición y compromiso.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses en relación con la publicación de este artículo. El estudio fue desarrollado únicamente con fines académicos y científicos, orientado a contribuir al conocimiento en el área de salud laboral y ergonomía, sin comprometer la objetividad e imparcialidad en los análisis y discusión de los hallazgos presentados.

5. Referencias

- AlOmar, R. S., AlShamlan, N. A., Alawashiz, S., Badawood, Y., Ghwoidi, B. A., & Abugad, H. (2021). Musculoskeletal symptoms and their associated risk factors among Saudi office workers: A cross-sectional study. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 22: 763. <https://doi.org/10.1186/s12891-021-04652-4>
- Asociación Médica Mundial. (2024, octubre). Declaración de Helsinki de la AMM: Principios éticos para las investigaciones médicas con participantes humanos. <https://www.wma.net/es/policies-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>
- Bagheri, S., & Ghaljahi, M. (2019). Ergonomic evaluation of musculoskeletal disorders with Rapid Office Strain Assessment and its association with occupational burnout among computer

- users at Zabol University of Medical Sciences in 2017. *Asian Journal of Water, Environment and Pollution*, 16(1), 91–96. <https://doi.org/10.3233/AJW190010>
- Besharati, A., Daneshmandi, H., Zareh, K., Fakherpour, A., & Zoaktafi, M. (2020). Work-related musculoskeletal problems and associated factors among office workers. *International Journal of Occupational Safety and Ergonomics*, 26(3), 632–638. <https://doi.org/10.1080/10803548.2018.1501238>
- Castro García, S. R., Yandún Burbano, E. D., Freire Constante, L. F., & Albán Álvarez, M. G. (2021). Gestión del talento humano: Diagnóstico y sintomatología de trastornos musculoesqueléticos evidenciados a través del Cuestionario Nórdico de Kuorinka. *INNOVA Research Journal*, 6(1), 251–264. <https://doi.org/10.33890/innova.v6.n1.2021.1583>
- Clark, P., Contreras, D., Ríos-Blancas, M. J., Steinmetz, J. D., Ong, L., Culbreth, G. T., Lenox, H., Mendoza, C. F., & Razo, C. (2023). Análisis de la discapacidad por trastornos musculoesqueléticos en México de 1990 a 2021. *Gaceta Médica de México*, 159(6), 517–526. <https://doi.org/10.24875/GMM.23000394>
- de Barros, F. C., Moriguchi, C. S., Chaves, T. C., Andrews, D. M., Sonne, M., & de Oliveira Sato, T. (2022). Usefulness of the Rapid Office Strain Assessment (ROSA) tool in detecting differences before and after an ergonomics intervention. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 23, 526. <https://doi.org/10.1186/s12891-022-05490-8>
- Echezuría Marval, L., Fernández-Silano, R., Rísquez, A., Rodríguez-Morales, A., & Caraballo-Arias, Y. (2013). *Temas de epidemiología y salud pública. Tomo II*. Universidad Central de Venezuela, 1ª. ed., Venezuela: EBUC. Ediciones de la Biblioteca. <https://searchworks.stanford.edu/view/10328186>
- European Agency for Safety and Health at Work. (2019). *Work-related musculoskeletal disorders: Prevalence, costs and demographics in the EU – Executive summary*. <https://osha.europa.eu/en/publications/work-related-musculoskeletal-disorders-prevalence-costs-and-demographics-eu>
- Gallagher, K. M., Chambers, A. J., Lin, J.-H., Jacobs, K., & Robertson, M. M. (2023). Ergonomics advances in office work and work-from-home. *Proceedings of the Human Factors and Ergonomics Society Annual Meeting*, 67(1), 346–349. <https://doi.org/10.1177/21695067231192577>
- Gobierno de México. (1984, 7 de febrero). Ley General de Salud. [Secretaría de Salubridad y Asistencia]. *Diario Oficial de la Federación*. https://www.dof.gob.mx/nota_to_imagen_fs.php?codnota=4652777&fecha=07/02/1984&cod_diario=200301
- Gobierno de México. (2018, 23 de noviembre). NOM-036-1-STPS-2018, Factores de riesgo ergonómico en el Trabajo-Identificación, análisis, prevención y control. [Secretaría del Trabajo y Previsión Social]. *Diario Oficial de la Federación*. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5544579&fecha=23/11/2018
- Habibi, E., Ebrahimi, H., Barakat, S., & Maghsoudian, L. (2017). Ergonomic assessment of musculoskeletal disorders risk factors in office staff using ROSA method and its relation with efficiency. *Journal of Military Medicine*, 19(1), 31–39. https://militarymedj.bmsu.ac.ir/article_1000655.html?lang=en
- Iram, H., Kashif, M., Sattar, M., Bhatti, Z. M., Dustgir, A., & Mehdi, Z. (2022). Ergonomic risk factors among computer office workers for complaints of arm, neck and shoulder and workstation evaluation. *WORK: A Journal of Prevention, Assessment & Rehabilitation*, 73(1), 321–326. <https://doi.org/10.3233/WOR-211029>

- Kim, M. G., Kim, Y. W., & Ahn, Y. S. (2020). Does low lead exposure affect blood pressure and hypertension? *Journal of Occupational Health*, 62(1), e12107. <https://doi.org/10.1002/1348-9585.12107>
- Kuorinka, I., Jonsson, B., Kilbom, A., Vinterberg, H., Biering-Sørensen, F., Andersson, G., & Jørgensen, K. (1987). Standardised Nordic questionnaires for the analysis of musculoskeletal symptoms. *Applied ergonomics*, 18(3), 233–237. [https://doi.org/10.1016/0003-6870\(87\)90010-x](https://doi.org/10.1016/0003-6870(87)90010-x)
- Liebrechts, J., Sonne, M., & Potvin, J. R. (2016). Photograph-based ergonomic evaluations using the Rapid Office Strain Assessment (ROSA). *Applied Ergonomics*, 52, 317–324. <https://doi.org/10.1016/j.apergo.2015.07.028>
- Mardi, G., Kouhnavard, B., Ahmadianah, V., & Aghanasab, M. (2015). An investigation of Rapid Office Strain Assessment and Rapid Upper Limb Assessment in visual display terminal users. *Journal of Health Research in Community*, 1(3), 25-32. <http://jhrc.mazums.ac.ir/article-1-73-en.html>
- Matos, M., & Arezes, P. M. (2015). Ergonomic evaluation of office workplaces with Rapid Office Strain Assessment (ROSA). *Procedia Manufacturing*, 3, 4689–4694. <https://doi.org/10.1016/j.promfg.2015.07.562>
- Mohammadipour, F., Pourranjbar, M., Naderi, S., & Rafie, F. (2018). Work-related musculoskeletal disorders in Iranian office workers: Prevalence and risk factors. *Journal of Medicine and Life*, 11(4), 328–333. <https://doi.org/10.25122/jml-2018-0054>
- Molina Aragonés, J. M., Medina Lavela, J. A., Miranda Villalba, I., Vizcarro Sanagustín, D., & López Pérez, C. (2023). Estudio transversal. Dolor lumbar y medidas ergonómicas en puestos de trabajo en oficinas. *Revista de la Asociación Española de Especialistas en Medicina del Trabajo*, 32(4), 323-329. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S3020-11602023000400006&lng=es&tlng=es
- Montoya Domínguez, D. R., & Cetre Palacios, A. (2022). Estrategias para la gestión del riesgo biomecánico y las condiciones de salud musculoesquelética de los trabajadores del sector administrativo en Latinoamérica. (Trabajo de grado). Institución Universitaria Antonio José Camacho. <https://repositorio.uniajc.edu.co/handle/uniajc/889>
- Nurul Fajria, M. D. S., & Ismiyah, E. (2025). Analysis of work posture using the Rapid Office Strain Assessment (ROSA) and Rapid Upper Limb Assessment (RULA) methods in office administration employees. *Jurnal Teknik Industri: Jurnal Hasil Penelitian dan Karya Ilmiah Dalam Bidang Teknik Industri*, 10(2), 524. <https://doi.org/10.24014/jti.v10i2.33569>
- Pramono, T., Sayuti, A. M., Gaffar, M. R., & Puspitaningrum, R. A. (2022). Penilaian risiko ergonomi pada entorno de trabajo perkantoran menggunakan metode Rapid Office Strain Assessment (ROSA). *Jurnal Pendidikan Administrasi Perkantoran (JPAP)*, 10(3), 246–255. <https://doi.org/10.26740/jpap.v10n3.p246-255>
- Putsa, B., Jalayondeja, W., Mekhora, K., Bhuanantanondh, P., & Jalayondeja, C. (2022). Factors associated with reduced risk of musculoskeletal disorders among office workers: A cross-sectional study, 2017 to 2020. *BMC Public Health*, 22, 1503. <https://doi.org/10.1186/s12889-022-13940-0>
- Ridhosari, B., Rahman, A., & Rozan, N. M. R. (2024). Reducing the risk level of working posture of office workers in PT X through redesigning the workstation based on Rapid Office Strain Assessment (ROSA) method. *AIP Conference Proceedings*, 2891(1), 050007. <https://doi.org/10.1063/5.0201068>
- Rodrigues, M. S.A, Sonne, M., Andrews, D. M., Tomazini, L. F., T. de Oliveira Sato, & Chaves, T. C. (2019). Rapid Office Strain Assessment (ROSA): Cross-cultural validity, reliability and

- structural validity of the Brazilian-Portuguese version. *Applied Ergonomics*, 75, 143–154. <https://doi.org/10.1016/j.apergo.2018.09.009>
- Salehi Sahlabadi, A., Karim, A., Khatabakhsh, A., & Soori, H. (2020). Ergonomic evaluation of office staff by Rapid Office Strain Assessment method and its relationship with the prevalence of musculoskeletal disorders. *Journal of Health*, 11(2), 223–234. <https://doi.org/10.29252/j.health.11.2.223>
- Sánchez Medina, A. F. (2018). Prevalencia de desórdenes musculoesqueléticos en trabajadores de una empresa de comercio de productos farmacéuticos. *Revista Ciencias de la Salud*, 16(2), 203–218. <https://doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/revsalud/a.6766>
- Santos, W., Rojas, C., Isidoro, R., Lorente, A., Dias, A., Mariscal, G., Benlloch, M., & Lorente, R. (2025). Efficacy of ergonomic interventions on work-related musculoskeletal pain: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Medicine*, 14(9), 3034. <https://doi.org/10.3390/jcm14093034>
- Sonne, M., Villalta, D. L., & Andrews, D. M. (2012). Development and evaluation of an office ergonomic risk checklist: ROSA – Rapid Office Strain Assessment. *Applied Ergonomics*, 43(1), 98–108. <https://doi.org/10.1016/j.apergo.2011.03.008>
- Stefane, C. A., Gonçalves, R. C., Albertini, B. B., & dos Santos, E. C. B. (2024). Saúde no ambiente de trabalho: Postura, ergonomia e distúrbios osteomusculares. *Aracê*, 6(3), 5281–5296. <https://doi.org/10.56238/arev6n3-060>
- Vernaza-Pinzón, P., & Sierra-Torres, C. H. (2005). Dolor músculo-esquelético y su asociación con factores de riesgo ergonómicos en trabajadores administrativos. *Revista de Salud Pública*, 7(3), 317–326.
- Wicaksono, R. A., Zulfa, K. I., & Wiratmoko, A. (2024). Analisis postur kerja con metode Nordic Body Map (NBM) dan Rapid Office Strain Assessment (ROSA) untuk mengurangi risiko cedera pada departemen FAC dan MIS di PT XYZ. *Koloni*, 3(3), 123–135. <https://doi.org/10.31004/koloni.v3i3.669>

2026 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Material complementario

Cuestionario Nórdico Kuorinka

El cuestionario Nórdico Kuorinka es un instrumento de medición validado internacionalmente para la evaluación de trastornos musculoesqueléticos, permite identificar la presencia y severidad de síntomas en diferentes regiones del cuerpo durante períodos específicos de tiempo.

Nota metodológica: Este cuestionario corresponde a la versión aplicada en el estudio. El cuestionario nórdico Kuorinka incluye preguntas adicionales sobre hospitalización, reportes médicos e interferencia en actividades no laborales, la presente investigación se utilizó una versión adaptada que ha sido utilizada en otros estudios la cual se enfoca en la detección de síntomas musculoesqueléticos y su impacto en actividades laborales normales.

Las regiones corporales evaluadas son cuello, hombros, espalda superior, codos, espalda inferior, muñecas/manos, caderas/muslos, rodillas y tobillos/pies

Cuestionario general

Sección 1: Información demográfica y laboral y pregunta principal

Fecha consulta	Sexo (F/M)	Año nacimiento	Peso (kg)
_____	F___ M___	_____	_____
Talla (m)	Años en el trabajo actual	Meses en el trabajo actual	Horas/semana
_____	_____	_____	_____
¿En algún momento durante los últimos 12 meses, ha tenido problemas (dolor, molestias, discomfort) en:	No	Si	Lateralidad
Cuello	☐	☐	N/A
Hombro	☐	☐	Izq ☐ Der ☐
Codo	☐	☐	Izq ☐ Der ☐
Muñeca	☐	☐	Izq ☐ Der ☐

Espalda alta (región dorsal)	☐	☐	N/A
Espalda baja (región lumbar)	☐	☐	N/A
Una o ambas caderas/piernas	☐	☐	N/A
Una o ambas rodillas	☐	☐	N/A
Uno o ambos tobillos/pies	☐	☐	N/A

N/A No aplica

Sección 2

La segunda sección solo se aplica si se ha respondido afirmativamente a la pregunta inicial de la primera sección, respecto a la presencia de dolor, molestia o discomfort en algún momento durante los 12 meses anteriores

1. ¿En algún momento durante los últimos 12 meses ha tenido impedimento para hacer su trabajo normal (en casa o fuera de casa) debido a sus molestias?
2. ¿Ha tenido problemas en cualquier momento de estos últimos 7 días?

Cada pregunta se responde de acuerdo con las regiones evaluadas en el cuestionario

2026 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Análisis de la recuperación de excedentes agrícolas en Antioquia, Colombia 2018–2024

Analysis of the Recovery of Agricultural Surpluses in Antioquia, Colombia, 2018–2024

Santiago Gómez-Velásquez¹, María Alejandra Agudelo-Martínez^{1*}, María Julieta Avendaño-López¹, Angie Julieth Santamaría-García², Nathalia Varela-García¹

¹ Facultad de Ciencias de la Nutrición y los Alimentos, Universidad CES, Medellín, Colombia.

² ABACO – Asociación de Bancos de Alimentos de Colombia, Bogotá, Colombia.

*Correspondencia: Correo electrónico: magudelo@ces.edu.co (María Alejandra Agudelo Martínez)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v20i1.2136>

Recibido: 28 de octubre de 2025; Aceptado: 19 de febrero de 2026

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editor de Sección: Dr. Armando Quintero-Ramos

Resumen

A nivel mundial, cada año se pierden o desperdician de 1.050 a 1.300 millones de toneladas de alimentos. La recuperación de excedentes es una estrategia clave para la sostenibilidad de los sistemas agroalimentarios, y la seguridad alimentaria y nutricional de poblaciones vulnerables. El objetivo de esta investigación fue analizar las tendencias de recuperación en el departamento de Antioquia, Colombia, con datos de la Fundación SACIAR (programa REAGRO), caracterizando dinámicas por tipo de alimento, temporalidad y distribución territorial. Se realizó un estudio observacional y analítico con información secundaria del programa REAGRO, siguiendo criterios STROSA para garantizar la calidad del dato. El análisis estadístico y gráfico se desarrolló en Python (3.11) mediante las librerías pandas, matplotlib y seaborn; se aplicó un modelo SARIMA para predecir el comportamiento futuro de la recuperación. Se identificaron patrones estacionales con picos entre febrero-mayo y octubre, y menor recuperación en agosto-septiembre. Frutas y tubérculos (especialmente banano y zanahoria) representaron los mayores volúmenes. Los resultados evidencian oportunidades para la valorización tecnológica de excedentes y el fortalecimiento de estrategias territoriales en seguridad alimentaria.

Palabras clave: desperdicio de alimentos, excedente de alimentos, seguridad alimentaria, sistema agroalimentario sostenible, suministro de alimentos

Abstract

Globally, between 1.05 and 1.3 billion tonnes of food are lost or wasted annually. Food surplus recovery is a key strategy for the sustainability of agri-food systems and the food and nutritional security of vulnerable populations. The objective of this research was to analyze recovery trends in the department of Antioquia, Colombia, using data from the SACIAR Foundation (REAGRO program), characterizing dynamics by food type, seasonality, and territorial distribution. An observational and analytical study was conducted using secondary information from the REAGRO program, following STROSA criteria to ensure data quality. Statistical and graphical analysis was developed in Python (3.11) using the pandas, matplotlib, and seaborn libraries; a SARIMA model was applied to predict future recovery behavior. Seasonal patterns were identified with peaks between February-May and October, and lower recovery in August-September. Fruits and tubers (especially bananas and carrots) accounted for the highest volumes. The results highlight opportunities for the technological valorization of surpluses and the strengthening of territorial food security strategies.

Keywords: food waste, food surplus, food security, sustainable agri-food system, food supply

1. Introducción

La seguridad alimentaria y nutricional es un desafío global que abarca el acceso, la disponibilidad y la utilización de alimentos suficientes, seguros y nutritivos para garantizar una vida saludable. Sin embargo, uno de los principales obstáculos para alcanzarla es la pérdida y desperdicio de alimentos, un problema que afecta tanto a países desarrollados como en desarrollo. A nivel mundial, se estima que aproximadamente un tercio de los alimentos producidos para consumo humano se pierde o desperdicia cada año, lo que equivale entre 1.050 a 1.300 millones de toneladas (Brennan y Browne, 2021; United Nations Environment Programme, 2024). Esta pérdida o desperdicio no solo representa una pérdida económica significativa, sino que también agrava la inseguridad alimentaria al reducir la disponibilidad de alimentos para las poblaciones más vulnerables.

La pérdida de alimentos ocurre en las etapas iniciales de la cadena de suministro —desde la producción, postcosecha, almacenamiento y procesamiento—, mientras que el desperdicio se presenta en las etapas finales, como la distribución y el consumo. En los países de ingresos altos, la mayor parte del desperdicio ocurre en los niveles de consumo y distribución, principalmente debido a prácticas ineficientes de compra, almacenamiento y uso de los alimentos en los hogares y restaurantes. En contraste, en los países de ingresos bajos y medianos, las pérdidas suelen concentrarse en las primeras etapas de la cadena de suministro, particularmente debido a deficiencias en infraestructura, refrigeración y transporte (Caldeira et al., 2019; Brennan y Browne, 2021).

Además del impacto en la seguridad alimentaria y nutricional, la pérdida y el desperdicio de alimentos tienen consecuencias ambientales y económicas significativas. La producción de estos alimentos requiere grandes cantidades de agua, tierra, energía y otros recursos naturales, lo que genera una huella ecológica considerable. De acuerdo con Sarangi et al. (2024), la reducción de la pérdida y desperdicio de alimentos no solo podría mejorar la seguridad alimentaria y nutricional

global, sino también contribuir a mitigar el cambio climático y reducir la presión sobre los sistemas agrícolas.

En Colombia, la situación es igualmente preocupante. Según el Departamento Nacional de Planeación (2016), se pierden y desperdician anualmente alrededor de 9,76 millones de toneladas de alimentos, lo que representa aproximadamente el 34 % de la oferta nacional disponible. Este fenómeno es alarmante si se considera que, de acuerdo con el Programa Mundial de Alimentos (2023), cerca de 15,5 millones de colombianos se encuentran en inseguridad alimentaria, de los cuales 2,1 millones están en situación severa y 13,4 millones en situación moderada. Esta dualidad entre abundancia y carencia subraya la necesidad de implementar estrategias efectivas para reducir el desperdicio y mejorar la distribución de alimentos en el país.

Considerando este panorama, la recuperación de alimentos emerge como una estrategia clave para abordar este desafío. Este enfoque busca aprovechar los excedentes agrícolas generados a lo largo de la cadena agroalimentaria, evitando que productos aptos para el consumo humano terminen desechados. Los bancos de alimentos desempeñan un papel fundamental en este proceso al articular la oferta de alimentos excedentes con la demanda de instituciones de asistencia social, optimizando la logística de recolección, almacenamiento y distribución. Su función se alinea con políticas públicas orientadas a combatir la desnutrición y promover modelos de economía circular y sistemas agroalimentarios sostenibles; en el caso de la Asociación de Bancos de Alimentos de Colombia (ABACO) la red promueve el rescate de los excedentes alimentarios del sector agropecuario, industrial, comercial, hotelero, restaurantes, y personas locales; garantizando su distribución a población en situación de vulnerabilidad. (Alzate Yepes y Orozco Soto, 2021; ABACO Colombia, 2026).

Antioquia, uno de los principales departamentos productores de alimentos en Colombia, enfrenta desafíos significativos en términos de seguridad alimentaria y nutricional. Según informes recientes, aproximadamente el 40 % de las familias antioqueñas experimentan algún grado de inseguridad alimentaria. Esta situación es especialmente preocupante en Medellín, donde se estima que diariamente se desechan alrededor de 865 toneladas de comida, configurando una relación paradójica entre disponibilidad y escasez de alimentos. Este desbalance no solo evidencia fallas en los sistemas de distribución y aprovechamiento de excedentes, sino que posiciona la recuperación de alimentos como un componente estratégico para articular políticas públicas de seguridad alimentaria, sostenibilidad ambiental y eficiencia del sistema agroalimentario. Fortalecer estos mecanismos no constituye únicamente una acción compensatoria, sino una intervención estructural con potencial para reducir pérdidas, mejorar el acceso a alimentos y mitigar simultáneamente impactos sociales y ambientales en la región. (FAO, FIDA, OPS, PMA y UNICEF, 2023; Gobernación de Antioquia, 2023; Caja de Compensación Comfama, 2025).

La recuperación de excedentes agrícolas se entiende como el conjunto de procesos mediante los cuales alimentos aptos para el consumo humano, pero excluidos de los canales comerciales convencionales por razones de sobreproducción, criterios estéticos, fluctuaciones de mercado o limitaciones logísticas, son rescatados y reinsertados en circuitos de aprovechamiento social. En el caso del programa REAGRO del Banco de Alimentos Fundación SACIAR, este proceso se basa principalmente en la donación voluntaria de productores agrícolas, complementada por acciones de acopio, clasificación, almacenamiento y redistribución realizadas por la fundación hacia organizaciones sociales y poblaciones en situación de vulnerabilidad. Esta estrategia busca reducir

pérdidas a lo largo de la cadena agroalimentaria, mejorar el acceso a alimentos y contribuir a la sostenibilidad ambiental.

En este contexto, la presente investigación tiene como objetivo analizar la recuperación de excedentes agrícolas en Antioquia a partir de la información del programa REAGRO del Banco de Alimentos Fundación SACIAR. Mediante un enfoque cuantitativo, se identifican patrones de recuperación por tipo de alimento, municipios de origen y periodos de cosecha, con el fin de caracterizar las dinámicas territoriales de recuperación y aportar evidencia que contribuya al diseño de políticas públicas y estrategias sostenibles. Se plantea como hipótesis que la recuperación de excedentes presenta patrones estacionales y geográficos definidos, cuya comprensión puede fortalecer la seguridad alimentaria regional y optimizar el aprovechamiento de los recursos agroalimentarios.

2. Materiales y métodos

2.1 Materiales

El estudio utilizó información secundaria proveniente de las bases de datos suministradas por la Fundación SACIAR y la Asociación de Bancos de Alimentos de Colombia (ABACO), entidades responsables de la operación del programa REAGRO en el departamento de Antioquia.

Estas bases contenían información detallada sobre los productos alimentarios recuperados entre 2018 y 2024, incluyendo: tipo de alimento (Condimentos, Frutas, Granos, Tubérculos, raíces y plátanos; Verduras y hortalizas), cantidad (en toneladas), municipio o subregión de procedencia, fecha de recuperación y beneficiario final.

En total se analizaron 36.979 registros que consolidan la información de las actividades de recuperación realizadas en la región.

2.2 Métodos

Procedimiento experimental

Se desarrolló un estudio observacional, analítico, transversal y de fuente secundaria, cuyo propósito fue evaluar los patrones de recuperación de alimentos agrícolas registrados en el programa REAGRO en el departamento de Antioquia (Colombia).

Aspectos éticos

El estudio fue revisado y aprobado por el Comité de Investigación e Innovación de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y los Alimentos de la Universidad CES, y posteriormente avalado por el Comité de Ética de la misma institución.

De acuerdo con los lineamientos éticos colombianos para investigaciones con datos secundarios (Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia), fue clasificado como un estudio sin riesgo. Se garantizó la confidencialidad y el anonimato de la información analizada.

Diseño experimental y análisis de datos

Dado que se trata de un análisis de datos secundarios, se empleó como marco de referencia la guía STROSA (STandardized Reporting Of Secondary data Analyses), que proporciona lineamientos para asegurar la calidad, trazabilidad y transparencia en el uso de información secundaria (Swart et al., 2016). Esta guía fue aplicada en la validación estructural de la base de datos y en los procesos de limpieza, filtrado y tratamiento estadístico.

El análisis se efectuó utilizando el software Python (versión 3.11) con las bibliotecas pandas, matplotlib y seaborn para el procesamiento y visualización de los datos. Inicialmente, se realizó la estandarización de variables, homogeneización de categorías, corrección de errores de digitación y tratamiento de valores faltantes. Posteriormente, los datos se agruparon por mes y categoría de alimento, calculándose las frecuencias absolutas y relativas de recuperación, así como los promedios mensuales en toneladas.

El conjunto de datos fue sometido a un proceso de verificación preliminar en el cual se evaluó la presencia de valores faltantes y la consistencia de las variables estructurales. No se identificaron valores perdidos (NA) en las variables de fecha, categoría o cantidad recuperada, por lo que no fue necesario aplicar imputación ni eliminar registros. La inspección de valores extremos mediante boxplots y revisión cronológica reveló fluctuaciones que corresponden a picos reales de recuperación asociados a variabilidad operativa, por lo que no se aplicaron procedimientos de corrección o filtrado de outliers.

Se construyó una serie de tiempo mensual con los datos de toneladas totales recuperadas entre 2018 y 2024. La estructura de la serie fue analizada mediante descomposición aditiva en tendencia, estacionalidad y componente irregular. Posteriormente, se compararon los modelos Holt-Winters y SARIMA, incorporando estacionalidad anual (12 meses), seleccionando el modelo con mejor ajuste según el error cuadrático medio (RMSE). El modelo SARIMA ajustado fue empleado para proyectar el comportamiento mensual de recuperación durante el año 2025.

La información se representó mediante tres tipos principales de gráficos:

1. **Gráfico de barras apiladas por categoría de alimento** (frutas, verduras, tubérculos, granos y condimentos), mostrando la distribución porcentual mensual junto con una línea de tendencia que representa el promedio mensual total recuperado (en toneladas).
2. **Gráfico de barras apiladas por producto específico**, centrado en los cinco alimentos más recuperados (banano, zanahoria, aguacate Hass, naranja y granadilla), con un orden fijo de visualización y una línea de tendencia que refleja el promedio mensual conjunto de estos productos.
3. **Gráficos de tendencia lineal** para la evaluación de supuesto en el modelo de series de tiempo.

En cuanto a la dimensión territorial, la base de datos original proveniente del sistema de información de REAGRO incluye un conjunto de registros donde el origen del alimento no se reporta a nivel municipal, sino como una subregión agregada, especialmente en las categorías “Urabá” y “Norte”. Estas agregaciones territoriales provienen directamente del sistema de registro y no de decisiones analíticas de los autores. Por esta razón, y con el fin de preservar la trazabilidad de la información original, no se realizaron desagregaciones ni reclasificaciones adicionales, y los valores fueron mantenidos exactamente como fueron reportados por las fuentes operativas. Esta decisión evitó introducir supuestos no verificables sobre la redistribución municipal de los volúmenes recuperados y garantiza la reproducibilidad del análisis al conservar la estructura territorial original. Además, dado que el propósito del modelo de series de tiempo fue estimar el comportamiento agregado mensual total de recuperación a nivel departamental, estas agregaciones no interfieren con la validez del análisis formal.

Con la finalidad de garantizar la trazabilidad y la reproducibilidad del análisis, todos los datos utilizados en este estudio fueron depositados en un repositorio de acceso abierto en Zenodo. El cual se encuentra disponible públicamente bajo el DOI: 10.5281/zenodo.17644284, lo que permite la verificación independiente del proceso analítico y facilita su reutilización en investigaciones futuras. En particular, la información analizada corresponde a registros operativos agregados, lo que impide la identificación de algunos determinantes individuales o municipales en los casos donde el origen del alimento se reporta a nivel de subregión. Adicionalmente, al tratarse de un análisis retrospectivo basado en datos secundarios, los resultados dependen de la calidad y consistencia del sistema de registro original. Estas limitaciones, sin embargo, no comprometen la validez del análisis temporal agregado, pero deben ser consideradas al interpretar los resultados y al extrapolar los hallazgos a otros contextos territoriales.

Todos los resultados fueron expresados gráficamente con interpretación estadística orientada a identificar patrones de recuperación estacionales, territoriales y por tipo de alimento, así como su potencial aprovechamiento en estrategias de seguridad alimentaria y sostenibilidad agroalimentaria.

3. Resultados y discusión

El análisis porcentual mensual de la recuperación de alimentos por categoría evidenció comportamientos estacionales posiblemente coincidentes con periodos de cosecha marcados a lo largo del año (Fig. 1). Los puntos más bajos de recolección se presentaron en enero y febrero, lo cual podría estar asociado a ciclos productivos, climáticos o logísticos que afectan la disponibilidad y recolección de excedentes en esos meses. En contraste, octubre mostró el pico más alto de recuperación total, destacándose como un mes estratégico para la consolidación de excedentes.

Las frutas y los tubérculos, raíces y plátanos dominaron el panorama mensual de recuperación. Su alta participación constante mes a mes refleja no solo su abundancia como excedente agrícola, sino también su potencial nutricional y versatilidad para ser aprovechados. Estos productos, al mantener niveles de recuperación estables y altos, representan una oportunidad clave tanto para el sector público como privado en el desarrollo de productos alimentarios funcionales, suplementos o raciones nutricionales destinadas a poblaciones en situación de inseguridad alimentaria.

El comportamiento estacional identificado sugiere una posible influencia de los ciclos de cosecha. En la literatura se reportan patrones análogos en distintos contextos geográficos. Por ejemplo, en

regiones templadas se observa que los meses de cosecha abundante conllevan mayores excedentes recuperables; un análisis mostró aumentos significativos en el desperdicio de frutas y verduras en verano comparado con invierno debido a la sobreoferta estacional de productos frescos en diferentes países de bajos ingresos (Bisht y Singh, 2024). De manera similar, estudios en países tropicales sugieren que los picos de producción tras las temporadas lluviosas elevan los excedentes, mientras que en los periodos intermedios la oferta disminuye (Zhu et al., 2023).

El patrón de comportamiento mostrado para Antioquia, con un máximo en octubre y con valores un poco menores pero constantes en noviembre y diciembre, podría relacionarse con cosechas de fin de año y también con la demanda variable durante las festividades. Cabe destacar que durante las fiestas navideñas se incrementa el consumo, pero también el desperdicio; estudios señalan aumentos significativos de desperdicio durante las festividades religiosas o culturales debido a compras excesivas y a una menor eficiencia en el consumo (Abdulan et al., 2023; Hassan y Low, 2024).

Los datos revelan que frutas, plátanos y tubérculos conforman la mayor parte de los excedentes agrícolas recuperados con una media de recuperación superior a las 240 toneladas mes a mes, lo cual es consistente con las tendencias globales de pérdidas y desperdicios alimentarios. La FAO y otros organismos internacionales señala que las frutas, verduras y raíces/tubérculos son los alimentos con mayores índices de pérdida postcosecha a nivel mundial, representando aproximadamente el 45–50 % de los alimentos perdidos o desperdiciados (Zhu et al., 2023). En la Unión Europea, por ejemplo, más de la mitad del desperdicio alimentario doméstico corresponde a frutas y vegetales, y a nivel global se estima que cerca del 45 % de las frutas y hortalizas producidas termina desperdiciándose (Lau et al., 2021a).

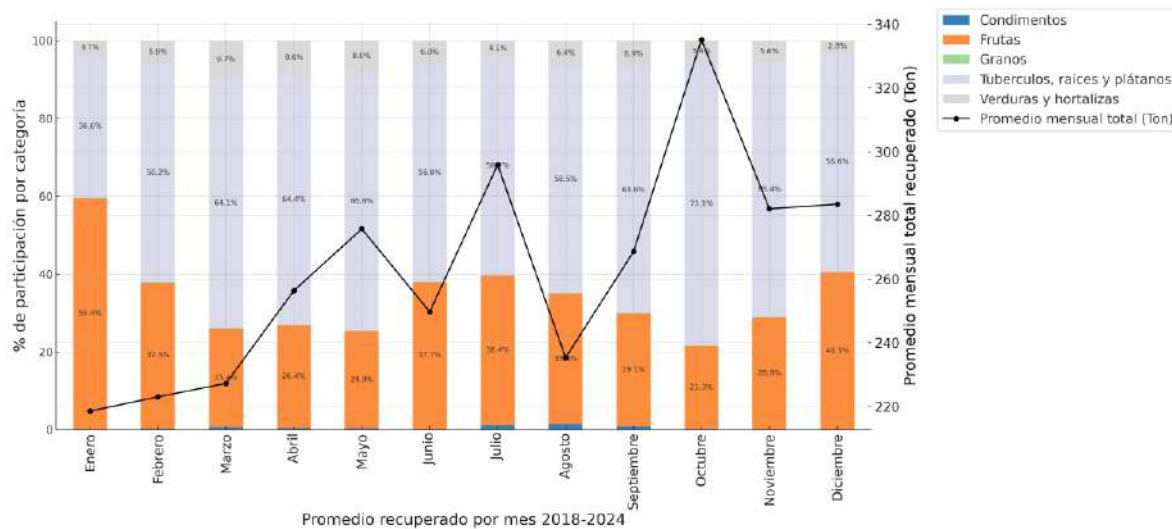


Figura 1. Distribución porcentual de alimentos recuperados por categoría y promedio mensual total (Ton) 2018-2024.

Figure 1. Percentage distribution of recovered foods by category and monthly average total (tonnes) 2018–2024.

Al discriminar según los cinco principales productos recuperados mes a mes (Banano, zanahoria, aguacate, naranja y granadilla), se observaron picos significativos en mayo y octubre, indicando una mayor disponibilidad de este tipo de excedentes en estos meses (Fig. 2). En la tabla 1 se realiza un análisis descriptivo para el comportamiento de las donaciones registradas mes a mes, observando que el banano presentó los valores más altos de donación mensual en comparación con los demás productos, con un promedio de donación de hasta 6,9 toneladas en octubre y un máximo absoluto de 19,83 toneladas en ese mismo mes, superando significativamente los picos de donación de productos como la zanahoria (máximo: 12,87 ton) y la naranja (máximo: 9,56 ton). Este hallazgo evidencia una alta disponibilidad estructural y posiblemente una eficiencia logística en su recuperación, es el principal candidato para estrategias de valorización agroindustrial o formulaciones tecnológicas. A lo largo del año, el banano y la zanahoria destacaron por sus altos volúmenes de recuperación mensuales, consolidándose como productos clave en las estrategias de aprovechamiento de excedentes agrícolas para esta región.

El banano es una fuente rica en carbohidratos; además, aporta fibra dietética, potasio, vitamina B6 y vitamina C. Estos nutrientes contribuyen al mantenimiento de la función muscular, la salud cardiovascular y el sistema inmunológico (Afzal et al., 2022). Por su parte, la zanahoria es reconocida por su alto contenido de beta-caroteno, precursor de la vitamina A, esencial para la salud visual y el sistema inmunológico. La zanahoria también es fuente de fibra, vitamina K1, potasio y antioxidantes como la luteína (Ikram et al., 2024). La disponibilidad constante y las propiedades nutricionales del banano y la zanahoria los posicionan como materias primas clave para el desarrollo de complementos alimentarios y productos nutricionales. Su inclusión en programas de asistencia alimentaria y políticas públicas de seguridad alimentaria y nutricional podría mejorar la calidad nutricional de las dietas en poblaciones vulnerables, aprovechando eficientemente los excedentes agrícolas y contribuyendo a la reducción de la inseguridad alimentaria y nutricional.

Tabla 1. Descripción de las donaciones recibidas para los cinco principales productos recuperados y su comportamiento mensual.

Table 1. Description of donations received for the five main recovered products and their monthly behavior.

Mes	Estadístico	Banano	Zanahoria	Aguacate Hass	Naranja	Granadilla
		Valores en toneladas (ton)				
Enero	Media	4.40	0.80	1.05	2.37	0.46
	Mediana	5.71	0.09	0.50	1.72	0.09
	Max	11.60	8.28	9.81	9.56	9.00
	Min	0.008	0.006	0.006	0.01	0.001
Febrero	Media	4.13	0.65	0.76	1.88	0.23
	Mediana	4.55	0.10	0.31	1.46	0.09
	Max	14.90	8.24	7.00	7.54	3.50
	Min	0.01	0.007	0.002	0.01	0.002
Marzo	Media	3.91	0.51	0.18	2.08	0.21
	Mediana	4.20	0.09	0.10	1.74	0.08
	Max	14.9	8.55	2.91	8.40	3.20
	Min	0.006	0.002	0.002	0.001	0.002

Abril	Media	4.02	1.31	0.15	1.50	0.27
	Mediana	3.64	0.16	0.05	0.65	0.10
	Max	14.3	9.00	2.23	8.18	8.05
	Min	0.004	0.004	0.001	0.008	0.002
Mayo	Media	4.22	1.07	0.48	1.48	0.24
	Mediana	3.96	0.19	0.09	0.74	0.05
	Max	14.36	9.41	5.43	8.63	4.00
	Min	0.002	0.005	0.008	0.007	0.002
Junio	Media	3.22	1.27	0.51	1.05	0.03
	Mediana	0.90	0.15	0.17	0.39	0.02
	Max	11.23	12.87	5.57	7.21	0.06
	Min	0.02	0.002	0.004	0.003	0.008
Julio	Media	3.55	1.14	0.58	0.93	0.04
	Mediana	3.80	0.15	0.27	0.39	0.02
	Max	12.66	8.33	7.00	3.64	0.13
	Min	0.002	0.004	0.003	0.008	0.001
Agosto	Media	3.43	0.84	0.28	0.99	0.40
	Mediana	2.16	0.09	0.09	0.23	0.10
	Max	10.89	10.89	3.78	5.64	5.90
	Min	0.005	0.005	0.004	0.006	0.003
Septiembre	Media	4.28	1.15	0.09	0.99	0.41
	Mediana	5.20	0.13	0.05	0.64	0.10
	Max	17.94	8.56	0.98	4.61	8.42
	Min	0.002	0.003	0.002	0.007	0.001
Octubre	Media	6.90	1.15	0.34	0.70	0.29
	Mediana	7.20	0.19	0.08	0.30	0.10
	Max	19.83	8.78	5.04	7.03	5.13
	Min	0.009	0.002	0.005	0.002	0.001
Noviembre	Media	5.76	0.88	0.79	1.28	0.42
	Mediana	6.33	0.14	0.23	0.67	0.11
	Max	19.60	8.18	7.67	5.06	8.92
	Min	0.003	0.004	0.005	0.005	0.004
Diciembre	Media	4.79	1.13	0.88	2.21	0.55
	Mediana	5.40	0.10	0.35	2.19	0.10
	Max	16.30	9.00	7.37	7.30	14.29
	Min	0.01	0.004	0.007	0.007	0.003

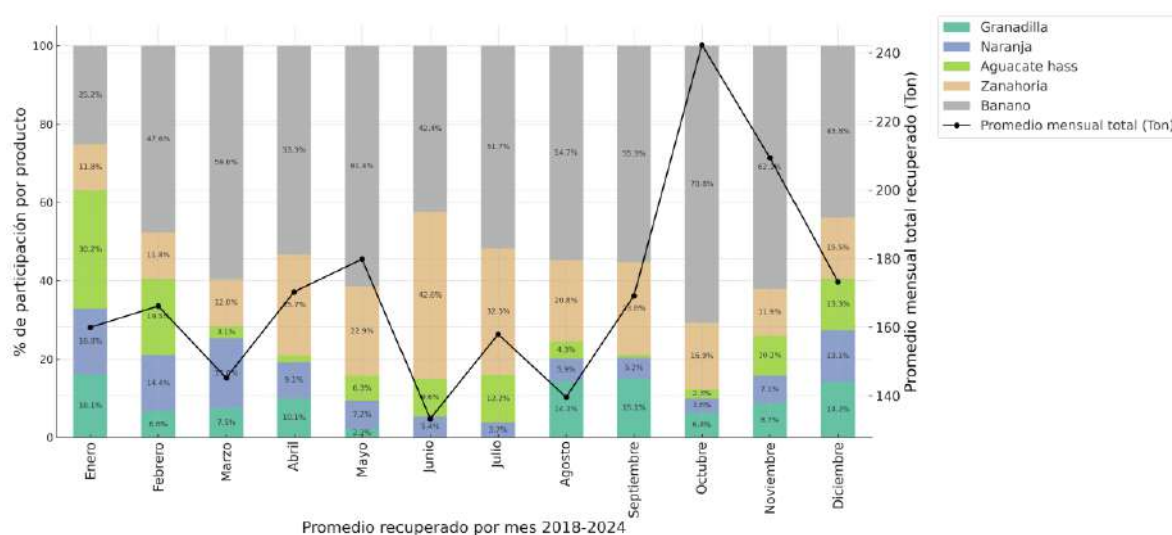


Figura 2. Distribución porcentual mensual de los 5 productos más recuperados y su promedio mensual (Ton) 2018-2024

Figure 2. Monthly percentage distribution of the five most recovered products and their monthly average (tonnes), 2018–2024.

La información disponible permitió identificar los municipios que más aportan a la recuperación de excedentes en Antioquia (Fig. 3). El análisis revela que Apartadó y San Pedro de los Milagros presentan los mayores volúmenes promedio de recuperación mensual de excedentes agrícolas, alcanzando hasta 60 toneladas mensuales en el caso de Apartadó. Estos dos municipios pertenecen a las subregiones geográficas: el Urabá y Norte antioqueño, caracterizadas por su alta producción agrícola. Jardín ubicado en la subregión del Suroeste destaca como un importante generador de frutas, contribuyendo significativamente en su categoría específica.

La literatura científica reciente enfatiza que los excedentes agrícolas – particularmente de frutas y tubérculos – pueden ser vistos como materias primas valiosas para desarrollos en ciencia y tecnología de alimentos. Varios estudios entre 2021 y 2025 han explorado vías innovadoras para mejorar la calidad nutricional y sensorial mediante la transformación de estos productos agrícolas en nuevos ingredientes, productos funcionales y suplementos nutricionales que mejoren la eficacia de las intervenciones en seguridad alimentaria. Un ejemplo claro es el aprovechamiento de compuestos bioactivos: los residuos de frutas y verduras (cáscaras, pulpas, semillas, bagazo, etc.) son ricos en antioxidantes, fibra dietaria, polifenoles y otras moléculas bioactivas con beneficios para la salud. Técnicas avanzadas de ingeniería de alimentos se están aplicando para extraer y concentrar estos compuestos. Por ejemplo, se ha logrado aislar polifenoles y flavonoides antioxidantes de cáscaras de frutas mediante extracción asistida por ultrasonido, fluidos supercríticos o enzimas, obteniendo ingredientes nutracéuticos y para alimentos funcionales (Sha et al., 2023). Una revisión de 2021 reporta múltiples casos donde subproductos de frutas y hortalizas se incorporaron con éxito en alimentos funcionales – desde harinas enriquecidas con fibra de cáscara para productos de panificación, hasta colorantes naturales y probióticos derivados de excedentes vegetales (Lau et al., 2021b).

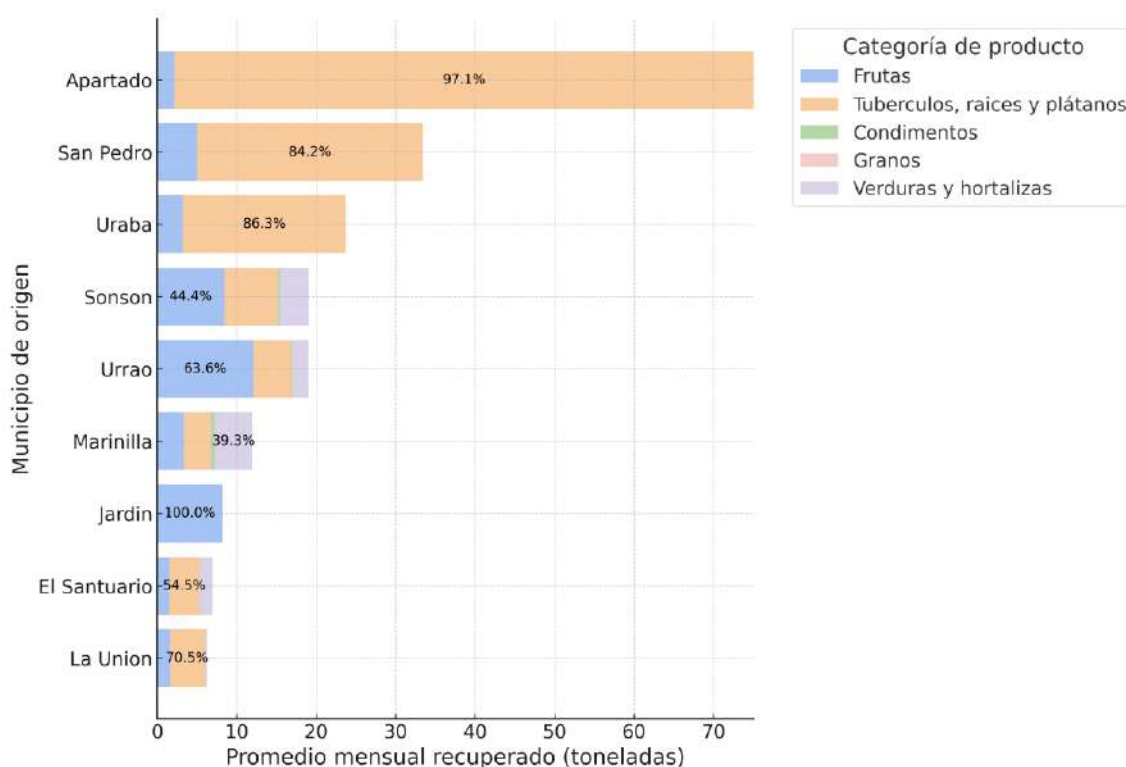


Figura 3. Diez municipios con mejor recuperación promedio mensual entre 2018 y 2024 según categoría de productos en toneladas.

Figure 3. Ten municipalities with the highest average monthly recovery between 2018 and 2024 by product category (tonnes).

En la Fig. 4 se observa cómo Apartadó es un municipio fundamental en la recuperación de excedentes de banano; por su parte, San Pedro de los Milagros contribuye de forma predominante a la recuperación de los excedentes de zanahoria. Es importante aclarar que, en la base de datos original, "Urabá" no corresponde a un municipio, sino a otros municipios del Urabá Antioqueño donde se agrupan los demás municipios diferentes a Apartadó. En el caso de la naranja, se observa que Tarso aporta aproximadamente 4,6 toneladas mensuales, mientras que Venecia contribuye con 2,9 toneladas, consolidándolos como dos de los principales centros de recuperación de este producto. La zanahoria proviene principalmente de San Pedro de los Milagros, Sonsón y de una categoría llamada Norte, la cual no representa un municipio como tal sino una región político-geográfica (grupo de municipios del Norte) que la base de datos original no discriminó detalladamente. Estos datos resaltan la importancia de las subregiones de Urabá, Oriente y Norte de Antioquia en el rescate de excedentes agrícolas. Finalmente, los volúmenes recuperados evidencian la necesidad de fortalecer los registros de origen en las bases de datos para mejorar la trazabilidad y el diseño de estrategias de valorización de excedentes agrícolas.

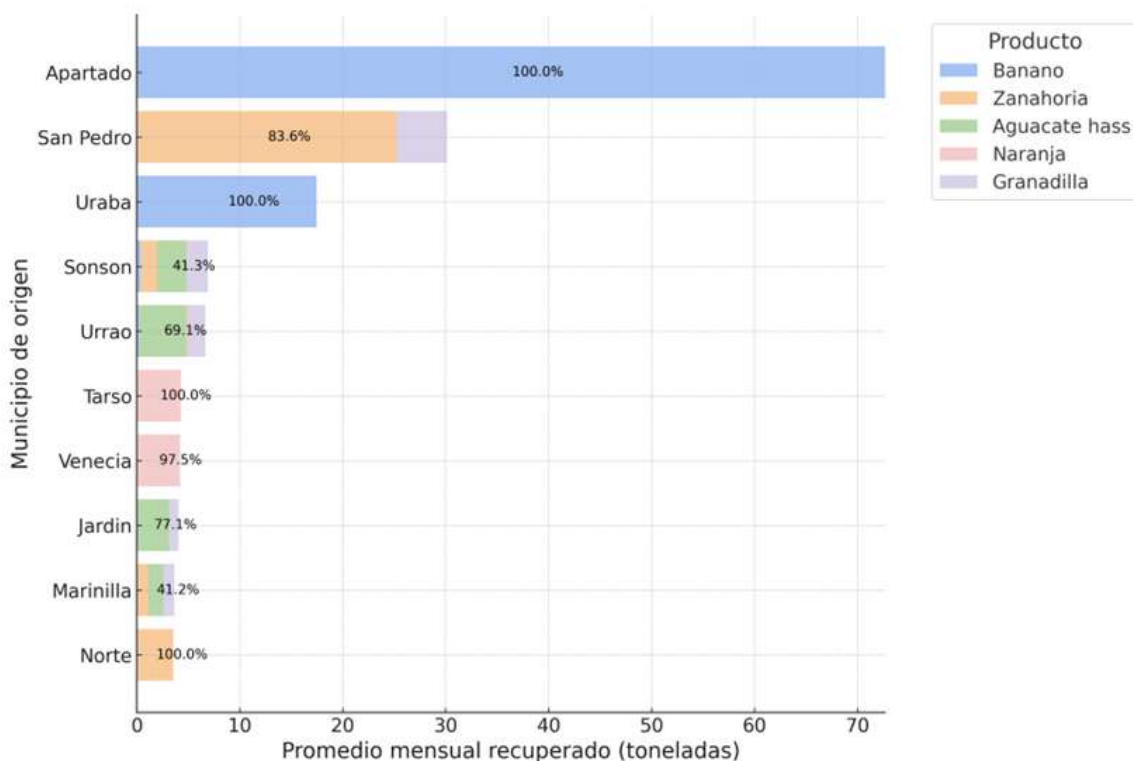


Figura 4. Diez municipios con mejor recuperación promedio mensual según los cinco tipos de productos más recuperados en toneladas, 2018-2024

Figure 4. Ten municipalities with the highest average monthly recovery by the five most recovered product types (tonnes), 2018–2024.

Utilizando el método clásico de descomposición aditiva, se realizó el análisis de la serie temporal de toneladas totales recuperadas por mes (2018–2024) separando la serie en tendencia, estacionalidad y residuo (Fig. 5). La curva de tendencia obtenida muestra una estructura no lineal con tres fases claramente diferenciables. Entre 2018 y mediados de 2019, hay una ligera variación positiva. A partir de finales de 2019 y hasta mediados de 2021, se observa una disminución sostenida en el volumen mensual de recuperación, posiblemente asociada a cambios operativos, logísticos o efectos indirectos de la pandemia. Posteriormente, desde finales de 2021 hasta finales de 2023, la tendencia muestra un crecimiento sostenido y continuo, alcanzando su punto máximo en el segundo semestre de 2023. Finalmente, a inicios de 2024, se identifica una leve inflexión descendente, que podría anticipar una nueva fase de desaceleración o estabilización del sistema de recuperación. Se observan residuos con baja varianza inicial que se amplían en 2021–2024, sin patrones sistemáticos, lo que indicaría que los choques puntuales son ruido, permitiendo establecer el uso de un modelo SARIMA (1,1,1) (1,1,1) [12] para capturar tendencia, estacionalidad y variabilidad aleatoria.

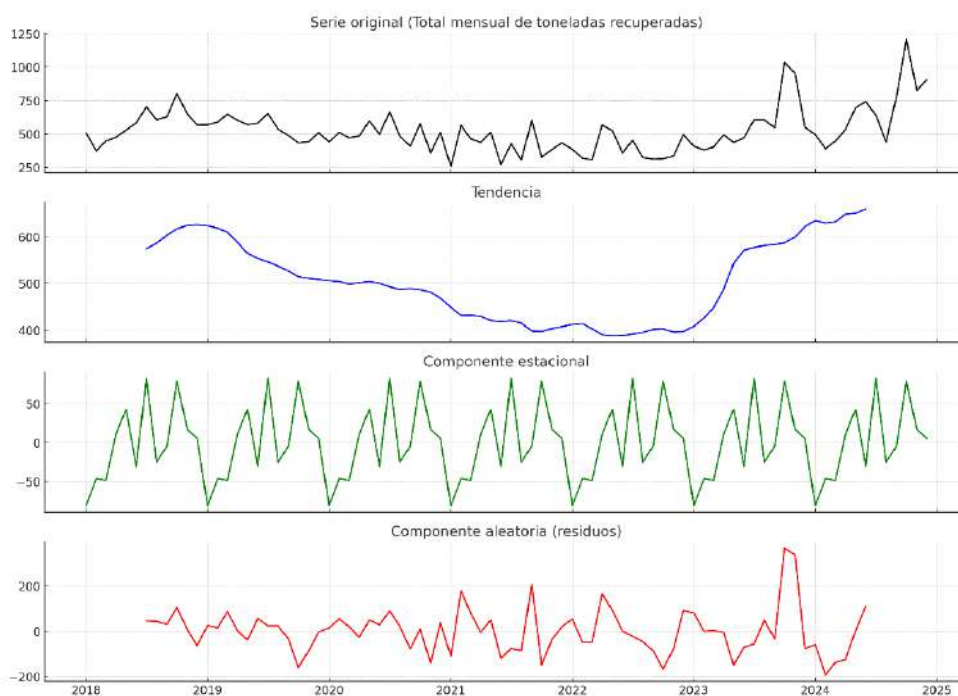


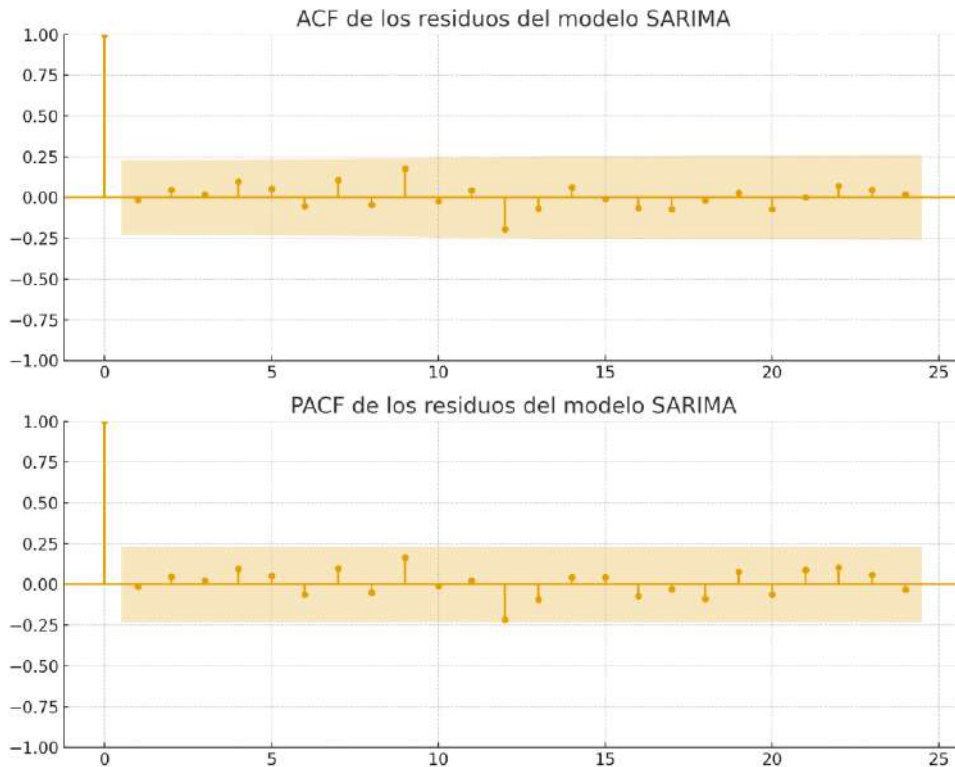
Figura 5. Gráfico de la descomposición aditiva para la serie de datos de recuperación en toneladas.
Figure 5. Additive decomposition chart for the recovery data series in tons.

La serie mensual de toneladas totales recuperadas se evaluó inicialmente mediante la prueba de Dickey–Fuller aumentada (ADF), encontrándose evidencia de no estacionariedad en la serie original (estadístico ADF = -4.39 ; $p = 0.0003$; $n = 83$) y confirmándose la estacionariedad tras una diferenciación no estacional ($d = 1$) (estadístico ADF = -4.42 ; $p = 0.00028$; $n = 73$). Con base en ello, se especificó un modelo SARIMA (1,1,1) (1,1,1) 12 y se comparó su desempeño con un modelo Holt–Winters aditivo, utilizando un esquema de validación temporal tipo train/test split, donde el periodo 2018–2023 se empleó para entrenamiento y el año 2024 para validación externa (Tabla 2). La comparación se realizó mediante criterios de información y desempeño predictivo, mostrando que el modelo SARIMA obtuvo un AIC considerablemente menor (585.29) frente a Holt–Winters (709.96) y un RMSE ligeramente inferior en la validación del año 2024 (208.65 vs. 212.47), lo que evidencia un ajuste más eficiente y una mayor capacidad de generalización. Los diagnósticos de residuales mediante la prueba de Ljung–Box en distintos rezagos (p -valores > 0.70 en lag 6, 12, 18 y 24) confirmaron la ausencia de autocorrelación, cumpliendo el supuesto de ruido blanco. Aunque la prueba de Shapiro–Wilk indicó desviación respecto a la normalidad, esta característica no compromete la especificación del modelo debido a la adecuada independencia y estructura aleatoria de los residuos. En conjunto, estos elementos justificaron la selección del modelo SARIMA para generar el pronóstico mensual de toneladas recuperadas.

Adicionalmente, a los diagnósticos realizados se ejecutó la inspección visual de las funciones ACF y PACF de los residuos evidenciando que todos los coeficientes se mantienen dentro de las bandas de confianza, apoyando la hipótesis de ruido blanco. Estos resultados, junto con la comparación de AIC/BIC y RMSE, respaldan la robustez del modelo SARIMA seleccionado para la proyección de la recuperación mensual de excedentes agrícolas.

Tabla 2. Comparación de modelos de series de tiempo y diagnóstico de residuales.**Table 2.** Comparison of time series models and residual diagnostics.

Evaluación estacionariedad			
Serie	Estadístico ADF	p-value	N° obs
Original	-4.39	0.000	83
Diferenciada (d=1)	-4.42	0.000	73
Comparación entre modelos			
Modelo	AIC	BIC	RMSE
Holt-Winters aditivo	709.96	746.39	212.47
SARIMA (1,1,1) (1,1,1) [12]	585.29	594.32	208.65
Diagnóstico del modelo SARIMA			
Prueba	Estadístico	p-value	
Ljung-Box (lag 6)	1.40	0.97	
Ljung-Box (lag 12)	8.73	0.73	
Ljung-Box (lag 18)	10.41	0.92	
Ljung-Box (lag 24)	11.81	0.98	
ARCH (12 rezagos)	7.76	0.80	
Shapiro-Wilk	0.95	0.004	

**Figura 6.** ACF y PACF de los residuos del modelo SARIMA**Figure 6.** ACF and PACF of the SARIMA model residuals.

En la fig. 7 se observa la evolución mensual de toneladas recuperadas y el punto de inflexión al inicio del pronóstico (enero de 2025). Se utilizó un modelo SARIMA donde el pronóstico proyecta que la recuperación de excedentes agrícolas en Antioquia mantiene un comportamiento creciente y relativamente estable a lo largo del horizonte 2025, con valores mensuales estimados entre 680 y 840 toneladas, replicando los picos presentados en el histórico de la serie. Este patrón de recuperación estable ofrece una base cuantitativa para el diseño de políticas públicas enfocadas en la seguridad alimentaria, pues permite prever los volúmenes disponibles y ajustar programas de distribución con antelación. Asimismo, al evidenciar un crecimiento sostenido, se observa cómo la recuperación de alimentos puede ser un pilar importante en la sostenibilidad ambiental de los sistemas agroalimentarios mediante la reducción del desperdicio, la pérdida de alimentos en el proceso agrícola y la optimización de recursos logísticos.

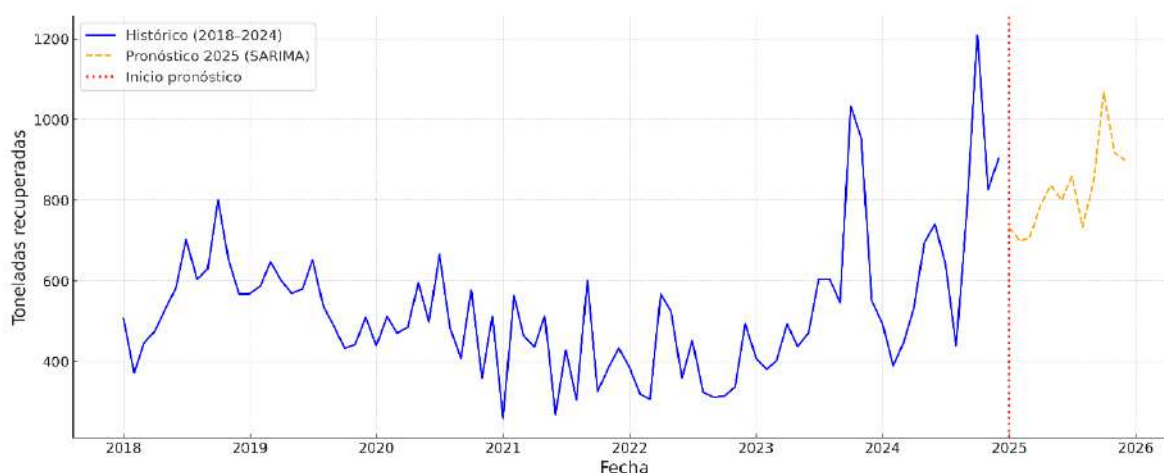


Figura 7. Gráfico de la serie mensual total de toneladas recuperadas y el pronóstico de comportamiento a un periodo adicional utilizando el modelo SARIMA

Figure 7. Graph of the total monthly recovered tons series and the forecasted behavior for one additional period using the SARIMA model.

La experiencia internacional demuestra que aprovechar las fortalezas de cada territorio es clave. Emparejar la oferta local de excedentes con industrias de transformación o redes solidarias locales ha dado buenos resultados. En Irlanda, la organización **FoodCloud** opera centros logísticos regionales que captan excedentes desde centrales de abasto y procesadores, redistribuyendo a nivel comunitario; se reporta que más del 50 % de los alimentos recuperados por sus “hubs” provienen de zonas de procesamiento primario (The Consumer Goods Forum, s. f.). De igual forma, **Brasil** ha institucionalizado a escala nacional la recuperación de alimentos a través del programa **Mesa Brasil**, el cual se articula con productores en estados agrícolas clave (São Paulo, Minas Gerais, etc.) para rescatar anualmente decenas de miles de toneladas de alimentos aptos, incluyendo abundantes raíces, tubérculos y frutas tropicales de esos territorios. Un reporte de 2021 indicó que **Mesa Brasil** redistribuyó más de 52 millones de kg de alimentos en un año, aprovechando redes territoriales de acopio en zonas agrícolas y mercados mayoristas (De Oliveira Rodrigues et al., 2022).

4. Conclusiones

Antioquia presenta una recuperación constante de excedentes agrícolas que abre oportunidades para la aplicación de la innovación y la tecnología de los alimentos, donde los grandes volúmenes de frutas y tubérculos excedentarios garantizan la disponibilidad de materia prima para proyectos e intervenciones continuas y sostenibles. La innovación, la ciencia y la tecnología de alimentos deben ser pilares estratégicos para transformar estos excedentes en productos funcionales y de mayor valor nutricional y sensorial. La articulación territorial podría fortalecer un ecosistema de innovación agrícola, donde el aprovechamiento científico de estos recursos permita impactar tanto la seguridad alimentaria y nutricional como el desarrollo económico regional.

Las tendencias científicas recientes apuntan a una economía circular agroalimentaria, donde los excedentes generados pueden reinsertarse en la cadena productiva como insumos para nuevos procesos. Ya sea desarrollando un snack fortificado con harina de banano, un suplemento rico en polifenoles o un producto con alto contenido de betacaroteno aún no comercializado, las posibilidades tecnológicas son amplias. El análisis para Antioquia muestra diferencias en la recuperación de excedentes según los municipios, evidenciando que las zonas agrícolas especializadas generan volúmenes distintos de excedentes aprovechables.

Si bien los resultados evidencian que la recuperación de excedentes agrícolas en Antioquia presenta un comportamiento creciente y patrones estacionales definidos, el análisis abre nuevas preguntas relevantes para la consolidación de sistemas agroalimentarios más sostenibles. En particular, resulta pertinente profundizar en el papel de otros actores de la cadena (como intermediarios, centrales de abasto, transportadores y comercializadores) y su potencial articulación con programas de recuperación de excedentes. Asimismo, futuras investigaciones podrían explorar la eficiencia logística de estos sistemas, los costos ambientales asociados al transporte y almacenamiento, y el impacto nutricional efectivo de los alimentos recuperados en las poblaciones beneficiarias. Abordar estas dimensiones permitiría avanzar hacia modelos integrales de gestión de excedentes que no solo mitiguen el desperdicio, sino que fortalezcan la equidad y la sostenibilidad de los sistemas agroalimentarios regionales.

En conclusión, en Antioquia se recuperan grandes cantidades de excedentes agrícolas (más de 240 toneladas en promedio cada mes en todo el departamento). Los datos de recuperación de excedentes agrícolas evidencian un potencial importante para las acciones de seguridad alimentaria gubernamentales e institucionales orientadas a contribuir a la Seguridad Alimentaria y Nutricional (SAN) de la población, con estrategias territoriales y políticas públicas que impacten el departamento y el país, así como una gran oportunidad para valorizar tecnológicamente estos productos.

Contribuciones de los autores

Conceptualización, S.G.V. y M.A.A.M.; metodología, M.A.A.M.; software, S.G.V.; validación, M.A.A.M., M.J.A.L. y A.J.S.G.; análisis formal, S.G.V.; investigación, M.A.A.M., M.J.A.L. y N.V.G.; recursos, A.J.S.G.; conservación de datos, S.G.V.; redacción-redacción del borrador original, S.G.V.; redacción-revisión y edición, M.A.A.M., M.J.A.L., A.J.S.G. y N.V.G.; visualización, S.G.V.; supervisión, M.A.A.M.; administración del proyecto, M.A.A.M.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Fundación Saciar y al programa Reagro por su colaboración y apoyo, al proporcionar la información y facilitar el acceso a las bases de datos necesarias para el desarrollo de esta investigación.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

5. Referencias

- ABACO Colombia. (2026). Banco de Alimentos de Colombia. <https://abaco.org.co/>
- Abdulan, I. M., Popescu, G., Maștaleru, A., Oancea, A., Costache, A. D., Cojocaru, D.-C., Cumpăt, C.-M., Ciuntu, B. M., Rusu, B., & Leon, M. M. (2023). Winter Holidays and Their Impact on Eating Behavior—A Systematic Review. *Nutrients*, 15(19), 4201. <https://doi.org/10.3390/nu15194201>
- Afzal, M. F., Khalid, W., Akram, S., Khalid, M. A., Zubair, M., Kauser, S., Abdelsamea Mohamedahmed, K., Aziz, A., & Anusha Siddiqui, S. (2022). Bioactive profile and functional food applications of banana in food sectors and health: A review. *International Journal of Food Properties*, 25(1), 2286-2300. <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2130940>
- Alzate Yepes, T., & Orozco Soto, D. M. (2021). Pérdida y desperdicio de alimentos. Problema que urge solución. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 23(2), 133-139. <https://doi.org/10.17533/udea.penh.v23n2a01>
- Bisht, A., & Singh, S. P. (2024). Postharvest Losses and Management of Horticultural Produce: A Review. *Journal of Scientific Research and Reports*, 30(3), 305-320. <https://doi.org/10.9734/jsrr/2024/v30i31881>
- Brennan, A., & Browne, S. (2021). Food Waste and Nutrition Quality in the Context of Public Health: A Scoping Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(10), 5379. <https://doi.org/10.3390/ijerph18105379>
- Caja de compensación Comfama. (2025). [Una conversación incómoda](#). pp. 508.
- Caldeira, C., De Laurentiis, V., Corrado, S., Van Holsteijn, F., & Sala, S. (2019). Quantification of food waste per product group along the food supply chain in the European Union: A mass flow analysis. *Resources, Conservation and Recycling*, 149, 479-488. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.06.011>
- De Oliveira Rodrigues, P., Freu, K., & Moretto Neto, L. (2022). O Programa Mesa Brasil-SESC sob à luz da Coprodução e da Economia Circular: Um estudo multicaseos. *REUNIR Revista de Administração Contabilidade e Sustentabilidade*, 12(4), 29-43. <https://doi.org/10.18696/reunir.v12i4.1348>
- Departamento Nacional de Planeación. (2016). [Pérdida y desperdicio de alimentos en Colombia](#).
- FAO,FIDA, OPS, PMA y UNICEF. 2023. *América Latina y el Caribe - Panoramaregional de la seguridad alimentaria y nutricional 2023: Estadísticas y tendencias*. Santiago. <https://doi.org/10.4060/cc8514es>
- Gobernación de Antioquia. (2023). [Perfil alimentario y nutricional de los menores de 18 años en Antioquia 2023](#). Power BI Report.

- Hassan, S. H., & Low, E. C. (2024). Spur of the moment: The unintended consequences of excessive food purchases and food waste during Ramadan. *British Food Journal*, 126(7), 2732-2745. <https://doi.org/10.1108/BFJ-10-2023-0917>
- Ikram, A., Rasheed, A., Ahmad Khan, A., Khan, R., Ahmad, M., Bashir, R., & Hassan Mohamed, M. (2024). Exploring the health benefits and utility of carrots and carrot pomace: A systematic review. *International Journal of Food Properties*, 27(1), 180-193. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2301569>
- Lau, K. Q., Sabran, M. R., & Shafie, S. R. (2021a). Utilization of Vegetable and Fruit By-products as Functional Ingredient and Food. *Frontiers in Nutrition*, 8, 661693. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.661693>
- Lau, K. Q., Sabran, M. R., & Shafie, S. R. (2021b). Utilization of Vegetable and Fruit By-products as Functional Ingredient and Food. *Frontiers in Nutrition*, 8, 661693. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.661693>
- Programa Mundial de Alimentos. (2023). [Evaluación de seguridad alimentaria para población colombiana](#).
- Sarangi, P. K., Pal, P., Singh, A. K., Sahoo, U. K., & Prus, P. (2024). Food Waste to Food Security: Transition from Bioresources to Sustainability. *Resources*, 13(12), 164. <https://doi.org/10.3390/resources13120164>
- Sha, S. P., Modak, D., Sarkar, S., Roy, S. K., Sah, S. P., Ghatani, K., & Bhattacharjee, S. (2023). Fruit waste: A current perspective for the sustainable production of pharmacological, nutraceutical, and bioactive resources. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1260071. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1260071>
- Swart, E., Bitzer, E., Gothe, H., Harling, M., Hoffmann, F., Horenkamp-Sonntag, D., Maier, B., March, S., Petzold, T., Röhrig, R., Rommel, A., Schink, T., Wagner, C., Wobbe, S., & Schmitt, J. (2016). STandardisierte BerichtsROutine für Sekundärdaten Analysen (STROSA) – ein konsentierter Berichtsstandard für Deutschland, Version 2. *Das Gesundheitswesen*, 78(S 01), e145-e160. <https://doi.org/10.1055/s-0042-108647>
- The consumer goods forum. (s. f.). [Food Waste Knowledge Sharing Series 2023: Learning Report](#).
- United Nations Environment Programme. (2024). [Food Waste Index Report 2024. Think Eat Save: Tracking Progress to Halve Global Food Waste](#).
- Zhu, Y., Luan, Y., Zhao, Y., Liu, J., Duan, Z., & Ruan, R. (2023). Current Technologies and Uses for Fruit and Vegetable Wastes in a Sustainable System: A Review. *Foods* (Basel, Switzerland), 12(10), 1949. <https://doi.org/10.3390/foods12101949>

2026 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Diseño y evaluación de Lab-on-a-Chip de conductividad eléctrica para la detección de aceite automotriz en agua destilada

Design and Evaluation of an Electrical Conductivity Lab-on-a-Chip for the Detection of Automotive Oil in Distilled Water

Carlos Eduardo Cañedo-Figueroa^{1*}, Humberto Alexander Enriquez-Lopez¹, Sandra Guadalupe Chavarría-Hidalgo¹, Luis Arturo Camacho-Silvas¹ y Janette Guadalupe Moreno-González¹

¹Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Medicina y Ciencias Biomédicas. Circuito Universitario 31109, UACH Campus II, 31125 Chihuahua, Chih. México.

*Correspondencia: Correo electrónico: ccanedo@uach.mx (Carlos Eduardo Cañedo-Figueroa)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v20i1.2241>

Recibido: 20 de febrero de 2026; **Aceptado:** 06 de mayo de 2026

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editor de Sección: Dr. Vladimir Villarreal-Contreras

Resumen

En el presente trabajo se describe el diseño, fabricación y evaluación experimental de un sistema de detección de aceite automotriz usado en agua destilada, empleando módulos desechables tipo lab-on-a-chip (LoC) fabricados sobre placas fenólicas mediante fresado CNC y un circuito de medición basado en divisor de voltaje con un microcontrolador Arduino Nano. Se prepararon emulsiones de aceite de motor SAE 20W-50 en agua destilada a concentraciones del 1, 5, 10, 15 y 20 % v/v, utilizando agitación en vortex y centrifugación. Se realizaron tres experimentos modificando el valor de la resistencia del divisor de voltaje (464 Ω y 4.7 k Ω) con el fin de evaluar la estabilidad de la señal y la relación entre la concentración de aceite y la lectura del convertidor analógico-digital (ADC). Los resultados demostraron que la presencia de aceite modifica la conductividad del medio; sin embargo, no se observó una relación proporcional directa entre la concentración y la señal obtenida, lo que se atribuye a la naturaleza heterogénea de las emulsiones, efectos de electrólisis generados por corriente directa y limitaciones de la resolución del ADC ante señales de muy baja amplitud. El trabajo aporta evidencia experimental sobre las limitaciones del método de corriente directa para este tipo de aplicación y orienta el desarrollo de trabajos futuros basados en excitación de corriente alterna y espectroscopía de impedancia.

Palabras clave: Lab-on-a-Chip, aceite en agua, conductividad eléctrica, Arduino Nano.

Abstract

This paper describes the design, manufacture, and experimental evaluation of a system for detecting used automotive oil in distilled water, using disposable lab-on-a-chip (LoC) modules manufactured on phenolic plates by CNC milling and a voltage divider-based measurement circuit with an Arduino Nano microcontroller. SAE 20W-50 motor oil emulsions were prepared in distilled water at concentrations of 1, 5, 10, 15, and 20 % v/v, using vortex agitation and centrifugation. Three experiments were performed by modifying the resistance value of the voltage divider (464 Ω and 4.7 k Ω) in order to evaluate the stability of the signal and the relationship between the oil concentration and the analog-to-digital converter (ADC) reading. The results showed that the presence of oil modifies the conductivity of the medium; however, no direct proportional relationship was observed between the concentration and the signal obtained, which is attributed to the heterogeneous nature of the emulsions, electrolysis effects generated by direct current, and limitations of the ADC resolution in the presence of very low amplitude signals. The work provides experimental evidence on the limitations of the direct current method for this type of application and guides the development of future work based on alternating current excitation and impedance spectroscopy.

Keywords: Lab-on-a-Chip, oil in water, electrical conductivity, Arduino Nano.

1. Introducción

La contaminación del agua por hidrocarburos de origen automotriz representa un problema ambiental relevante en contextos urbanos e industriales. En talleres mecánicos, estaciones de servicio y zonas de mantenimiento vehicular, el aceite de motor usado puede incorporarse a efluentes acuosos generando contaminación de cuerpos de agua superficiales y subterráneos (Strugała-Wilczek et al., 2022). La detección oportuna y cuantitativa de aceite en agua constituye una necesidad técnica con implicaciones tanto ambientales como de salud pública.

Desde el ámbito de la ingeniería biomédica e instrumentación, los dispositivos de tipo lab-on-a-chip (LoC) representan una alternativa de bajo costo y alta integración para la medición de parámetros fisicoquímicos en fluidos. Estos dispositivos integran microcanales y electrodos en un sustrato compacto, permitiendo la medición de propiedades eléctricas como la conductividad o la impedancia a partir de volúmenes de muestra del orden de los microlitros (Mark et al., 2010). La conductividad eléctrica es una propiedad directamente relacionada con la presencia de iones en solución; dado que el aceite automotriz es un material dieléctricamente aislante con una resistividad del orden de 10^{12} $\Omega\cdot\text{cm}$ (Zhang et al., 2017), su incorporación a una solución acuosa reduce la conductividad del medio de manera proporcional a su concentración, lo que constituye el principio de detección del presente trabajo.

La medición de conductividad mediante microcontroladores de bajo costo como el Arduino Nano ha sido implementada en diversas plataformas de monitoreo de calidad del agua (Riboldi et al., 2023). Estos sistemas emplean típicamente un circuito divisor de voltaje donde la celda de medición actúa como elemento variable, cuyo valor de resistencia se calcula a partir de la lectura del convertidor analógico-digital (ADC) del microcontrolador. Sin embargo, el uso de corriente directa (CD) en este tipo de mediciones genera el fenómeno de electrólisis y polarización de electrodos, lo que introduce

variaciones en la señal que dificultan la obtención de mediciones estables y reproducibles (Ishai et al., 2013).

En este contexto, el presente trabajo plantea el diseño y la evaluación experimental de un sistema LoC desechable de bajo costo para la detección de aceite SAE 20W-50 en agua destilada, empleando un microcontrolador Arduino Nano como sistema de adquisición. Como hipótesis se plantea que, a mayor concentración de aceite en agua, la conductividad eléctrica disminuya, esto con la finalidad de lograr estandarizar la técnica de detección de aceite presente en el agua. Los objetivos específicos fueron: (a) fabricar módulos LoC desechables sobre placa fenólica mediante fresado CNC; (b) preparar emulsiones de referencia con concentraciones controladas de aceite en agua; (c) evaluar el comportamiento de la señal del ADC en función de la concentración de aceite bajo diferentes configuraciones del circuito divisor de voltaje, y (d) identificar las limitaciones del método de excitación en corriente directa para este tipo de aplicación.

2. Materiales y métodos

2.1. Fabricación del dispositivo Lab-on-a-Chip

Se diseñaron y fabricaron módulos desechables tipo Lab-on-a-chip sobre placas fenólicas (Fig. 1), material seleccionado por su baja porosidad, rigidez mecánica y facilidad de mecanizado. El diseño del canal de medición se realizó en el software Proteus, el cual permitió definir la geometría del canal donde se deposita la gota de muestra, así como la disposición de los electrodos de cobre expuestos.

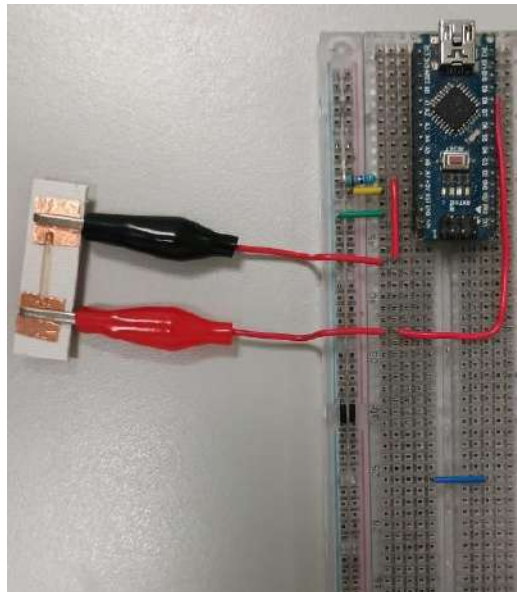


Figura 1. Dispositivo de medición con Arduino Nano. Se observa el circuito divisor de voltaje sobre protoboard y la conexión mediante pinzas cocodrilo al módulo LoC desechable.

Figure 1. Measurement device using an Arduino Nano. The voltage divider circuit on the breadboard and the connection to the disposable LoC module via alligator clips are shown.

La configuración de los parámetros de corte, incluyendo la profundidad de fresado y la velocidad de avance, se realizó mediante el software FlatCAM. La transferencia del diseño a máquina CNC y la ejecución del proceso de fresado se llevaron a cabo con el software Candle.

El dispositivo resultante consiste en un microcanal lineal con dos electrodos de cobre expuestos en sus extremos, sobre los cuales se deposita la muestra de emulsión (Fig. 1). La conexión eléctrica al circuito de medición se realizó mediante pinzas tipo cocodrilo, lo que permite el intercambio rápido de los chips desechables entre mediciones y garantiza la utilización de un módulo nuevo por cada muestra, evitando la contaminación cruzada entre concentraciones (Fig. 2).

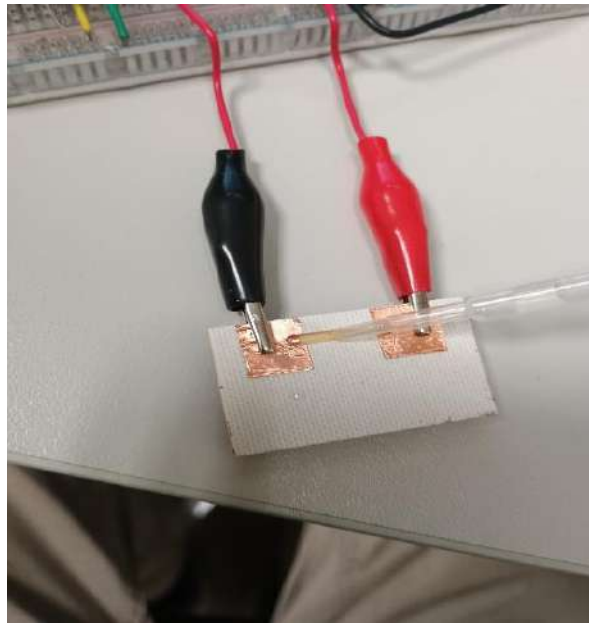


Figura 2. Aplicación de la disolución de aceite en agua sobre el módulo LoC. La muestra se depositó con pipeta desechable hasta alcanzar el nivel de la superficie del canal.

Figure 2. Application of the oil-in-water solution to the LoC module. The sample was dispensed using a disposable pipette until it reached the surface of the channel.

2.2. Preparación de las emulsiones de referencia

Se prepararon cinco emulsiones de aceite de motor usado SAE 20W-50 en agua destilada a concentraciones del 1, 5, 10, 15 y 20 %, v/v, para un volumen total de 10 mL por emulsión (Fig. 3). El aceite utilizado presentó una densidad aproximada de 0.85 a 0.89 g/mL. Las proporciones volumétricas preparadas se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Proporciones volumétricas (v/v) de las emulsiones de aceite SAE 20W-50 en agua destilada.**Table 1.** Volume ratios (v/v) of SAE 20W-50 oil emulsions in distilled water.

Concentración (% v/v)	Volumen de aceite (mL)	Volumen de agua destilada (mL)	Volumen total (mL)
1	0.1	9.9	10
5	0.5	9.5	10
10	1.0	9.0	10
15	1.5	8.5	10
20	2.0	8.0	10

El procedimiento de preparación de cada emulsión consistió en los siguientes pasos: (1) medir el volumen de agua destilada con pipeta graduada y transferirlo al tubo Falcon; (2) medir el volumen de aceite correspondiente y adicionarlo lentamente sobre el agua; (3) tapar el tubo de forma hermética; (4) someter la mezcla a agitación en vortex a velocidad máxima durante 1 minuto, con el objetivo de generar micropartículas de aceite y simular las condiciones de turbulencia presentes en efluentes ambientales; (5) centrifugar a 3 000 rpm durante 5 minutos para evaluar la estabilidad de la emulsión. Los materiales y equipos empleados se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Materiales y equipos empleados en la preparación de las emulsiones y el sistema de medición.**Table 2.** Materials and equipment used in the preparation of the emulsions and the measurement system.

Material / Reactivo	Especificación
Agua destilada	Grado laboratorio
Aceite de motor usado	SAE 20W-50, densidad 0.85 – 0.89 g/mL
Tubos Falcon con tapa	15 mL
Pipetas graduadas	1 mL y 2 mL
Vortex	Velocidad máxima
Centrífuga	3 000 rpm
Placas fenólicas (FR-2)	Para fabricación de chips
Máquina CNC	Fresado de microcanal
Arduino Nano	Microcontrolador ATmega328P, ADC 10 bits, 5 V
Resistencia	464 Ω (Exp. 1) y 4.7 k Ω (Exp. 2 y 3)
Protoboard y cables cocodrilo	Para circuito divisor de voltaje
Pipetas desechables de 1 mL	Aplicación de muestra al chip

Como se aprecia en la Fig. 3, las emulsiones presentaron una tonalidad que varía de blanco lechoso a amarillo turbio en función de la concentración. La muestra al 15 % evidenció la formación de un anillo marrón en la parte superior del tubo, indicativo de una separación parcial de fases tras la centrifugación, lo cual es consistente con la naturaleza hidrofóbica del aceite y con la ausencia de un agente emulsificante en las formulaciones preparadas.

2.3. Circuito de medición

El sistema de medición se basó en un circuito divisor de voltaje conformado por una resistencia de referencia (R_{ref}) en serie con la celda del chip LoC, que actúa como resistencia variable (R_{chip}) en función de la conductividad de la muestra depositada. El voltaje en el nodo intermedio del divisor fue adquirido por el pin analógico A0 del Arduino Nano, el cual cuenta con un ADC de 10 bits y referencia de 5 V, proporcionando una resolución de 4.88 mV por cuenta (1 024 niveles en total). El circuito responde a la ecuación (Ec. 1)

$$V_{ADC} = V_{CC} \times R_{chip} / (R_{ref} + R_{chip}) \quad (Ec. 1)$$

En donde $V_{CC} = 5$ V es el voltaje de alimentación. Con este circuito, un mayor valor de R_{chip} (menor conductividad de la muestra, es decir, mayor concentración de aceite aislante) produce un mayor voltaje en el nodo y una lectura ADC más alta.

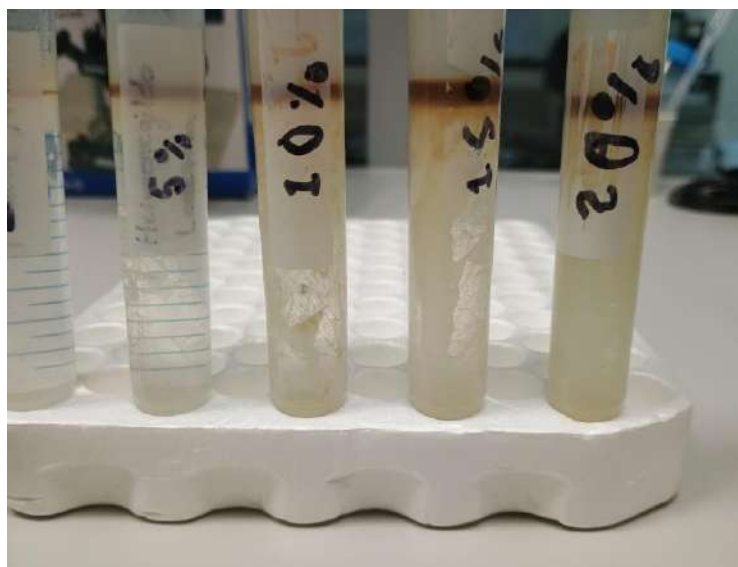


Figura 3. Emulsiones de aceite SAE 20W-50 en agua destilada a concentraciones de 5, 10, 15 y 20 % v/v (de izquierda a derecha) tras la agitación en vortex. Se observa incremento en la turbidez y tonalidad amarillenta conforme aumenta la concentración, así como separación de fase en la muestra del 15 %.

Figure 3. Emulsions of SAE 20W-50 oil in distilled water at concentrations of 5, 10, 15, and 20% v/v (from left to right) after vortex mixing. An increase in turbidity and a yellowish tint are observed as the concentration increases, as well as phase separation in the 15% sample.

Se evaluaron dos valores de R_{ref} con el objetivo de estudiar su efecto sobre la estabilidad de la señal. En el experimento 1 se utilizó $R_{ref} = 464 \Omega$, mientras que en los experimentos 2 y 3 se incrementó a $R_{ref} = 4.7 \text{ k}\Omega$. Este aumento tiene como efecto una reducción aproximada de diez veces en la corriente que circula por el circuito, lo cual busca disminuir los efectos de polarización y electrólisis en los electrodos del chip. Las lecturas del ADC fueron registradas continuamente durante 20 segundos (20 000 ms) a una frecuencia de muestreo determinada por la velocidad de procesamiento del Arduino Nano.

2.4. Protocolo experimental

Se realizaron tres experimentos consecutivos. En todos ellos se aplicaron las cinco emulsiones al chip LoC mediante pipeta desechable de 1 mL, depositando el volumen suficiente para cubrir la superficie del canal hasta el nivel de los electrodos (Fig. 2). Entre cada medición se reemplazó el chip por un módulo nuevo para evitar la contaminación cruzada. El experimento 1 empleó $R_{ref} = 464 \Omega$. Ante la falta de proporcionalidad observada, los experimentos 2 y 3 se realizaron con $R_{ref} = 4.7 \text{ k}\Omega$, repitiendo las mediciones de forma independiente para verificar la reproducibilidad de los resultados.

3. Resultados y discusión

3.1. Experimento 1: $R_{ref} = 464 \Omega$

En el experimento 1, las lecturas del ADC oscilaron en rangos de alta amplitud para todas las concentraciones evaluadas, como se muestra en las gráficas de la Fig. 4. Los valores medios aproximados obtenidos por concentración fueron: 563 (1 %), 589 (5 %), 534 (10 %), 602 (15 %) y 548 (20 %). Estos valores no presentan una relación monótona con la concentración de aceite; en particular, la concentración del 5 % exhibió un valor ADC superior al del 10 %, lo que resulta inconsistente con la hipótesis de que una mayor concentración de aceite genera mayor resistencia eléctrica y, por lo tanto, una lectura ADC mayor.

Adicionalmente, se observó una tendencia decreciente en la señal a lo largo del tiempo en la muestra del 1 %, con valores que pasaron de aproximadamente 573 al inicio a 563 al final del periodo de medición. Esta deriva temporal es consistente con el fenómeno de polarización de electrodos generado por la corriente directa, donde la acumulación de cargas en la interfaz electrodo-líquido modifica la impedancia efectiva de la celda de medición de forma dinámica. La elevada dispersión de los datos (puntos con separaciones de hasta 30 unidades ADC respecto a la media) confirma la inestabilidad de la señal bajo excitación en CD con resistencia de baja impedancia.

3.2. Experimento 2: $R_{ref} = 4.7 \text{ k}\Omega$ (Primera repetición)

Al incrementar R_{ref} a $4.7 \text{ k}\Omega$, la corriente que circuló por el circuito se redujo aproximadamente diez veces respecto al experimento 1. Como consecuencia, las lecturas del ADC disminuyeron a valores en el rango de 3 a 13 unidades (de un total de 1 023), lo que evidencia que el nivel de señal resultó excesivamente bajo para la resolución del ADC del Arduino Nano. En estas

condiciones, cada unidad de conteo representa un cambio de voltaje de 4.88 mV, por lo que la señal de la celda LoC quedó prácticamente en el piso de ruido del convertidor.

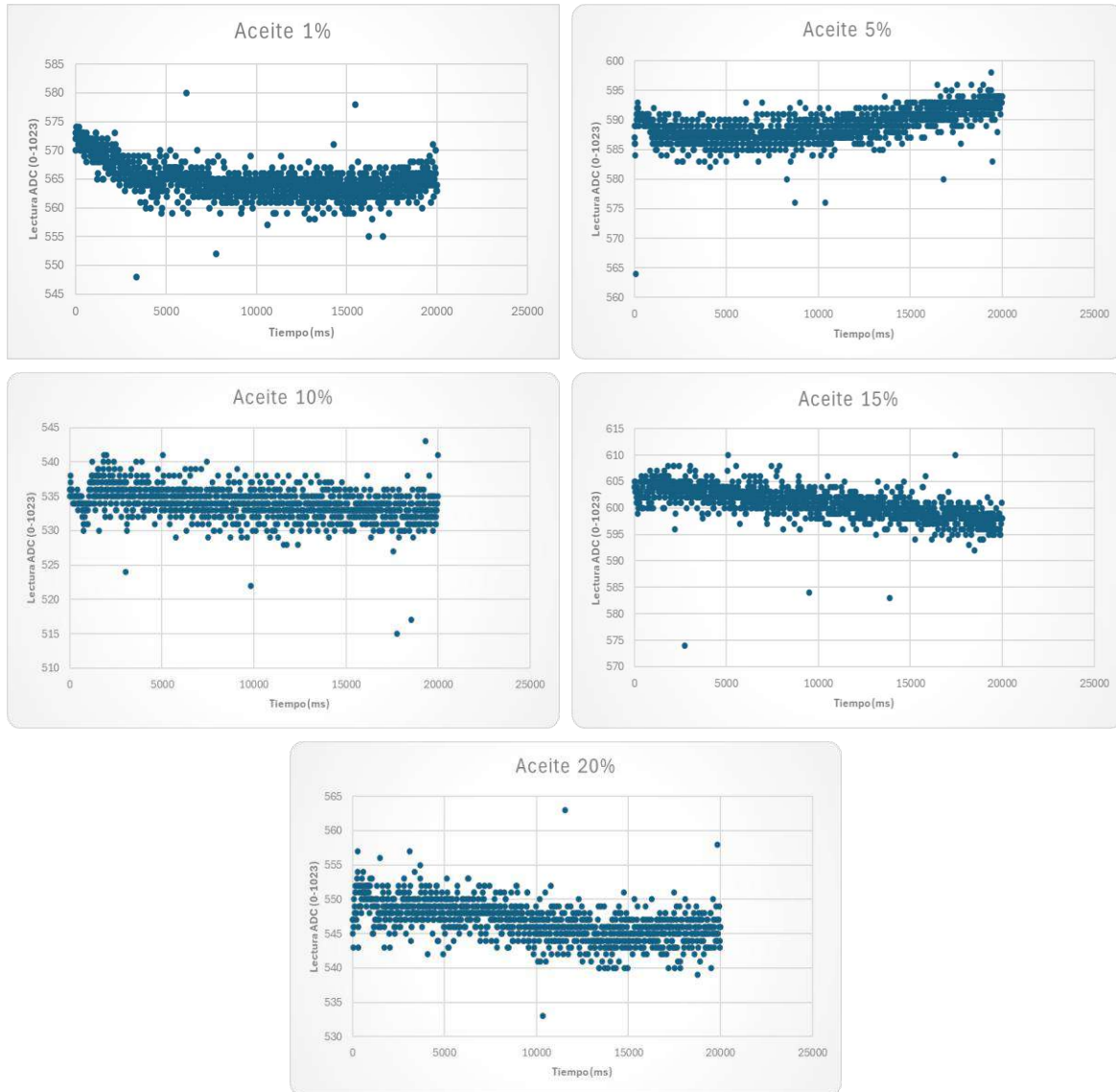


Figura 4. Lecturas del ADC (0–1 023) en función del tiempo (ms) para las concentraciones de 1, 5, 10, 15 y 20 % v/v en el experimento 1 ($R_{ref} = 464 \Omega$). Se observa alta dispersión de los datos y ausencia de una tendencia proporcional entre concentración y señal ADC.

Figure 4. ADC readings (0–1,023) as a function of time (ms) for concentrations of 1, 5, 10, 15, and 20% v/v in Experiment 1 ($R_{ref} = 464 \Omega$). The data show high dispersion, and there is no linear relationship between concentration and ADC signal.

A pesar de lo anterior, la morfología de las curvas mejoró respecto al experimento 1: los datos presentaron líneas más continuas y una dispersión notablemente menor, lo cual sugiere que la reducción de corriente contribuyó a disminuir los efectos de electrólisis. Los valores medios aproximados obtenidos por concentración fueron: 5–6 (1 %), 9–11 (5 %), 4–6 (10 %), 6–8 (15 %) y 7–11 (20 %). La relación entre concentración y lectura ADC continuó siendo no proporcional, con la concentración del 5 % presentando de nuevo un valor anómalo superior al del 10 % (Fig. 5).

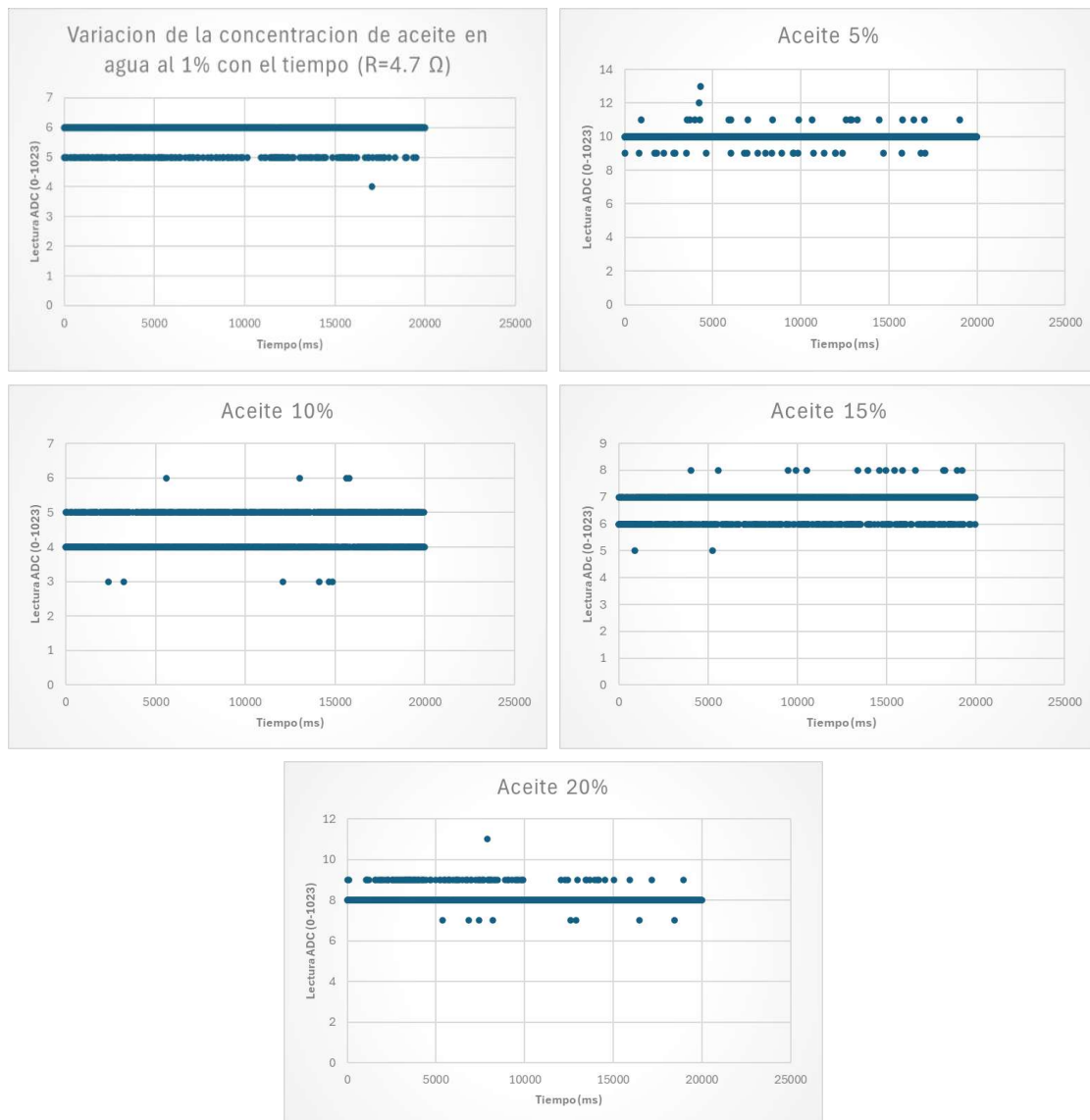


Figura 5. Lecturas del ADC (0–1 023) en función del tiempo (ms) para las concentraciones de 1, 5, 10, 15 y 20 % v/v en el experimento 2 ($R_{ref} = 4.7 \text{ k}\Omega$). Las lecturas se concentran en valores de 3 a 13, próximos al piso de ruido del ADC, aunque con mayor estabilidad temporal que en el experimento 1.

Figure 5. ADC readings (0–1,023) as a function of time (ms) for concentrations of 1, 5, 10, 15, and 20% v/v in Experiment 2 ($R_{ref} = 4.7 \text{ k}\Omega$). The readings are concentrated in the range of 3 to 13, close to the ADC's noise floor, although with greater temporal stability than in Experiment 1.

3.3. Experimento 3: $R_{ref} = 4.7 \text{ k}\Omega$ (Segunda repetición)

El experimento 3 se realizó con la misma configuración del experimento 2 con el objetivo de verificar la reproducibilidad de los resultados y descartar un error en la preparación de las emulsiones como causa de la falta de proporcionalidad observada.

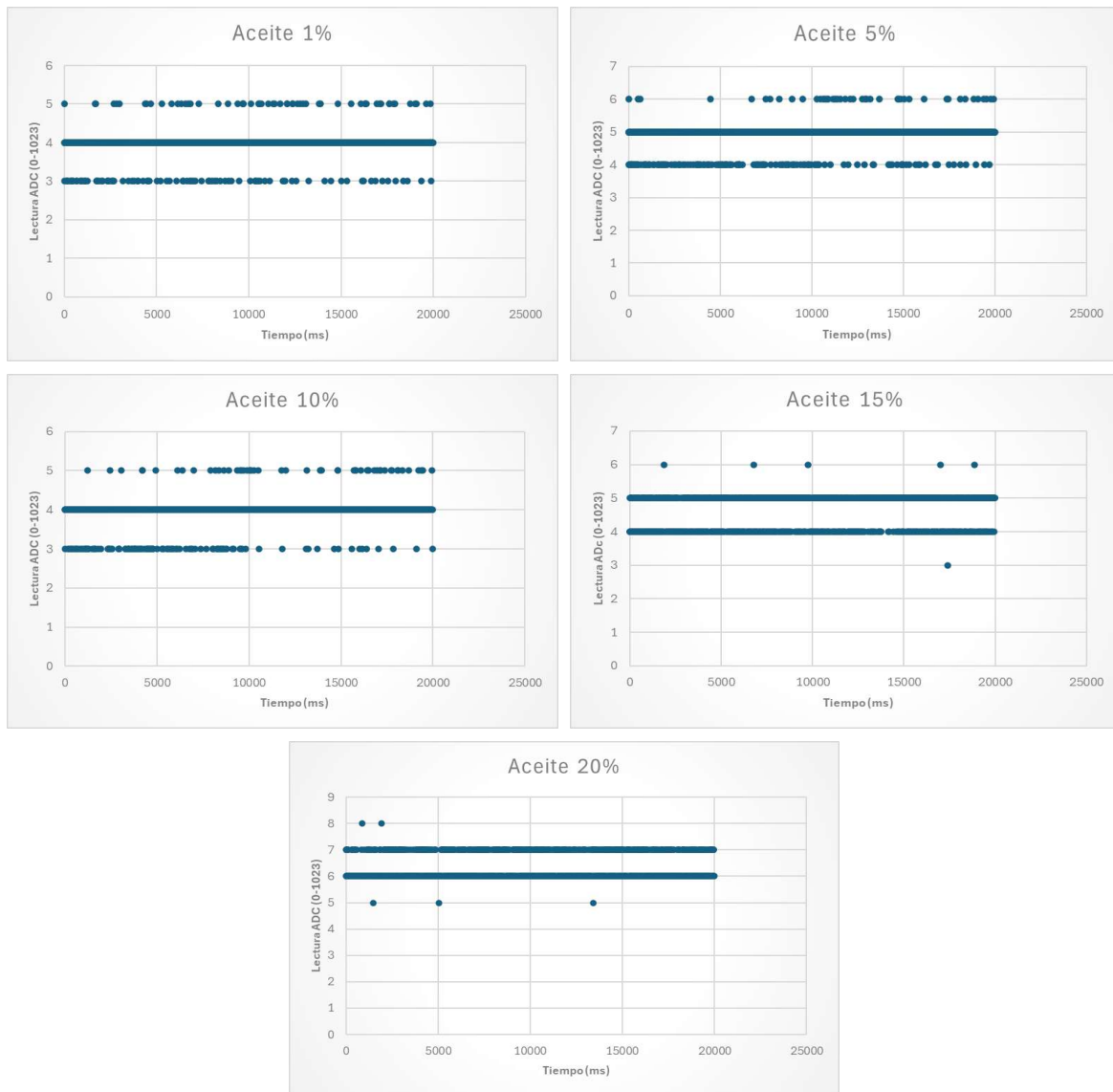


Figura 6. Lecturas del ADC (0–1 023) en función del tiempo (ms) para las concentraciones de 1, 5, 10, 15 y 20 % v/v en el experimento 3 ($R_{ref} = 4.7 \text{ k}\Omega$, segunda repetición). Los resultados replican el comportamiento del experimento 2, confirmando la reproducibilidad del fenómeno observado.

Figure 6. ADC readings (0–1,023) as a function of time (ms) for concentrations of 1, 5, 10, 15, and 20% v/v in Experiment 3 ($R_{ref} = 4.7 \text{ k}\Omega$, second replicate). The results replicate the behavior observed in Experiment 2, confirming the reproducibility of the phenomenon.

Los resultados obtenidos replicaron el comportamiento del experimento 2: las lecturas del ADC se mantuvieron en el rango de 3 a 8 unidades para todas las concentraciones, con una estabilidad temporal similar y sin una tendencia monótona en función de la concentración de aceite. Los valores medios aproximados por concentración fueron: 3–5 (1 %), 4–6 (5 %), 3–5 (10 %), 4–6 (15 %) y 6–8 (20 %) (Fig. 6).

La reproducibilidad de los resultados entre los experimentos 2 y 3, incluyendo la aparición del mismo valor anómalo en la concentración del 5 %, indica que el fenómeno observado no se debe a un error en la preparación de las disoluciones, sino a una limitación fundamental del principio de medición empleado bajo excitación en corriente directa.

La Tabla 3 resume los rangos de lectura ADC obtenidos para cada concentración y experimento, permitiendo la comparación sistemática de los tres ensayos realizados.

Tabla 3. Resumen de los rangos de lectura ADC obtenidos en los tres experimentos para cada concentración de aceite evaluada.

Table 3. Summary of the ADC reading ranges obtained in the three experiments for each oil concentration evaluated.

Concentración (% v/v)	Exp 1 (464 Ω) Media ADC	Exp 1 Dispersión	Exp 2 (4.7 k Ω) Media ADC	Exp 3 (4.7 k Ω) Media ADC
1	~563	Alta	5 – 6	3 – 5
5	~589	Alta	9 – 11	4 – 6
10	~534	Media	4 – 6	3 – 5
15	~602	Alta	6 – 8	4 – 6
20	~548	Media	7 – 11	6 – 8

Los resultados obtenidos en los tres experimentos muestran que la medición de conductividad eléctrica mediante corriente directa en el sistema LoC propuesto no presenta una relación proporcional directa con la concentración de aceite, aun cuando el aceite es eléctricamente aislante. Este comportamiento puede explicarse a partir de dos fenómenos principales: la naturaleza heterogénea de las emulsiones agua-aceite y los efectos electroquímicos asociados al uso de corriente directa.

En cuanto a la heterogeneidad de la emulsión, la distribución espacial de las microgotas de aceite dentro del canal de medición varía en cada medición, ya que no se emplea ningún agente emulsificante que garantice una dispersión uniforme y estable. La corriente eléctrica fluye principalmente a través de las regiones continuas de agua, por lo que pequeñas variaciones en la disposición de las gotas de aceite generan cambios importantes en los caminos de conducción, produciendo lecturas inconsistentes entre concentraciones. Esto es consistente con lo reportado por Shi et. al. (2019) quienes demostraron que la distribución de gotas en emulsiones agua-aceite afecta

significativamente la respuesta de sensores de impedancia, incluso cuando la concentración volumétrica permanece constante.

Respecto a los efectos electroquímicos, el uso de corriente directa genera el fenómeno de polarización de electrodos, que consiste en la acumulación de cargas en la interfaz electrodo-líquido formando una doble capa eléctrica que actúa como capacitor, modificando la impedancia efectiva de la celda con el tiempo (Ghafar-Zadeh et al., 2007). En el experimento 1, la resistencia de 464 Ω produjo corrientes del orden de varios miliamperios, suficientes para generar electrólisis visible y una deriva temporal de la señal, especialmente pronunciada en la muestra del 1 % donde la mayor conductividad del agua genera corrientes más elevadas. El incremento de la resistencia a 4.7 k Ω en los experimentos 2 y 3 redujo la corriente aproximadamente diez veces, disminuyendo los efectos de polarización y produciendo señales temporalmente más estables, lo cual está en concordancia con las recomendaciones técnicas para sensores de conductividad con electrodos expuestos (Ishai et al., 2013).

Sin embargo, al reducir la corriente, el voltaje desarrollado sobre la celda LoC también disminuyó a valores extremadamente pequeños, llevando las lecturas del ADC a un rango de 3 a 13 cuentas. Con una resolución de 4.88 mV por cuenta en el ADC de 10 bits del Arduino Nano y 5 V de referencia, cada cuenta representa una variación de conductividad mayor que la diferencia real entre concentraciones, haciendo que el sistema sea incapaz de discriminar entre los distintos porcentajes evaluados. En este sentido, la limitación del sistema no radica únicamente en los efectos electroquímicos, sino en la combinación de baja amplitud de señal y resolución insuficiente del ADC para detectar diferencias de impedancia de alta magnitud con excitación en CD.

La aparición del valor anómalo en la concentración del 5 % en los tres experimentos es relevante. Este comportamiento, reproducido de forma consistente, sugiere que la emulsión al 5 % puede haber presentado una distribución de microgotas diferente a la esperada, posiblemente relacionada con la formación de estructuras de emulsión más estables a esa concentración que facilitan una conductividad levemente mayor. Este fenómeno requiere un estudio más detallado en trabajos futuros mediante análisis de tamaño de partícula y estabilidad de la emulsión.

Para superar las limitaciones identificadas, la literatura especializada señala que la espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS, por sus siglas en inglés) con excitación en corriente alterna constituye la alternativa más adecuada para mediciones de conductividad en sistemas microfluidicos. La excitación en CA elimina la acumulación de cargas en la interfaz electrodo-líquido y permite evaluar la impedancia en múltiples frecuencias, obteniendo información sobre la resistencia del medio (relativa al contenido acuoso) y la capacitancia de la interfaz (relacionada con la distribución de gotas de aceite) de forma separada (Gawad et al., 2001). Sistemas reportados en la literatura empleando excitación en CA en el rango de 1 kHz a 1 MHz con electrodos interdigitados han logrado detectar variaciones de contenido de agua en aceite con sensibilidades del orden del 0.12 dB/% (Riboldi et al., 2023), lo que sugiere que una arquitectura similar podría ser aplicada al problema inverso de detectar aceite en agua.

4. Conclusiones

En el presente trabajo se diseñaron, fabricaron y evaluaron módulos desechables tipo lab on a chip sobre placa fenólica mediante fresado CNC, integrados con un sistema de medición de

conductividad basado en divisor de voltaje y Arduino Nano, para la detección de aceite de motor SAE 20W-50 en agua destilada en concentraciones del 1 al 20 % v/v.

Los resultados de los tres experimentos demostraron que la presencia de aceite modifica la conductividad del medio; sin embargo, no se observó una relación proporcional directa entre la concentración de aceite y la señal del ADC. Este comportamiento se atribuye a la combinación de dos factores: la naturaleza heterogénea de las emulsiones preparadas sin agente emulsificante, que genera distribuciones variables de microgotas entre mediciones, y los efectos de polarización de electrodos e interferencia electroquímica producidos por la excitación en corriente directa.

El incremento de la resistencia del divisor de voltaje de 464 Ω a 4.7 k Ω redujo significativamente los efectos de electrólisis y mejoró la estabilidad temporal de la señal, lo que evidencia la importancia del diseño electrónico en el desempeño de sensores de conductividad. No obstante, esta modificación produjo un nivel de señal excesivamente bajo para la resolución del ADC del Arduino Nano, limitando la capacidad de discriminación entre concentraciones.

La viabilidad técnica del dispositivo LoC desechable fabricado mediante CNC quedó demostrada, representando una plataforma de bajo costo y fácil acceso para el desarrollo de sensores de análisis de fluidos. Los resultados indican, sin embargo, que la medición directa de conductividad bajo excitación en CD no resulta suficiente para estimar de forma lineal y reproducible la concentración de aceite en agua en el rango evaluado.

Como trabajo a futuro, se plantea implementar excitación en corriente alterna en el rango de 1 kHz a 100 kHz mediante la generación de señales PWM filtradas o un generador de señales integrado, con el fin de aplicar espectroscopía de impedancia electroquímica sobre el mismo diseño de chip. Adicionalmente, se contempla evaluar el uso de electrodos interdigitados con mayor área superficial para incrementar la sensibilidad del sistema, y la incorporación de un agente emulsificante de grado técnico para mejorar la homogeneidad y repetibilidad de las emulsiones de referencia.

Contribuciones de los autores

Los autores presentan las siguientes contribuciones: C.E.C.F.: asesor metodológico y técnico de las pruebas experimentales y editor del presente manuscrito; H.A.E.L.: aplicador de pruebas experimentales y gestión de muestreo; S.G.C.H.: asesora y diseñadora de pruebas de laboratorio para mezclado de agua; L.A.C.S.: revisor de técnicas de laboratorio y revisión de redacción y J.G.M.G.: asesora metodológica de laboratorio y revisora del presente manuscrito.

Agradecimientos

Se agradece a la Universidad Autónoma de Chihuahua por el apoyo en la prestación de los recursos del laboratorio para la realización de esta investigación,

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

5. Referencias

- Gawad, S., Schild, L., & Renaud, Ph. (2001). Micromachined impedance spectroscopy flow cytometer for cell analysis and particle sizing. *Lab on a Chip*, 1(1), 76. <https://doi.org/10.1039/b103933b>
- Ghafar-Zadeh, E., Sawan, M., & Therriault, D. (2007). Novel direct-write CMOS-based laboratory-on-chip: Design, assembly and experimental results. *Sensors and Actuators A: Physical*, 134(1), 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2006.05.022>
- Ishai, P. B., Talary, M. S., Caduff, A., Levy, E., & Feldman, Y. (2013). Electrode polarization in dielectric measurements: A review. *Measurement Science and Technology*, 24(10), 102001. <https://doi.org/10.1088/0957-0233/24/10/102001>
- Mark, D., Haeberle, S., Roth, G., Von Stetten, F., & Zengerle, R. (2010). Microfluidic lab-on-a-chip platforms: Requirements, characteristics and applications. *Chemical Society Reviews*, 39(3), 1153-1182. <https://doi.org/10.1039/b820557b>
- Riboldi, C., Castillo, D. A. C., Crafa, D. M., & Carminati, M. (2023). Contactless Sensing of Water Properties for Smart Monitoring of Pipelines. *Sensors*, 23(4), 2075. <https://doi.org/10.3390/s23042075>
- Shi, H., Zhang, H., Ma, L., & Zeng, L. (2019). A multi-function sensor for online detection of contaminants in hydraulic oil. *Tribology International*, 138, 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.triboint.2019.05.025>
- Strugała-Wilczek, A., Kapusta, K., & Pankiewicz-Sperka, M. (2022). Pollutants release from the residues remaining after underground gasification (UCG) of ortho- and meta-lignites. *Fuel*, 327, 125126. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.125126>
- Zhang, H., Zeng, L., Teng, H., & Zhang, X. (2017). A Novel On-Chip Impedance Sensor for the Detection of Particle Contamination in Hydraulic Oil. *Micromachines*, 8(8), 249. <https://doi.org/10.3390/mi8080249>

2026 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA



2683-3360

TECNOCIENCIA Chihuahua

Revista de ciencia y tecnología



Guía para autores



UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Dirección de
Investigación y Posgrado

Política editorial

Se aceptan manuscritos originales e inéditos de tipo científico y tecnológico, que deberán estar escritos con un lenguaje claro y accesible para lectores con formación profesional o de interés científico, y con una estructura lógica. *TECNOCENCIA CHIHUAHUA* publica artículos de investigación, notas científicas y artículos de revisión actualizados. Todo manuscrito recibido es revisado en primera instancia por el [Equipo Editorial](#) para verificar que cumpla con el formato y contenido establecido por las normas editoriales de *TECNOCENCIA CHIHUAHUA*. El Equipo Editorial verificará que el envío cumpla con todos los requisitos de postulación, incluyendo su revisión bajo el software antiplagio iThenticate, donde el porcentaje de similitud con otros trabajos ya publicados (ajenos o propios) deberá ser menor al 10 %. Los artículos se enviarán a revisión con un [Editor Asociado](#) y, una vez revisado y teniendo en cuenta las sugerencias y cambios realizados al manuscrito, los editores asociados determinarán su viabilidad para su publicación, notificándose la aceptación o el rechazo al autor y asignando a un [Editor de Sección](#) especialista en el tema proveniente de nuestro Comité Científico. Si después del proceso de arbitraje, el manuscrito es aceptado, la revista lo enviará al proceso de edición y el responsable se contactará con el autor de correspondencia para la revisión y aprobación de las pruebas de galera. También se le solicitará un resumen gráfico que describa visualmente el contenido del artículo, así como cuatro o cinco aspectos relevantes del trabajo a publicar.

Para evaluar los manuscritos, se aplican los siguientes criterios: rigor científico, calidad y precisión de la información, relevancia del tema y claridad del lenguaje. Los árbitros serán quienes determinarán la calidad científica del manuscrito y su aprobación para su publicación. Los artículos de investigación deben presentar un análisis detallado de los resultados originales, así como un desarrollo metodológico riguroso que resalte los logros científicos. Las notas científicas o comunicaciones cortas deberán mostrar resultados novedosos, modificaciones de técnicas o desarrollo de técnicas emergentes innovadoras. Asimismo, los artículos de revisión deberán abordar temáticas novedosas y fundamentar el estado del arte en una revisión de la literatura actualizada sobre temas actuales y de interés para el lector.

La revista *TECNOCENCIA CHIHUAHUA* es acceso abierto diamante por lo que proporciona un acceso abierto e inmediato a su contenido. Su objetivo es ofrecer al público un acceso libre a información científica original e inédita, así como a revisiones críticas actualizadas, para favorecer una mayor difusión global del conocimiento y cumplir así con la normativa de acceso abierto de DOAJ.

Arbitraje

El proceso de evaluación de manuscritos es el siguiente: Un [Editor de Sección](#) del Comité Científico evaluará cada contribución, y podría rechazar trabajos en esta etapa por razones tales como: carecer de originalidad, tener serias deficiencias científicas, un uso inadecuado del lenguaje y de la gramática en general, o que el contenido esté fuera de los alcances de la revista. Los autores deberán proporcionar los datos de contacto completos de cuando menos tres árbitros potenciales adscritos a una institución distinta a la del autor, sin embargo, la asignación de los árbitros para revisión del manuscrito será una decisión de la revista. La revista opera bajo un sistema de doble ciego y favorecerá la participación de revisores externos a la institución y al país de los autores. Tras el proceso de arbitraje, el Editor de Sección emitirá un dictamen respecto a la evaluación del trabajo a los autores el cual puede ser: aceptar este envío o no publicable.



En caso de controversia, el Editor de Sección podrá solicitar una evaluación adicional o dictaminar el manuscrito.

Derechos de autor

Una vez aceptado el manuscrito, se solicitará al Autor enviar el formato de cesión de derechos de autor para la difusión del artículo a *TECNOCENCIA CHIHUAHUA*. Los autores concederán por escrito a la revista *TECNOCENCIA CHIHUAHUA*, la propiedad de los derechos de autor, únicamente para su difusión, los autores retienen la propiedad intelectual, lo que permite que su artículo y materiales puedan ser reproducidos, publicados, editados, fijados, comunicados y transmitidos públicamente en cualquier forma o medio, así como su distribución en el número de ejemplares que se requieran y su comunicación pública, en cada una de sus modalidades, incluida su puesta a disposición del público a través de medios electrónicos, ópticos o de cualquier otra tecnología, con fines exclusivamente científicos, culturales, de difusión y sin fines de lucro.

Los artículos publicados en *TECNOCENCIA CHIHUAHUA*, se distribuirán amparados bajo la [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional](#)

Costo y tiempo de publicación

La Revista *TECNOCENCIA CHIHUAHUA* es gratuita y está financiada por la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH). Se solicita a los autores se inscriban a la Revista para estadísticas de acceso y autoría.

El tiempo para la recepción y envío a revisión será en un máximo de tres días. El tiempo promedio para la primera respuesta de los árbitros es de cuatro semanas. El tiempo estimado para la aceptación del artículo es de tres meses y su publicación dependerá de la cantidad de trabajos que estén en espera de publicación.

Contribuciones

1. Tipos de contribuciones

Las contribuciones se clasifican en artículos de investigación, notas científicas, así como artículos de revisión en español e inglés.

No se aceptan contribuciones que se limiten a reportar información general sin fundamento estadístico, encuestas, composición química, u optimización de formulaciones (superficie de respuesta). Debe haber una aportación científica, tecnológica o ingenieril original, inédita y que no esté siendo considerada para su publicación simultánea en otro medio. Una descripción de los envíos se encontrará en el siguiente apartado.

2. Áreas de las contribuciones

Las áreas que abarca la Revista *TECNOCENCIA CHIHUAHUA* son las siguientes: Alimentos, Biológica, Salud, Agropecuaria, Cultura Física, Ingeniería y Tecnología, Química y Recursos Naturales. Al someter su contribución se deberá indicar la categoría que le corresponde. De no ser esto posible, es responsabilidad del autor proporcionar el área sugerida de su contribución.



3. Idioma de las contribuciones

El idioma de las contribuciones será inglés o español. Se recomienda que los autores lleven a cabo una cuidadosa revisión del correcto uso del lenguaje para que los revisores puedan evaluar los méritos científicos del trabajo. Los editores podrán rechazar cualquier contribución que no cumpla los estándares.

4. Preparación y envío de las contribuciones

Es indispensable que el autor se registre para postular el manuscrito a la revista. Se recomienda que el autor complete en su totalidad todos los datos solicitados en su perfil incluyendo su identificador [ORCID](#).

¿No está registrado? [Regístrese aquí](#)

¿Ya está registrado? [Ingresa aquí](#)

Los autores, deberán seguir las directrices del sitio web de la revista para el envío de las contribuciones.

Lineamientos generales para envío de manuscritos

Guía práctica para subir un envío a la plataforma

Las contribuciones deben ir acompañadas de una carta al editor ([Carta de presentación del artículo](#)) en donde explícitamente se describirá la relevancia del trabajo, manifestando que el trabajo no ha sido publicado o está siendo considerado para publicación en otra parte. Así mismo, se hará de manifiesto que la publicación ha sido aprobada por todos los autores y que el manuscrito una vez aceptado no será publicado de la misma forma en otra revista, en inglés, español, o cualquier otra lengua, ni electrónicamente, sin el consentimiento de la revista. Las secciones que integrarán a cada una de las contribuciones se muestran a continuación:

1) Artículos científicos

Se constituirán de los resultados parciales o finales de investigaciones originales fundamentadas en metodologías científicas. Los artículos de investigaciones deben presentar: un análisis detallado de los resultados, así como un desarrollo metodológico original, resaltando los aportes científicos logrados. Estos artículos se conforman de las siguientes secciones:

- a) Título del artículo
- b) Resumen/Abstract
- c) Introducción
- d) Materiales y métodos

Materiales

Métodos

Métodos fisicoquímicos

Métodos biológicos





- Métodos estadísticos
- e) Resultados y discusión
- f) Conclusiones
- g) Agradecimientos
- h) Conflicto de interés
- i) Referencias

En la descripción de la sección de Materiales y métodos y Resultados y discusión, puede redactarse y presentarse en una sola sección o estructurarse con subtítulos para una mejor descripción. Deberá tener una extensión de 18 cuartillas como máximo, incluyendo Resumen y Referencias

2) **Notas científicas**

Es una comunicación corta, sobre resultados novedosos, modificaciones de técnicas o desarrollo de técnicas emergentes innovadoras, informes novedosos de investigaciones en el área de agropecuaria, salud, deportes o ingeniería. Para la presentación de este documento, se incluirán las secciones.

- a) Título del artículo
- b) Resumen/Abstract
- c) Texto
- d) Conclusiones
- e) Agradecimientos
- f) Conflicto de interés
- g) Referencias

El texto de las notas científicas, se presentará en forma corrida, pero en forma clara y con coherencia, que permita su fácil comprensión. Deberá tener una extensión máxima de 9 cuartillas, incluyendo Resumen y Referencias

3) **Artículos de revisión**

Se conformarán, de revisiones críticas actualizadas de un tópico en especial novedoso de las áreas temáticas de la revista. El objetivo de estos artículos, es presentar al lector una perspectiva de un tema en específico, a través de su análisis de la información, discusión y tendencias. La estructura de este artículo se conformará de las secciones:

- a) Título del artículo
- b) Resumen/Abstract
- c) Introducción
- d) Texto
- e) Conclusiones
- f) Agradecimientos
- g) Conflicto de interés
- h) Referencias

El texto deberá ser coherente con el objetivo y podrá redactarse con los subtítulos que sean necesarios, para una mayor comprensión del tema. Deberá tener una extensión máxima de 20 cuartillas, incluyendo Resumen y Referencias.



Plantillas de los artículos

La descripción de las secciones están incluidas en la siguiente sección de esta Guía para Autores, además de en la plantilla para cada tipo de artículo: Artículo de Investigación: [Plantilla de Artículo de Investigación](#); Notas científica: [Plantilla de Notas Científicas](#); Artículo de Revisión: [Plantilla Artículo de Revisión](#). En estas se consideran sus especificaciones, las cuales deben ser acatadas por el autor. Asimismo, en cada una de las plantillas vienen las especificaciones del formato de texto (tamaño y tipo de fuente, márgenes, interlineado, etc.) el cual debe estar a una columna. Todas las páginas deben ser numeradas secuencialmente.

Descripción de los elementos de un artículo

Título

Deberá incluir versiones en español e inglés, ser conciso y explicar la naturaleza del trabajo. Este deberá tener una extensión máxima de 20 palabras. La plantilla incluye la sección de autores, los cuales deberán ser correctamente descritos, incluyendo su afiliación. En caso de existir varios autores, deberá indicarse con un asterisco el autor para la correspondencia, así como la cuenta de correo electrónico del mismo.

Resumen

Éste deberá presentarse en español e inglés, respectivamente. Con la extensión máxima de palabras como se muestra en la plantilla. Este debe de incluir en forma clara el objetivo, descripción breve de la metodología, resultados y discusión relevantes conclusiones y aporte del trabajo. En éste se incluirán cinco palabras claves, en español e inglés, que permitan ligar informáticamente el contenido del artículo.

Introducción

La introducción describe el estado actual del conocimiento sobre el tópico de investigación abordado, su justificación e importancia, así como la inclusión de la hipótesis y el objetivo del trabajo. Esta sección no deberá ser mayor a dos cuartillas.

Materiales y métodos

Materiales

En esta sección se describen los materiales o sustancias empleadas para el desarrollo de la investigación. Especificando las características y fuentes de obtención, condiciones de manejo, almacenamiento y grado de pureza de sustancia o reactivos si ese es el caso. Señalando el nombre de compañías, ciudad y país donde los materiales y sustancias fueron adquiridos.

Métodos

Descripción de técnicas y procedimientos, así como el análisis de datos de los resultados obtenidos. En el caso de metodologías novedosas, estas se describirán detalladamente y cuando sean métodos comunes, se indicará la referencia correspondiente.



Ética de la investigación

Al informar sobre una investigación en la que participen seres humanos, material humano, tejidos humanos, datos humanos (estudios clínicos o pruebas sensoriales), grupos vulnerables y/o animales, favor de seguir las instrucciones de la sección de [Ética y buenas prácticas editoriales de esta revista](#).

Los autores deben declarar en este apartado de «Materiales y métodos» lo siguiente:

1. En investigación con seres humanos debe incluir una declaración ética que especifique lo siguiente:
 - El nombre de la junta de revisión institucional aprobadora o del comité equivalente y el número de autorización.
 - La descripción del consentimiento informado, oral y/o por escrito, de las personas participantes en el estudio.
2. En investigaciones con animales deben incluir una declaración ética obligatoria que especifique lo siguiente:
 - El nombre completo del Comité de Ética pertinente que aprobó el trabajo y el número o números de permiso asociados.
3. Los ensayos clínicos deben citar el registro público en el que se inscribieron.
4. En investigaciones con líneas celulares:
 - Deberá indicarse el origen de las líneas celulares utilizadas.
 - Si la línea es de origen humano, deberá proporcionarse una aprobación del comité de revisión institucional o del comité de ética y confirmarse por escrito el consentimiento informado.

Resultados y discusión

Los resultados y discusión se presentarán en una sola sección. Los resultados podrán presentarse en tablas, figuras, fotografías o datos, los cuales se describirán y se justificarán con base a conocimientos o fundamentos existentes. En esta sección se contrastan los resultados obtenidos con la hipótesis planteada y sus semejanzas o diferencias con resultados de investigaciones previamente realizadas y publicadas. El empleo de tablas y figuras deberá ser en forma complementaria del texto de la sección.

Conclusión

Es una generalización de los resultados obtenidos y representan las aportaciones concretas del estudio. Incluyen magnitudes relativas o absolutas de las respuestas sin argumentación complementaria. Resaltando los aspectos novedosos e importancia de los resultados obtenidos, especificando mejores condiciones o parámetros finales del estudio. Debe mostrar congruencia con el título, resumen y objetivo del trabajo.

Contribuciones de los autores

En los artículos de investigación en los que participen varios autores (7 o más), deberá incluirse un párrafo breve en el que se especifiquen sus contribuciones individuales. Deben utilizarse los siguientes enunciados "Conceptualización, X.X. e Y.Y.; metodología, X.X.; software, X.X.; validación, X.X., Y.Y. y Z.Z.; análisis formal, X.X.; investigación, X.X.; recursos, X.X.; conservación de datos, X.X.; redacción-redacción del borrador original, X.X.; redacción-revisión y edición, X.X.; visualización, X.X.; supervisión, X.X.; administración del proyecto, X.X.; obtención de financiación, Y.Y. Todos los



autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito". Consulte la [taxonomía CRediT](#) para la explicación de los términos. La autoría debe limitarse a quienes hayan contribuido sustancialmente al trabajo comunicado.

Agradecimientos

Esta sección es opcional y tendrá un máximo de cuatro renglones para expresar agradecimientos a personas o instituciones que hayan contribuido a la realización del trabajo.

Conflicto de Interés

Escribir un párrafo señalando la inexistencia de conflicto de intereses, en la publicación de estos resultados.

Declaración de IA generativa y tecnologías asistidas por IA (solo en caso de su uso)

El uso de IA generativa y tecnologías asistidas por IA en la redacción científica debe declararse en esta sección.

Esta declaración no se aplica al uso de herramientas básicas, como las utilizadas para comprobar la gramática, la ortografía y las referencias. Si no tiene nada que declarar, no es necesario que añada ninguna declaración.

Referencias

Las referencias que se incluyan en el texto deberán ser pertinentes, originales y actuales (no más de 10 años); se citarán acorde al formato sistema Harvard, en el cual se incluye el apellido de los autores y año de la publicación entre paréntesis. En el caso de que sean dos autores irán unidos por "y" (Choi y Garza, 2020). Cuando sean más de dos autores, se citará el apellido del primero seguido por "et al.," y el año de publicación (Gu et al., 2019). Si se citan varias referencias, éstas se separarán por punto y coma y en orden cronológico ascendente (Gu et al., 2019; Choi y Garza, 2020). La relación de autores en la sección de referencias será por orden alfabético de acuerdo al formato APA.

IMPORTANTE: Toda vez que la referencia cuente con el registro internacional **DOI** debe incluirlo utilizando el siguiente formato **<http://doi.org/XXXXXX>**. Aun cuando la referencia no cuente con **DOI**, favor de poner el enlace donde puede ser encontrada.

A continuación, se muestran algunos ejemplos:

Artículos de revistas científicas

Braber, N. V., Vergara, L. D., Rossi, Y. E., Aminahuel, C. A., Mauri, A. N., Cavaglieri, L. R., & Montenegro, M. A. (2020). Effect of microencapsulation in whey protein and water-soluble chitosan derivative on the viability of the probiotic *Kluyveromyces marxianus* VM004 during storage and in simulated gastrointestinal conditions. *LWT, Food Science and Technology*, 118, 108844. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108844>



Capítulos de libros

Ho, Y. C., Chua, S. C., & Chong, F. K. (2020). Coagulation-Flocculation Technology in Water and Wastewater Treatment. In Affam, A. C. & Ezechi, E. H. (Eds.). *Handbook of Research on Resource Management for Pollution and Waste Treatment*. (pp. 432-457). IGI Global. <http://dx.doi.org/10.4018/978-1-7998-0369-0.ch018>

Libros

Low, I. M. (Ed.). (2018). *Advances in ceramic matrix composites*. Woodhead Publishing.

Patnaik, A., & Patnaik, S. (Eds.). (2019). *Fibres to Smart Textiles: Advances in Manufacturing, Technologies, and Applications*. CRC Press.

Patentes

Götz, M. R., Holmgren, K., Larsson, N., Fiebich, B., & Wade, W. (2019). *U.S. Patent Application No. 16/478,514*.

Tesis

Ríos, E. A. (2018). *Incidencia y control de tipos patógenos de Escherichia coli (STEC y EPEC) en leche de vaca y quesos derivados en Castilla y León* (Tesis doctoral, Universidad de León). <http://hdl.handle.net/10612/7957>

Boletín

Kirk, M. D., Angulo, F. J., Havelaar, A. H., & Black, R. E. (2017). Diarrhoeal disease in children due to contaminated food. *Bulletin of the World Health Organization*, 95(3), 233. <https://doi.org/10.2471/BLT.16.173229>

Páginas electrónicas

Inegi. (2017). <https://www.inegi.org.mx/temas/agricultura/>

Base de datos

Wishart, D. S., Feunang, Y. D., Marcu, A., Guo, A. C., Liang, K., Vázquez-Fresno, R., ... & Sayeeda, Z. (2017). HMDB 4.0: the human metabolome database for 2018. *Nucleic acids research*, 46(D1), D608-D617. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkx1089>

Citas la abreviación de la revista TECNOCENCIA CHIHUAHUA en los índices internacionales es *Rev. TECNOCENCIA CHIH.*

Tablas, figuras y ecuaciones, las tablas y figuras deben enviarse en un archivo adjunto al manuscrito; de preferencia en un archivo Word. O bien, crear un archivo comprimido (.zip o .rar) que contenga los archivos de tablas y figuras. Adicionalmente, las tablas y figuras del manuscrito, se colocarán dentro del texto principal en el lugar indicado por los autores, con títulos en español e inglés. El título de la figura debe presentarse como Fig. 1. Título de la figura.



Es recomendable que las figuras se preparen con software específico. Tome en cuenta que el tamaño de las figuras se ajustará en el proceso de edición para ajustarse a los márgenes de impresión. Por ello, se recomienda hacer ejes, cuadros, etc., suficientemente grandes para que resulten legibles aún al reducir el tamaño. Las extensiones aceptables para las figuras son JEGP y TIF, considerando las siguientes características de calidad (en puntos por pulgadas):

- 300 ppp para imágenes a escala de grises o color.
- 600 ppp para combinaciones imagen texto.
- 1,200 ppp para imágenes a línea.

Las tablas deben presentar tres bordes horizontales completos (en la fila de encabezados y al final), cualquier otro borde horizontal debe ser parcial, no deben tener bordes verticales y no se aceptarán en forma de imágenes.

Las ecuaciones deben estar escritas con un editor de ecuaciones y deben aparecer en el manuscrito numeradas con el formato de número arábigo. Las ecuaciones insertadas como imágenes no son aceptables.

En el texto del manuscrito, al referirse a una ecuación debe escribirse de la siguiente manera: Ec. (1) o bien Ecs. (1) -(4), al referirse a una figura, seguir la misma regla, por ejemplo: Fig. 1, o bien Figs. (1) -(5) y al referirse a una tabla, por ejemplo: Tabla 1 o bien Tablas (1) -(3).

Figuras y cuadros (versión para producción)

Las figuras y gráficos deben proporcionarse en el texto principal y numerarse consecutivamente con números arábigos y sus subtítulos respectivos deben incluirse dentro del texto principal en el lugar indicado por los autores.

Cuando se incluyan figuras que contengan fotografías o micrografías, asegurarse que sean de alta resolución para que cada foto tenga al menos 300 ppp para imágenes a escala de grises o color. Todas las fotografías deben contener el nombre del autor.

Tablas (versión para producción)

Las tablas deben proporcionarse en el texto principal y como archivo adjunto, y numerarse con números arábigos. Deben estar incrustados en el texto del manuscrito, en el lugar indicado por el autor. Las tablas deben prepararse con Microsoft Word® 2010 o posterior; no deben importarse de Excel® o Powerpoint®, y deben:

- a) Tener un número y un título (en inglés y en español)
- b) Sea auto-explicable
- c) Tener los dígitos significativos con la desviación estándar definidos de acuerdo con el criterio estadístico
- d) Mostrar datos que no se muestran en los gráficos
- e) Tener el formato más simple posible; no está permitido el uso de sombras, color o filas verticales y diagonales



f) Solo tienen letras minúsculas en el superíndice que indiquen notas al pie de tabla (abreviaturas, unidades, diferencias estadísticas, etc.). Un ejemplo de tabla se muestra en los formatos de "[Plantillas de artículos](#)"

Abreviaturas, los nombres científicos se escribirán en cursivas, el género de la especie podrá abreviarse después de que se mencione por primera ocasión en el texto. Las unidades de cualquier dato científico o de laboratorio deberán seguir el sistema internacional de medidas y usar las abreviaturas o símbolos recomendados por las normas internacionales. No deberá usarse punto en las abreviaciones Ej.: kg (NO kg.). Se utilizará espacio entre la cantidad y la unidad o símbolo Ej. 8 cm, 100 %. Las notas a pie de página deberán ser evitadas.

Material adicional, si los autores lo desean, pueden proporcionar material adicional o complementario como soporte al artículo (texto, tablas, figuras o multimedia), el cual estará disponible en la página web de la revista una vez que sea publicado. Si el manuscrito ha sido aceptado, también se le solicitará al autor un resumen gráfico y los puntos relevantes del trabajo. El resumen gráfico debe describir en forma general el contenido del artículo, este resumen debe tener las siguientes características: archivo editable en diapositiva de Powerpoint, NO usar datos, tablas o figuras contenidos en el artículo, contener figuras libres de restricciones de derechos de autor, debe incluir un resumen que incluya de dos a tres enunciados donde se describe los antecedentes, como fue realizado el trabajo y los principales resultados. Los puntos relevantes del trabajo, deberán ser cuatro aspectos alcanzados, presentados en forma de enunciado con un máximo de 80 caracteres con espacios.

Los archivos que el autor deberá preparar para el envío serán:

([Formatos](#))

El texto principal del manuscrito debe presentarse de la siguiente manera:

1) El manuscrito en Word para producción

Este archivo, corresponde a las "[Plantillas de artículos](#)" presentadas en esta guía de autores, cuyas características de formato se muestran a continuación.

- Formato Microsoft Word® 2010 (o posterior)
- 10 puntos Palatino Linotype
- Espaciado especificado en la plantilla
- Texto completo del manuscrito (extensión de acuerdo al tipo de manuscrito)
- Las figuras, cuadros, tablas, ecuaciones y sus respectivos títulos deben estar incorporados en el texto principal en el lugar indicado por los autores.
- Las páginas deben estar numeradas secuencialmente
- La carta de presentación debe presentarse por separado
- La página principal debe incluir los nombres e instituciones de los autores
- El archivo deberá llamarse "**Apellidos autor producción**".doc.



2) En el manuscrito en Word para revisión

Este archivo es una copia del **manuscrito en Word para producción**, pero se editará **sin** los nombres de los autores e Instituciones para enviar este archivo cegado a revisión con los árbitros.

Este archivo deberá ser nombrado **“Apellidos de autor revisión”.doc**: versión para evaluación del revisor. Las características de formato incluyen las siguientes especificaciones:

- Las líneas del texto al igual que las páginas deben estar numeradas secuencialmente
- **No debe incluir** los nombres e instituciones de los autores ni en la página principal del manuscrito, ni en la información del archivo

3) Carta de presentación de artículo o autoría.

La carta de presentación del manuscrito ([Carta de presentación del artículo](#)) debe incluir la relevancia e importancia del trabajo (un breve texto que describa la relevancia del trabajo de investigación o artículo de revisión de manera concisa (con no más de 100 palabras). Además, incluirá la declaratoria de que el documento presentado no ha sido publicado (parcial o totalmente) ni ha sido sometido a arbitraje simultáneamente en otra revista. Haciendo constar que cuenta con la aprobación para su publicación por los autores y coautores.

4) Los archivos de Tablas y Figuras para producción (especificaciones que se describen en la **sección de Tablas, figuras y ecuaciones** en esta guía)

5) Resumen gráfico (características descritas en la **sección de Material adicional** en esta guía)

Después de verificar el estilo de formato (acorde a la plantilla y especificaciones en esta guía de autores) y crear los archivos de acuerdo a las especificaciones presentadas, continúe con el envío en línea.

¿No está registrado? [Regístrese aquí](#)

¿Ya está registrado? [Ingresa aquí](#)

Una vez registrado en la plataforma de la revista, entrar y dar clic en 'Nuevo envío', después seguir las instrucciones y completar cada una de las 5 pestañas del envío.





UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Dirección de
Investigación y Posgrado



TECNOCIENCIA CHIHUAHUA

Revista de ciencia y tecnología

