



**UACH**  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA

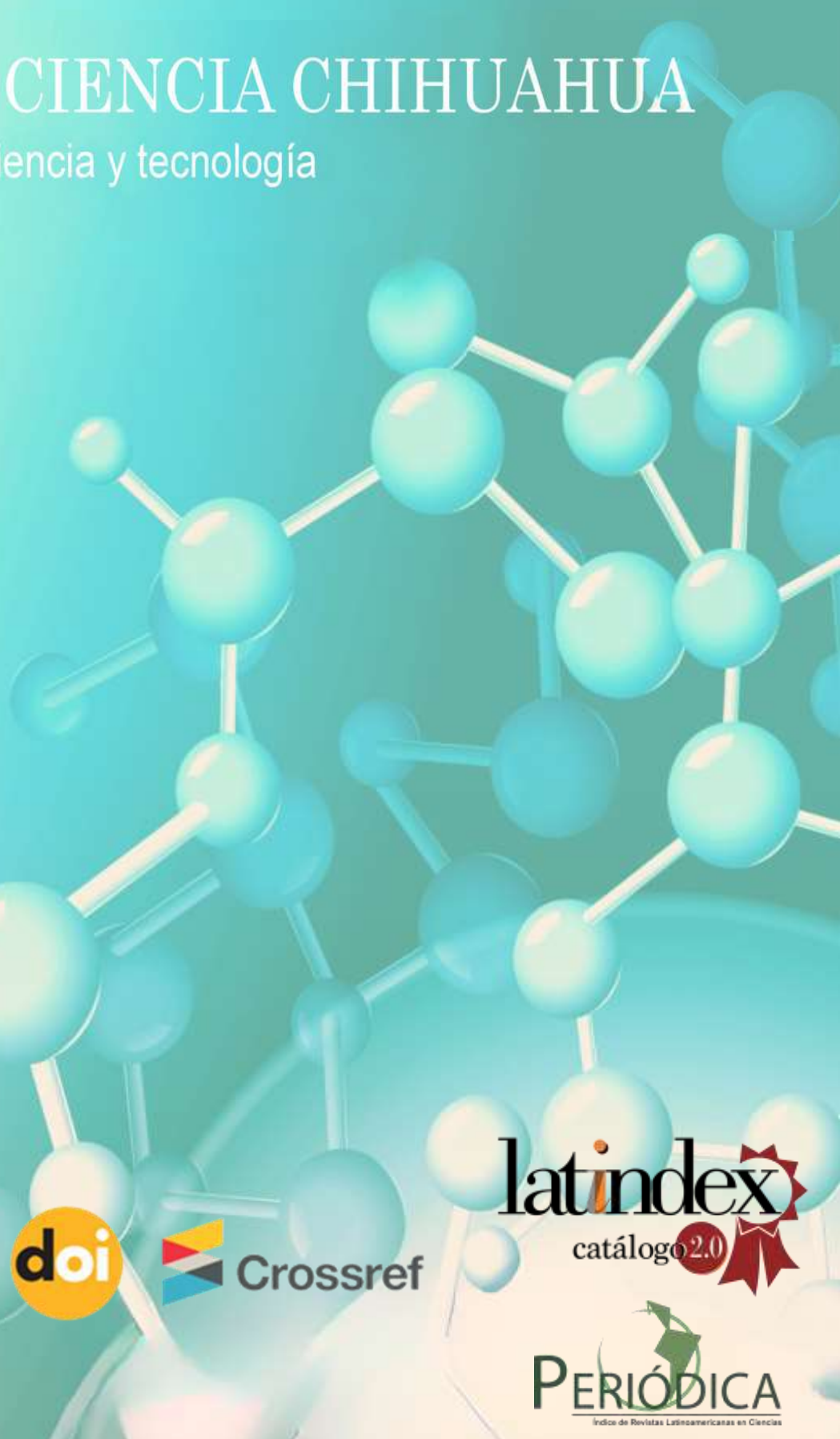
Dirección de  
Investigación y Posgrado

VOLUMEN XVII | NÚMERO 1 | PUBLICACIÓN CONTINUA 2023



# TECNOCIENCIA CHIHUAHUA

Revista de ciencia y tecnología





**UACH**  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA

**Directorio Institucional**

**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*

**M.A.P. Marcela Herrera  
Sandoval**

*Directora de Planeación y  
Desarrollo Institucional*



**TECNOCENCIA 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.

*Co-editores*

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

**Dr. Javier Tarango Ortiz**, Universidad Autónoma de Chihuahua, México. (SNII, Nivel II)

# EQUIPO EDITORIAL

- **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. (SNI, Nivel III).

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

**Dr. José Rafael Minjares-Fuentes**, Universidad Juárez del Estado de Durango, Gómez Palacio, Durango, México. (SNI, 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.

**Efrén Delgado, Ph.D.**, New Mexico State University, Las Cruces, NM. Estados Unidos de Norteamérica.

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

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

**Dr. León Raúl Hernández Ochoa**, Universidad Autónoma de Chihuahua (SNI, Nivel I)

**Dr. José de Jesús Zazueta Morales**, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán México.(SNI, Nivel I)

**Dr. Diego Bautista Genovese**, [PLAPIQUI] Planta Piloto de Ingeniería Química-CONICET, Bahía Blanca Argentina.

**Dra. Aracely Ochoa Martínez**, Instituto Tecnológico de Durango, Durango, México. (SNI, Nivel I)

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

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

**Nancy Flores Ph.D.**, New Mexico State University, Las Cruces, NM Estados Unidos de Norteamérica.



- **Agricultura y Agropecuaria**

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

**Dr. Iván Adrián García Galicia**, Universidad Autónoma de Chihuahua (SNI, Nivel I)

**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 (SNI, Nivel III)

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

**Dr. Concepción Luján Álvarez**, Universidad Autónoma de Chihuahua (SNI, Nivel I)

- **Química y Biología**

**Dr. Eleuterio Burgueño Tapia**, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN. México. (SNI, Nivel II)

**Dra. Luz Estela González de Bashan**, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. (SNI, Nivel II)

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

**Dr. Ricardo Vázquez Juárez**, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. (CIBNOR), México. (SNI, Nivel II)

**Dra. Carmen Oralia Meléndez Pizarro**, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNI, Nivel II)

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

**Dr. René Rojas Guerrero**, Pontificia Universidad Católica de Chile: Santiago, Metropolitana, CL

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

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

## • Salud y Cultura Física

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

**Dra. Carolina Jiménez Lira**, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNI, Nivel I)

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

**Dr. Arnulfo Ramos Jiménez**, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. (SNI, Nivel I)

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

**Dra. América Chávez Martínez**, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNI, Nivel I)

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

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

## • Ingeniería y Recursos Naturales

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

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

**Dr. Jesús Darío Landa Silva**, School of Computer Science, University of Nottingham, Reino Unido.

**Dr. Aldo Jonathan Muñoz Vázquez**, Texas A&M University, College Station, USA

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

**Dra. Mélida Gutierrez**, Missouri State University, Springfield, MO, USA.

**Dra. Alicia Melgoza Castillo**, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNI, Nivel I)

## • Tecnología

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



## CONTENIDO

### Definición de la revista

7

### Alimentos

Características fisicoquímicas y evaluación sensorial de bebidas mixtas  
camote-manzana y camote-piña e1137

Physico-chemical parameters and sensory evaluation of sweet potato-apple and sweet  
potato-pineapple blended beverages

Erika Karina Marmolejo-Basurto, Luz Araceli Ochoa-Martínez, Silvia Marina González-Herrera, José Alberto Gallegos-Infante

Fenólicos totales y capacidad antioxidante de gel de Aloe barbadensis  
Miller pasteurizado y su efecto anti-hiperglucémico en ratas Wistar e1168  
diabéticas

Total phenolics compounds and antioxidant capacity of pasteurized Aloe barbadensis  
Miller gel and its antihyperglycemic effect in diabetic Wistar rats

Víctor Manuel Rodríguez-González, José Rafael Minjares-Fuentes, Juan José Martínez-García, Edgar Héctor Olivas-Calderón,  
Rubén Francisco González-Laredo, Nuria Elizabeth Rocha-Guzmán, José Alberto Gallegos-Infante, Antoni Femenia-Marroig,  
Valeria Soledad Eim-Iznardo, Claudia Ivette Gamboa-Gómez, Rosalía Reynoso-Camacho

### Salud

Riesgos potenciales de lesiones músculo-esqueléticas en la recolección de  
residuos e1093

Risk of musculoskeletal injuries in urban solid waste collection workers

Laura Cristina García-Villa, Diana Laura Hernández-Torres, María Teresa Gutiérrez-Escajeda

## **Química y Recursos Naturales**

Geles covalentes de arabinosilanos ferulados inducidos con lacasa o peroxidasa: estructuras de entrecruzamiento, características reológicas y actividad antioxidante e1099

Covalent gels of ferulated arabinosylans induced with laccase or peroxidase: cross-linking structures, rheological characteristics and antioxidant activity

Nedie S. Chávez-Gutiérrez, Karla Guadalupe Martínez-Robinson, Rafael Canett-Romero, María Dolores Figueroa-Pizano, Alma C. Campa-Mada, Yubia Berenice De Anda-Flores, Jorge A. Márquez-Escalante, Agustín Rascón-Chu, Elizabeth Carvajal-Millán

Recent developments on wall materials for the microencapsulation of probiotics: A review e1140

Desarrollos recientes en materiales de pared para la microencapsulación de probióticos: Una revisión

José Gabriel Montoya Soto, Rubén Francisco González Laredo, Luis Medina Torres, Olga Miriam Rutiaga Quiñones, José Alberto Gallegos Infante, Luz Araceli Ochoa-Martínez

Aplicación en campo de la biorremediación mejorada a cortes de perforación contaminados con diésel e1146

Field application of enhanced bioremediation to drilling cuttings contaminated with diesel

Yuletsis Díaz-Rodríguez, Roberto Romero-Silva, Danai Hernández-Hernández, Claudia Chao-Reyes, Carlos C. Cañete-Pérez, Silvia Acosta-Díaz

## DEFINICIÓN DE LA REVISTA

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

El objetivo de TECNOCIENCIA 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 dos árbitros especializados en la materia.

La revista TECNOCIENCIA 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 índices y portales especializados como DOAJ (Directory of Open Access Journals), Latindex 2.0, Periódica 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.



Artículo Científico

# Características fisicoquímicas y evaluación sensorial de bebidas mixtas camote-manzana y camote-piña

Physico-chemical parameters and sensory evaluation of sweet potato-apple and sweet potato-pineapple blended beverages

Erika Karina del Patrocinio Marmolejo-Basurto<sup>1</sup>, Luz Araceli Ochoa-Martínez<sup>1\*</sup>

Silvia Marina González-Herrera<sup>1</sup> y José Alberto Gallegos-Infante<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tecnológico Nacional de México/ IT de Durango, División de Estudios de Posgrado e Investigación. Durango, México.

\*Correspondencia: [aochoa@itdurango.edu.mx](mailto:aochoa@itdurango.edu.mx) (Luz Araceli Ochoa-Martínez)

DOI:

Recibido: 11 de enero de 2023; Aceptado: 08 de mayo de 2023

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

## Resumen

El camote de pulpa naranja (*Ipomoea batatas* L.) es rico en carotenoides, almidón y minerales. Sin embargo, existen opciones limitadas para su consumo, por lo que es importante ofrecer alternativas de nuevos productos. Una opción es el jugo de camote, pero, su sabor es insípido. Una alternativa para promover e incentivar su consumo es adicionar otros jugos como el de piña (*Ananas comosus* L.) y manzana (*Malus domestica* L.) que son ampliamente consumidos debido a su agradable sabor. El objetivo del presente trabajo fue evaluar las características fisicoquímicas y sensoriales de dos bebidas mixtas pasteurizadas, preparadas en proporciones 75:25 camote-piña, y 75:25 camote-manzana. A las bebidas se les evaluó pH, acidez titulable, sólidos solubles totales, índice de oscurecimiento, turbidez, color y actividad enzimática. Se determinó crecimiento de hongos y levaduras, cuenta total de mesófilos y coliformes totales. Igualmente se llevó a cabo un estudio de aceptabilidad sensorial. Las bebidas mixtas mostraron valores de pH ácidos en un rango 4.83-5.29, y valores de oscurecimiento de 0.43-0.53. Los análisis microbiológicos no presentaron crecimiento de microorganismos. El tratamiento térmico aplicado logró la inactivación de la enzima pectinmetilesterasa. Los resultados de la evaluación sensorial mostraron una alta aceptabilidad en ambas bebidas mixtas.

**Palabras clave:** camote, tratamiento térmico, piña, manzana, bebida mixta.

## Abstract

Orange-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) is rich in carotenoids, starch, and minerals. However, there are limited options for consumption, so it is important to offer alternatives for new products. One option is sweet potato juice. Nonetheless, its taste is unpleasant. An alternative to

promote and encourage its consumption is to add other juices, such as pineapple (*Ananas comosus* L.) and apple (*Malus domestica* L.) juices, which are widely consumed due to their pleasant flavor. This work aimed to evaluate the physicochemical and sensory characteristics of two mixed drinks, prepared in proportions 75:25 sweet potato-pineapple and 75:25 sweet potato-apple. Beverages were evaluated for pH, titratable acidity, total soluble solids, browning index, turbidity, color, and enzymatic activity. In addition, the growth of fungi and yeasts and the total count of mesophilic and total coliforms were determined. A sensory acceptability study was also carried out. The mixed drinks showed acidic pH values of 4.83 to 5.29 and browning values of 0.43 to 0.53. The microbiological analyzes did not show growth of microorganisms. The thermal treatment applied achieved the inactivation of the enzyme pectinmethylesterase. The results of the sensory evaluation showed high acceptability in both mixed drinks.

**Keywords:** sweet potato, thermal treatment, pineapple, apple, blended beverage.

## 1. Introducción

Las frutas y vegetales se encuentran entre los alimentos más importantes, su consumo regular ayuda a mantener la salud, los efectos beneficiosos se atribuyen a la ingesta de compuestos bioactivos. Con el fin de satisfacer las demandas de los consumidores, la industria alimentaria se ha centrado en la producción de una gran cantidad de productos derivados de frutas, como jugos y bebidas mixtas (Morales-de La Peña *et al.*, 2011). Las bebidas mixtas se obtienen de la mezcla de dos o más jugos de frutas o vegetales, seleccionados adecuadamente y combinados en proporciones variables, las mezclas se realizan con el objetivo de que el consumo de frutas o vegetales exóticos y de estación sea accesible y disponible durante todo el año, además la mezcla es una alternativa para el uso de alimentos vegetales poco consumidos que generalmente son descartados por su fuerte sabor, alta acidez, astringencia o amargor (Jayachandran *et al.*, 2015).

Un alimento vegetal poco consumido es el camote, el cual es uno de los cultivos alimentarios más importantes del mundo, sus variedades difieren en el color de la piel y la pulpa. Específicamente el color en el camote de pulpa naranja se debe a la presencia de compuestos carotenoides, los cuales se consideran potentes antioxidantes, debido a su actividad provitamina A y ser captadores de radicales libres (Morales de la Peña *et al.*, 2011). El camote es rico en compuestos fenólicos y carotenoides, los cuales permiten aceptar electrones y evitar la oxidación porque tiene dobles enlaces conjugados en su estructura molecular (Mélendez-Martínez, 2004).

El jugo de camote tiene un consumo limitado debido a su sabor insípido, por lo que es importante aprovechar sus beneficios para la salud mediante el desarrollo de una bebida mixta. Los jugos derivados de frutas son populares alrededor del mundo, el jugo de piña es uno de los más consumidos entre la población, se caracteriza por su agradable aroma y sabor, además es importante por su composición y valor nutricional. Por otra parte, la piña contiene ácido ascórbico que ayuda a combatir infecciones, también ejerce actividad antioxidante y ayuda a la absorción de hierro y reduce el riesgo de ciertos tipos de cáncer, como el de colon, esófago y estómago (Hassen *et al.*, 2020).

Otro jugo con gran aceptación y ampliamente consumido es el de manzana, se trata de una de las frutas más consumidas en el mundo por su agradable sabor, alto valor nutricional y precio, además

es fuente importante de carbohidratos, fibra dietética, vitamina C y contiene gran variedad de componentes bioactivos que ejercen efectos benéficos en la salud (Vallée Marcotte *et al.*, 2022).

El mercado de jugos ha tenido un enorme crecimiento en los últimos años, en 2017 se consumieron en todo el mundo 36,200 millones de litros de jugos de frutas y néctares, destacando entre éstos los jugos combinados, que se han vuelto muy populares debido a sus nutrientes, sabores y variedades únicos (Kahraman y Feng 2020). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue formular y desarrollar bebidas mixtas, utilizando jugo de camote de pulpa naranja en combinación con jugo de manzana y de piña.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1 Elaboración de bebidas mixtas camote-manzana y camote-piña

La materia prima, camote de pulpa naranja (*Ipomoea batatas* L.), piña gota miel (*Ananas comosus* L.) y manzana red delicious (*Malus domestica* L.) se obtuvo de un supermercado en la ciudad de Durango, Dgo., México. Fue sometida a un proceso de lavado, desinfectado, pelado y reducción de tamaño. La pulpa del camote se sometió a un pretratamiento en ultrasonido de baño (45 KHz) por 30 min (BRANSON, model 5510R-MT, USA), esto con la finalidad de incrementar el grado de extracción de compuestos carotenoides desde la fase sólida (camote) hacia la fase líquida (jugo de camote). Con el objetivo de inhibir el oscurecimiento enzimático provocado por la enzima polifenoloxidasas, la manzana se sometió a un proceso de escaldado (95 °C/ 2 min) en una solución de ácido cítrico (0.5 % p/v). Los jugos de todas las variedades fueron extraídos utilizando un extractor (TURMIX® D.F. México, uso rudo).

A través de pruebas sensoriales preliminares y a un mayor contenido de carotenoides en diversas proporciones probadas, se estableció la proporción 75:25 jugo de camote: jugo de piña y 75:25 jugo de camote: jugo de manzana como la más adecuada para llevar a cabo el presente estudio, y de esta manera aprovechar la presencia de compuestos carotenoides con potencial funcional del jugo de camote. 100 mL de las bebidas mixtas se colocaron en frascos de vidrio con capacidad de 200 mL y se sometieron a un proceso térmico de 95 °C durante dos minutos. Se almacenaron en refrigeración para su análisis correspondiente.

### 2.2 Análisis fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos en las bebidas mixtas se determinaron de acuerdo con los métodos oficiales de la AOAC (2005), pH (Método 981.12), acidez titulable (Método 942.15) y sólidos solubles totales (SST) (Método 932.12 AOAC). El índice de oscurecimiento (IO) se determinó por el método espectrofotométrico de acuerdo con lo descrito por Zhang *et al.*, (2016) con algunas modificaciones, las muestras fueron centrifugadas a 10,000 xg durante 10 minutos en una centrífuga (Corning LSE Centrífuga V51, Germany), el sobrenadante se recogió y se filtró, y el oscurecimiento se determinó midiendo la absorbancia a 420 nm en un espectrofotómetro (Hach, modelo DR 5000, USA) a temperatura ambiente (25 °C). La medición de turbidez se determinó de acuerdo el método descrito por Wrolstad (1976), los valores fueron determinados usando un espectrofotómetro previamente calibrado con agua destilada y la turbidez se midió a 700 nm. El color de las bebidas se

midió usando un colorímetro Hunter Lab Color Flex EZ 45/0 (Hunter Associates Laboratory Inc., Virginia, USA), el color se expresó en la escala CIELAB como L\*, a\* y b\* a temperatura ambiente (25 °C). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

### **2.3 Análisis microbiológicos**

Los ensayos microbiológicos se realizaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994 para bacterias aerobias mesófilas por el método de vaciado en placa, y por la Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994 para hongos y levaduras por el método de extensión en superficie. Los análisis microbiológicos se expresaron como unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL).

### **2.4 Evaluación de la actividad enzimática**

La actividad enzimática de la pectinmetilesterasa en ambas bebidas fue determinada de acuerdo al método descrito por González-Monrroy *et al.*, (2018) por el método de titulación potenciométrica, 5 mL de las bebidas se adicionaron a 50 mL de solución de pectina con agitación constante a pH 7.0 a una temperatura promedio de 30 °C, y los valores de la actividad enzimática se calcularon obteniendo la pendiente de la línea con el volumen acumulado de NaOH (mL) y el rango de tiempo de reacción (cada 5 min, durante 20 min).

### **2.5 Evaluación sensorial**

Las bebidas mixtas camote-manzana y camote-piña fueron evaluadas por un panel de 15 jueces entrenados. Para establecer la tendencia en la aceptabilidad general se empleó el método de grupos dirigidos de acuerdo a Lim (2011), utilizando una escala hedónica de 9 puntos donde 1 significa “me disgusta extremadamente” y 9 “me gusta extremadamente”. También se evaluó la intensidad de los atributos de sabor a camote, sabor a manzana o piña, dulzura y grumosidad en cada una de las bebidas por medio de una escala categorizada de intensidad.

### **2.6 Diseño experimental y análisis de datos**

Se utilizó un diseño experimental unifactorial de dos niveles. El factor de estudio fue el tipo de bebida y sus niveles: camote, camote-piña y camote-manzana. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  desviación estándar de al menos tres determinaciones. Para cada evaluación, se realizó un análisis de varianza y una prueba de Dunnett. El análisis de resultados se desarrolló utilizando el software IBM SPSS Statistics versión 19.

### 3. Resultados y discusión

Los atributos fisicoquímicos más importantes en jugos incluyen los de sólidos solubles totales, pH, acidez titulable, oscurecimiento, turbidez y color. Los resultados de estos parámetros analizados en este estudio se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Características fisicoquímicas de bebidas mixtas de camote-manzana y camote-piña, y jugo de camote  
**Table 1.** Physicochemical characteristics of sweet potato-apple and sweet potato pineapple blended beverages, and sweet potato juice

Parámetro	Bebida camote- manzana	Bebida camote-piña	Jugo de camote
SST (°Brix)	13.1 ± 0.06 <sup>a</sup>	13.1 ± 0.10 <sup>a</sup>	13.0 ± 0.00 <sup>a</sup>
pH	5.29 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.83 ± 0.01 <sup>b</sup>	5.97 ± 0.01 <sup>a</sup>
Acidez titulable (% ácido cítrico)	0.05 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.08 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.08 ± 0.00 <sup>a</sup>
Índice de oscurecimiento	0.53 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.61 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.39 ± 0.00 <sup>b</sup>
Turbidez	3.16 ± 0.00 <sup>a</sup>	3.13 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.13 ± 0.01 <sup>b</sup>
Color			
L*	46.12 ± 0.15 <sup>b</sup>	48.94 ± 0.08 <sup>a</sup>	46.92 ± 0.35 <sup>b</sup>
a*	23.68 ± 0.14 <sup>b</sup>	27.91 ± 0.15 <sup>a</sup>	21.1 ± 0.28 <sup>c</sup>
b*	33.62 ± 0.44 <sup>b</sup>	40.84 ± 0.25 <sup>a</sup>	35.3 ± 0.52 <sup>b</sup>

Valores con letra diferente en la misma fila representan diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). Valores promedio ± desviación estándar.  
 SST = Sólidos solubles totales

#### 3.1 Sólidos solubles totales

El contenido de sólidos solubles totales (SST) es un parámetro de calidad importante debido a que se relaciona de manera directa con el sabor en productos que contienen azúcar, de tal manera que el aporte de azúcares simples de cada uno de los jugos en una mezcla, contribuye a su palatabilidad final (González-Herrera *et al.*, 2016). En este estudio ambas bebidas (camote-piña, camote-manzana) presentaron el mismo contenido de SST (13.1 °Bx), este valor se encuentra dentro del rango reportado por Ríos-Romero *et al.*, (2018, 2021) para jugo de camote (10.8 °Bx y 15.8 °Bx respectivamente).

Algunos autores han reportado un incremento en el contenido de SST en bebidas mixtas. Akusu *et al.*, (2016) observaron un aumento de SST en bebidas mixtas naranja-piña, el mismo comportamiento

fue reportado en bebidas pera-manzana (Raj *et al.*, 2011). Sin embargo, en este estudio se observó que la adición de jugo de piña y jugo de manzana no tuvo un efecto significativo en el contenido de SST, esto debido probablemente a la proporción de las mezclas utilizadas en la elaboración de las bebidas mixtas. Generalmente, el valor de sólidos solubles totales en un jugo se ve afectado por el genotipo, las regiones de crecimiento y el índice de madurez de las frutas (Maate *et al.*, 2015).

### 3.2 pH

El pH es un factor importante que influye en la acidez de las bebidas, cuando el pH es relativamente bajo confiere características de frescura al producto (Oliveira *et al.*, 2016). Las bebidas mixtas camote-piña y camote-manzana mostraron valores de pH ácidos. La adición de jugo de manzana y jugo de piña logró una disminución significativa del valor de pH de jugo de camote (5.97), siendo más ácida la bebida camote-piña en comparación con la bebida camote-manzana. Esta tendencia se atribuye principalmente al tipo de jugo empleado en la elaboración de la bebida mixta, el jugo de piña es más ácido con respecto al jugo de manzana. Lograr la disminución del pH en las bebidas mixtas que contienen jugo de camote naranja fue importante, debido a que la reducción del pH ejerce un efecto sobre el sabor de la bebida y mejora la calidad de conservación de las bebidas (Muhammad *et al.*, 2012).

### 3.3 Acidez titulable

El valor de acidez titulable mide la cantidad de ácidos orgánicos presentes en jugos, el cual es referido al contenido de ácido cítrico (Jayachandran *et al.*, 2015). Ríos-Romero *et al.*, (2018) reportaron valores de acidez titulable de 0.09-0.1 % en jugo de camote naranja; no obstante, las bebidas mixtas reportaron valores de acidez inferiores. Esta diferencia pudiera estar relacionada al estado de maduración en el que se encontraban el camote, la piña y la manzana empleadas en la elaboración de las bebidas mixtas. La bebida camote-manzana presentó un valor de pH mayor comparado con el pH de la bebida camote-piña, por lo tanto, el valor de acidez es menor en la bebida camote-manzana que en la bebida camote-piña. Generalmente, la acidez y el pH son inversamente proporcionales entre sí (Hassen *et al.*, 2020).

### 3.4 Índice de oscurecimiento

El color en los alimentos es un parámetro de calidad importante ya que influye de manera directa en la apariencia visual del producto y por consiguiente en su aceptabilidad a primera vista (Rodríguez-Mena *et al.*, 2022). En jugos provenientes de la mayoría de las frutas y/o vegetales el cambio de color debido al oscurecimiento se asocia principalmente a dos vías, enzimática y no enzimática. El oscurecimiento no enzimático se atribuye a la degradación del ácido ascórbico, a la degradación de pigmentos y a la reacción de Maillard (Paravisini y Peterson 2019).

En general, ambas bebidas mostraron valores de oscurecimiento altos (0.53 y 0.61, camote-manzana y camote-piña, respectivamente) en comparación con el jugo de camote (0.39) y con respecto a lo reportado por Raj *et al.*, (2011) en bebidas mixtas pasteurizadas de pera-manzana, cuyo valor de oscurecimiento osciló en un rango de 0.30 a 0.36. Los altos valores en índice de oscurecimiento

encontrados en este trabajo podrían estar relacionados a la reacción de Maillard y degradación de pigmentos, causado por el tratamiento de ultrasonido. La bebida camote-piña presentó un valor de oscurecimiento mayor al de la bebida camote-manzana, esto pudo deberse a la diferencia en composición de ácido cítrico y su degradación durante el procesamiento (Cuastumal Canacuan *et al.*, 2016).

### 3.5 Turbidez

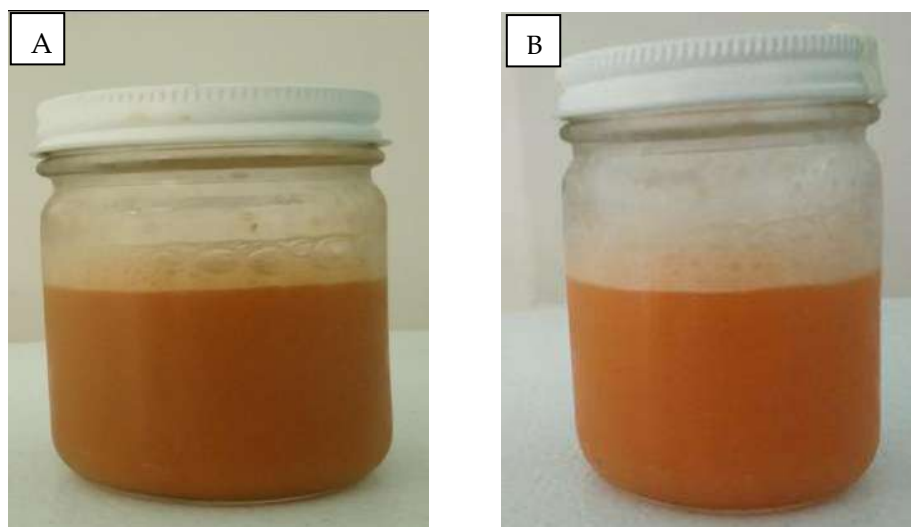
La turbidez de un jugo es consecuencia de la presencia de materiales insolubles, estos pueden provenir de componentes de la estructura de la pared celular tal como las pectinas, y de la presencia de partículas de la planta (Chen *et al.*, 2018). Debido a lo anterior, generalmente es necesario llevar a cabo un proceso de clarificación y filtración (Oziyci, *et al.* 2013). En esta investigación ambas bebidas presentaron valores de turbidez altos ( $\approx 3$ ) en comparación con los obtenidos para jugo de fresa por Chen *et al.*, (2018), quienes obtuvieron un valor de 0.7, y al ser tratadas las muestras mediante ultrasonido de alta potencia, ese valor disminuyó a 0.5.

Por otro lado, Kahraman y Feng (2020), reportaron valores similares a los encontrados en este trabajo, para una mezcla de jugos de manzana-zanahoria tratados mediante manotermosonicación y alta temperatura corto tiempo (HTST). Es importante tomar en cuenta las características y composición de la materia prima para la elaboración de jugos, lo cual definitivamente afecta su calidad final. En este trabajo, los jugos no fueron sometidos a un proceso de clarificación ni filtración, lo cual pudo ser el motivo del alto valor de turbidez.

### 3.6 Color

El color es un parámetro que influye en el comportamiento de compra de los consumidores, debido a que es uno de los criterios fundamentales que percibe un consumidor como un modo de indicador de calidad (Araujo Diaz *et al.*, 2012). El jugo de camote de pulpa naranja es un producto que se caracteriza por su color naranja, lo cual se debe a la presencia de pigmentos carotenoides (Ríos-Romero *et al.*, 2021). Al comparar los resultados de color de las mezclas de jugo de camote con jugo de piña o jugo de manzana, de manera general se observó diferencia significativa en los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ .

La bebida camote-piña presentó un valor de  $L^*$  mayor al de la bebida camote-manzana y al jugo de camote, es decir, la bebida con piña tiende a ser más luminosa, mientras que en la bebida camote-manzana se presume que la adición de jugo de manzana provocó una disminución del parámetro  $L^*$  ya que en comparación con el jugo de camote solo, la bebida mixta camote-manzana se tornó más oscura, aunque sin diferencia significativa. En este estudio ambas bebidas mostraron valores del parámetro  $a^*$  con tendencia al rojo, mientras que, para el parámetro  $b^*$ , las bebidas mostraron valores con tendencia al amarillo. La adición de jugo de manzana y piña para elaborar las bebidas mixtas provocaron variaciones significativas en el color en comparación con el jugo de camote solo, esto pudo deberse a la diferencia en presencia y cantidad de pigmentos, los cuales son responsables del color en frutas, algunos autores han descrito la dificultad para controlar las variaciones en el color en bebidas (González-Monrroy *et al.*, 2018). En la Fig. 1 se presenta una imagen de las bebidas mixtas obtenidas en la presente investigación.



**Figura 1.** Fotografías de la bebida mixta camote- manzana (A) y de la bebida mixta camote-piña (B)  
**Figure 1.** Photographs of sweet potato-apple mixed beverage (A) and sweet potato-pineapple mixed beverage (B)

### 3.7 Evaluación microbiológica

Las bebidas mixtas no mostraron signos de proliferación microbiana, el tratamiento de pasteurización empleado de 95 °C durante dos minutos, logró la inactivación completa de mesofílicos aerobios, mohos y levaduras. Cuentas de coliformes totales no fueron detectadas. La exposición de alimentos a altas temperaturas provoca un aumento continuo en la permeabilidad de la membrana que causa la muerte celular (Petruzzi *et al.*, 2017).

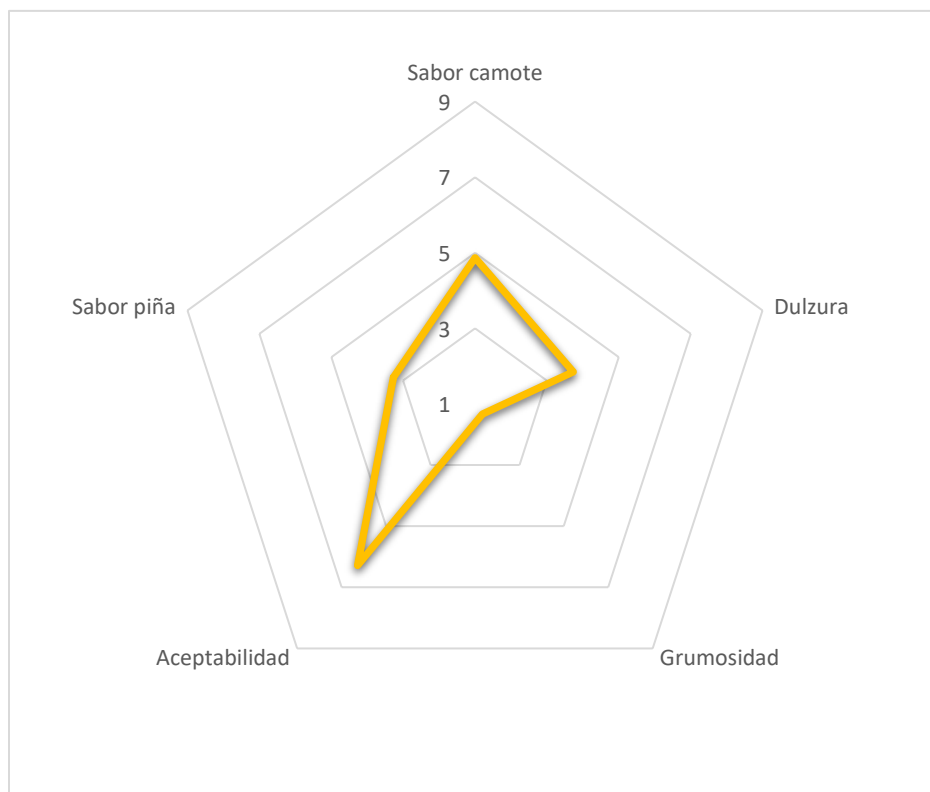
### 3.8 Determinación de actividad enzimática

La enzima pectinmetilesterasa causa la formación de dos fases en jugos, una fase clara en la parte superior y otra turbia en la parte inferior, provocando un aspecto visible indeseado, afectando de manera directa el atractivo del producto (Pinchao *et al.*, 2014). En este trabajo no se detectó la actividad de la enzima pectinmetilesterasa en las bebidas mixtas formuladas, la temperatura de pasteurización empleada para la conservación de las bebidas logró la inactivación completa de la enzima. Un comportamiento similar fue reportado por González-Monrroy *et al.*, (2018) quienes encontraron la inactivación completa de la enzima pectinmetilesterasa en una bebida mixta verde pasteurizada por microondas. La inactivación térmica de pectinmetilesterasa inicia por encima de 40 °C como resultado de la ruptura de enlaces de hidrógeno, el despliegue de la estructura de la proteína terciaria y la desaminación térmica de aminoácidos (Aghajanzadeh y Ziaifar 2018).



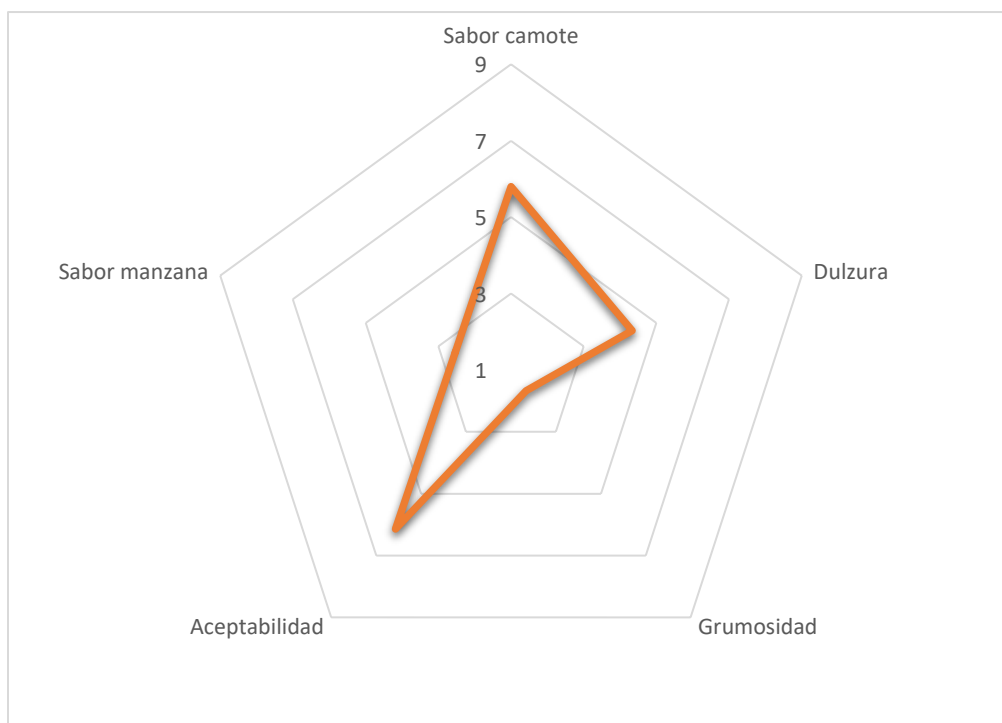
### 3.9 Evaluación sensorial

Generalmente, el jugo de camote de pulpa naranja no tiene aceptabilidad por parte de los consumidores debido a su sabor insípido, empero, es un jugo que se caracteriza por tener un agradable color naranja. En este trabajo, las bebidas mixtas formuladas camote-manzana y camote-piña tuvieron alta aceptación por parte de los panelistas. Las Figuras 2 y 3 muestran que los valores de aceptabilidad se encontraron por arriba de la media, es decir, por encima del valor de 4.5 en la escala de 9. El 86 % de los panelistas indicaron que la bebida camote-piña les gustó de moderada a extremadamente, mientras que, el 71 % de los panelistas externaron su gusto de moderado a extremo para la bebida camote-manzana.



**Figura 2.** Intensidad de atributos y aceptabilidad general de la bebida camote-piña.

**Figure 2.** Intensity of attributes and overall acceptability of sweet potato-pineapple beverage.



**Figura 3.** Intensidad de atributos y aceptabilidad general de la bebida camote-manzana.  
**Figure 3.** Intensity of attributes and overall acceptability of sweet potato-apple beverage.

Referente a los sabores, el 28 % de los panelistas percibieron fuertemente el sabor piña, mientras que en la bebida camote-manzana, solo el 7 % de los panelistas lograron percibir con mayor intensidad el sabor manzana. A pesar de ello, la adición de estos jugos logró incrementar la palatabilidad del jugo de camote influyendo de manera directa en la aceptabilidad de las bebidas. En las dos bebidas mixtas se percibió fuertemente el sabor de camote, siendo mayormente percibido en la bebida camote-manzana; y con menor intensidad en la bebida camote-piña, sin embargo, esta tendencia no afectó la aceptabilidad general de las bebidas.

Los panelistas percibieron el atributo de dulzura en ambas formulaciones, el 64 % de los panelistas percibió el atributo dulzura como adecuado para la bebida camote-manzana y en la bebida camote-piña el 78 % de los panelistas percibieron adecuado el dulzor en la bebida. El hecho de que los panelistas hayan percibido el atributo de dulzura fue importante debido a que las bebidas mixtas no contenían en su formulación ningún tipo de endulzante que pudiera contribuir a su percepción.

El jugo de camote es un producto que se percibe poco dulce, la combinación con los otros jugos permitió que este atributo fuera detectado, mejorando así su aceptabilidad. Respecto al atributo de grumosidad, fue poco percibido por los panelistas, en ambas formulaciones el 100 % expresó haber detectado con poca intensidad el atributo de grumosidad en las bebidas mixtas.

## 4. Conclusiones

En esta investigación se ha demostrado que el jugo de camote de pulpa naranja mezclado con jugos como el de piña o el de manzana, permitió obtener bebidas con un impacto positivo en el sabor ya que fueron sensorialmente aceptadas por los panelistas. Adicionalmente, resultaron bebidas microbiológicamente seguras y con características fisicoquímicas dentro de los rangos establecidos para este tipo de productos. De esta manera se podría aprovechar un posible efecto funcional relacionado con el consumo de jugo de camote de pulpa naranja.

## Agradecimientos

La autora Marmolejo-Basurto agradece la beca otorgada (713006) por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología para la realización de estudios en el Programa de Maestría en Ciencias y Tecnología de Alimentos Funcionales en el Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Durango.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## 5. Referencias

- Aghajanzadeh, S. & Ziaifar, A. M. (2018). A review of pectin methylesterase inactivation in citrus juice during pasteurization. *Trends in Food Science & Technology* 71: 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.013>
- Akusu, O. M., Kiin-Kabari, D. B. & Eberc, C. O. (2016). Quality characteristics of orange/pineapple fruit juice blends. *American Journal of Food Science and Technology* 4(2): 43-47. <http://pubs.sciepub.com/ajfst/4/2/3/>
- Araujo Diaz, N.D., Borges Lara, S., Soares Miranda, L., Cazelli Pires, I.S., Veira Pirez, C. & Halboth, N. (2012). Influence of color on acceptance and identification of flavor of foods by adults. *Food Science and Technology (Campinas)*, 32(2), 296-301. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612012005000059>
- AOAC (2005). Association Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytic Chemist. Vol. 1. 18th Edition. Washington DC, USA.
- Chen, L., Bi, X., Cao, X., Liu, L. & Che, Z. (2018). Effects of high-power ultrasound on microflora, enzymes and some quality attributes of a strawberry drinks. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98(14): 5378-5385. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9079>
- Cuastamal Canacuan, H.G., Valencia Murillo, B. L. & Ordoñez Santos, L.E. (2016). Efectos de los tratamientos térmicos en la concentración de vitamina C y color superficial en tres frutas tropicales. *Revista Lasallista de Investigación* 13(1):85-93. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1794-44492016000100008&script=sci\\_abstract&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1794-44492016000100008&script=sci_abstract&tlng=es)
- González-Herrera, S.M., Rutiaga-Quiñones, O.M., Aguilar, C.N., Ochoa-Martínez, L.A., Contreras-Esquivel, J.C., López, G.M. & Rodríguez-Herrera R. (2016). Dehydrated apple matrix

- supplemented with agave fructans, inulin, and oligofructose. *LWT-Food Science and Technology* 65: 1059-1065. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.037>
- González-Monroy, A. D., Rodríguez-Hernández, G., Ozuna, C. & Sosa-Morales, M. E. (2018). Microwave-assisted pasteurization of beverages (tamarind and green) and their quality during refrigerated storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 49: 51-57. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.07.016>
- Hassen, Y., Tamiru, D. & Haftu, B. (2020). Effect of blending ratio of pineapple on sensory and physicochemical property of mango juice. *Journal of Bioprocessing and Biotechniques* 10(1): 1-3. <https://www.hilarispublisher.com/archive/jbpbt-volume-10-issue-1-year-2020.html>
- Jayachandran, L. E., Chakraborty, S. & Rao, P. S. (2015). Effect of high pressure processing on physicochemical properties and bioactive compounds in litchi based mixed fruit beverage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 28: 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.01.002>
- Kahraman, O. & Feng, H. (2021). Continuous-flow manothermosonication treatment of apple-carrot juice blend: Effects on juice quality during storage. *LWT* 137: 110360. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110360>
- Lim, J. (2011). Hedonic scaling: A review of methods and theory. *Food Quality and Preference* 22(8): 733-747. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2011.05.008>
- Norma Oficial Mexicana (1994). NOM-111-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Métodos para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México. [https://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4881226&fecha=13/09/1995#gsc.tab=0](https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4881226&fecha=13/09/1995#gsc.tab=0)
- Norma Oficial Mexicana (1994). NOM-092-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Diario Oficial de la Federación, Ciudad de México. [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4886029&fecha=12/12/1995#gsc.tab=0](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4886029&fecha=12/12/1995#gsc.tab=0)
- Meléndez-Martínez, A.J., Vicario, I.M. & Heredia, F.J. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 54(2): 209-215. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222004000200011](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000200011)
- Morales-de La Peña, M., Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, M. A. & Martín-Belloso, O. (2011). Changes on phenolic and carotenoid composition of high intensity pulsed electric field and thermally treated fruit juice–soymilk beverages during refrigerated storage. *Food Chemistry* 129(3): 982-990. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.058>
- Muhammad, L., Aminah, Y. & Abbas, K. (2014). Development of orange fleshed sweet potato (OFSP) based juice drink to help reduce on vitamin A deficiency. *International Journal of Science and Research* 3(7): 283-289. <https://www.ijsr.net/getabstract.php?paperid=20141034>
- Oliveira, É. R., Caliarí, M., Soares Júnior, M. S. & Vilas Boas, E. V. D. B. (2016). Bioactive composition and sensory evaluation of blended jambolan (*Syzygium cumini*) and sugarcane alcoholic fermented beverages. *Journal of the Institute of Brewing* 122(4): 719-728. <https://doi.org/10.1002/jib.370>
- Oziyci, H.R., Karhan, M., Tetik, N. & Turhan, I. (2013). Effects of processing method and storage temperature on clear pomegranate juice turbidity and color. *Journal of Food Processing and Preservation* 37(5): 899-906. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2012.00723.x>
- Paravisini, L. & Peterson, D. G. (2019). Mechanisms non-enzymatic browning in orange juice during storage. *Food chemistry* 289: 320-327. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.049>
- Petruzzi, L., Campaniello, D., Speranza, B., Corbo, M. R., Sinigaglia, M. & Bevilacqua, A. (2017). Thermal treatments for fruit and vegetable juices and beverages: A literature overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16(4): 668-691. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12270>

- Pinchao, Y. A., Osorio, O. & Mejía, D. (2014). Inactivación térmica de pectinmetilesterasa en jugo de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Información tecnológica*, 25(5), 55-64. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7376929>
- Raj, D., Sharma, P. C. & Vaidya, D. (2011). Effect of blending and storage on quality characteristics of blended sand pear-apple juice beverage. *Journal of Food Science and Technology* 48: 102-105. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0098-x>
- Rios-Romero, E. A., Ochoa-Martínez, L. A., Morales-Castro, J., Bello-Pérez, L. A., Quintero-Ramos, A. & Gallegos-Infante, J. A. (2018). Ultrasound in orange sweet potato juice: Bioactive compounds, antioxidant activity, and enzymatic inactivation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(6): e13633. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13633>
- Rios-Romero, E. A., Ochoa-Martínez, L. A., Bello-Pérez, L.A., Morales-Castro, J., Quintero-Ramos, A. & Gallegos-Infante, J. A. (2021). Effect of ultrasound and heat treatments on bioaccessibility of  $\beta$ -carotene and physicochemical parameters in orange-fleshed sweet potato juice. *Heliyon* 7(4): e6632. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06632>
- Rodríguez-Mena, A., Ochoa-Martínez, L.A., González-Herrera, S.M., Rutiaga-Quiñones, O.M., González-Laredo, R. & Olmedilla-Alonso, B. (2023). Natural Pigments of plant origin: classification, extraction and application in foods. *Food Chemistry* 398: 133908. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133908>
- Vallée Marcotte, B., Verheyde, M., Pomerleau, S., Doyen, A. & Couillard, C. (2022). Health benefits of apple juice consumption: A review of interventional trials on humans. *Nutrients* 14(4): 821. <https://doi.org/10.3390/nu14040821>
- Wrolstad, R. E. (1976). Color and pigment analysis in fruit products, Bull. No. 624. Oregon Department of Agriculture. Stn. Corwales, OR. 1-17. <http://hdl.handle.net/1957/15825>
- Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Zhao, F., Sun, Z. & Liao, X. (2016). Quality comparison of carrot juices processed by high-pressure processing and high-temperature short-time processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 33: 135-144. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.10.012>

2023 TECNOCENCIA CHIHUAHUA

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



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

Artículo Científico

# Fenólicos totales y capacidad antioxidante de gel de *Aloe barbadensis* Miller pasteurizado y su efecto anti-hiperglucémico en ratas Wistar diabéticas

Total phenolics compounds and antioxidant capacity of pasteurized *Aloe barbadensis* Miller gel and its antihyperglycemic effect in diabetic Wistar rats

V.M. Rodríguez-González<sup>1,2\*</sup>; J.R. Minjares-Fuentes<sup>1</sup>; J.J. Martínez-García<sup>1</sup>; E. Olivas-Calderón<sup>1</sup>; R.F. González-Laredo<sup>2</sup>; N.E. Rocha-Guzmán<sup>2</sup>; J.A. Gallegos-Infante<sup>2</sup>; A. Femenia<sup>3</sup>; V. Eim-Iznardo<sup>3</sup>; C.I. Gamboa-Gómez<sup>4</sup> R. Reynoso-Camacho<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Universidad Juárez del Estado de Durango. Facultad de Ciencias Químicas, G.P. Av. Artículo 123 s/n Fracc. Filadelfia, Gómez Palacio, Dgo. México.

<sup>2</sup> Instituto Tecnológico de Durango. Depto. de Ing. Química y Bioquímica. Blvd. Felipe Pescador 1830 Ote., 34080 Durango, Dgo. México.

<sup>3</sup> Universitat de les Illes Balears. Área de Ingeniería Química, Depto. de Química, Ctra. Valldemossa Km. 7.5, E-07071 Palma de Mallorca, España.

<sup>4</sup> Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Química, Depto. de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA), Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n, Querétaro, Qro. México.

\*Correspondencia: [vicrogfcq7@ujed.mx](mailto:vicrogfcq7@ujed.mx) (Víctor Manuel Rodríguez-González)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v17i1.1168>

Recibido: 20 de febrero de 2023; Aceptado: 10 de mayo de 2023

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

## Resumen

A nivel mundial hay 537 millones de pacientes diabéticos y 14.1 millones en México. Se ha reportado que el *Aloe barbadensis* Miller, comúnmente conocido como *Aloe vera* (AV), presenta propiedades anti-hiperglucemiantes y éste contiene compuestos fenólicos. En el presente estudio se evaluó el contenido fenólico (FC), la capacidad antioxidante (AC) y el efecto anti-hiperglucémico (HE) del AV en ratas diabéticas, utilizando muestras con diferentes tratamientos de pasteurización (65, 75 y 85 °C por 15 y 25 min). En los resultados de AC, en dos de los métodos (ABTS y SDS-MFA), los tratamientos con las tres temperaturas y 25 min fueron los menos afectados por la pasteurización. En una curva de tolerancia a la glucosa con ratas sanas, el *Aloe vera* pasteurizado (PA) a 75 °C durante 25 min, produjo el mayor HE en comparación con el gel de *Aloe vera* fresco (FAG). Por otro lado, un tratamiento de 21 días con ratas diabéticas, tratadas con FAG y PA a 75 °C durante 25 min; los niveles de glucosa con tratamiento de PA disminuyó por debajo del grupo control diabético y del tratado

con FAG. Por lo tanto, el PA mostró un mayor HE que el FAG y dicho efecto pudiera estar relacionado con una mayor biodisponibilidad de los compuestos bioactivos producida por la temperatura de 75 °C.

**Palabras clave:** *Aloe vera*, fenólicos totales, capacidad antioxidante, pasteurización, efecto anti-hiperglucémico.

## Abstract

Worldwide there are 537 million diabetic patients and 14.1 million in Mexico. *Aloe barbadensis* Miller, commonly known as *Aloe vera* (AV), has been reported to have antihyperglycemic properties and contains phenolic compounds. In the present study, the phenolic content (FC), antioxidant capacity (AC) and antihyperglycemic effect (HE) of AV in diabetic rat were evaluated, using samples with different pasteurization treatments (65, 75 and 85 °C for 15 and 25 min). In the AC results, in two of the methods (ABTS and SDS-MFA), treatments at the three temperatures and 25 min were the least affected by pasteurization. In a glucose tolerance curve with healthy rats, pasteurized *Aloe vera* (PA) at 75 °C for 25 min, produced the highest HE compared to fresh *Aloe vera* gel (FAG). On the other hand, a 21-day treatment with diabetic rats, treated with FAG and PA at 75 °C for 25 min, glucose levels with BP treatment decreased in the diabetic control group and the FAG treated. Therefore, the PA showed a higher HE than the FAG and this effect could be related to a greater bioavailability of the bioactive compounds produced by the temperature of 75 °C.

**Keywords:** *Aloe vera*, total phenolics, antioxidant capacity, pasteurization, antihyperglycemic effect.

## 1. Introducción

La diabetes es una enfermedad multifactorial y crónico-degenerativa que tiene un impacto significativo en la salud, calidad y esperanza de vida. A nivel mundial, alrededor de 537 millones de personas tiene diagnóstico de diabetes. De esta cifra, el 90 % padecen diabetes tipo 2, pronosticando que para el año 2045 aumentará a 783.2 millones. En México, ésta enfermedad la presentan aproximadamente 14.1 millones de personas, con una prevalencia nacional de 10.7 % en pacientes de 20 a 69 años (Sun *et al.*, 2022), ocupando en los últimos tres años el sexto lugar de pacientes diabéticos a nivel mundial. Hay tres tipos de diabetes, el tipo 1, es la primera causa de diabetes infantil, se presenta un daño en las células  $\beta$  pancreáticas, las cuales producen menos insulina y quienes presentan esta enfermedad son comúnmente tratados con esta hormona. La diabetes tipo 2 se presenta en pacientes que no pueden utilizar eficazmente la insulina, teniendo que adoptar un estilo de vida saludable, así como tratamiento médico para sobrellevar la enfermedad y el tercer tipo de diabetes es la gestacional (Chinsembu, 2018). La diabetes se caracteriza por una elevada glucosa en sangre ( $\geq 200$  mg/dl), lo cual es parcialmente debido al daño oxidativo de las células  $\beta$ -pancreáticas, conduciendo a la apoptosis, decreciendo así la secreción de insulina (Sharma *et al.*, 2013; Rodríguez-González *et al.*, 2017). Según Anderson *et al.* (2004), las dietas de consumo común en Estados Unidos de América y otros países occidentales, con alto contenido de azúcares libres, grasas saturadas y ácidos grasos trans, promueven un aumento en la incidencia de diabetes mellitus. La diabetes se caracteriza por una hiperglucemia crónica unida a alteraciones de glucosa y metabolismo

intermediario de proteínas y lípidos. Éstas características son responsables del daño en las membranas celulares, resultando en una alta producción de especies reactivas de oxígeno (ROS); disminuyendo los mecanismos de defensa oxidativa en pacientes diabéticos, promoviendo complicaciones asociadas a esta enfermedad (Kim *et al.*, 2009; Tabatabaei *et al.*, 2017), tales como fallo renal, amputación, enfermedades cardiovasculares y pérdida de la visión (Mootoosamy, 2014).

Investigaciones etnobotánicas en México reportan que la población ha empleado una gran variedad de plantas para controlar enfermedades como la diabetes (Andrade-Cetto, 2005). Tradicionalmente, el gel de *Aloe vera* se ha empleado para problemas de salud humana, externamente para quemaduras menores e irritación de la piel, e internamente para estreñimiento, dolor de cabeza, úlceras, artritis, deficiencias del sistema inmunológico, diabetes, etc. (Christaki y Florou-Paneri, 2010; Suksomboom *et al.*, 2016). Según Park *et al.* (2006), en su clasificación de las diferentes especies de *Aloe*, El *Aloe vera* L. (= *Aloe barbadensis* Miller = *A. vulgaris* Lam., Curaçao aloe, the true aloe): *Aloe vera* significa el verdadero aloe, el cual fue disperso por el hombre a través de la región del mediterráneo, por lo que se hace muy difícil determinar exactamente su origen. Por lo anterior, en este estudio nos referimos al *Aloe barbadensis* Miller como *Aloe vera*.

Abo-Youssef y Messiha (2013) estudiaron ratas macho albinas diabéticas inducidas con estreptozotocina (STZ) (50 mg/kg, p.c.) y tratadas con extractos de gel de *Aloe vera in vivo* e *in vitro* utilizando islotes aislados del páncreas de ratas hembra albinas adultas y este efecto fue comparado con la glimepirida. Tanto el extracto de *Aloe vera* como la glimepirida disminuyeron los niveles de glucosa en sangre y aumentaron los niveles plasmáticos de insulina en comparación con el grupo control. Tanto el *Aloe vera* como la glimepirida aumentaron la secreción basal de insulina en comparación con el valor normal del grupo de control. El Sayed *et al.* (2016) estudiaron los efectos de ocho especies de *Aloe vera* en el control de la glucosa en diabetes *in vivo*. También se realizó un perfil de extractos metanólicos utilizando HPLC. Todos los extractos presentaron una actividad benéfica antiinflamatoria, de cicatrización y antidiabética. Además, se identificaron 71 compuestos, destacando, ácidos fenólicos, derivados del ácido cumárico, que incluyen cromonas, antraquinonas y pironas, así como algunos flavonoides.

En 2017, Tabatabaei *et al.*, estudiaron los efectos del gel de *Aloe vera* en las funciones conductuales, el estado oxidativo y la viabilidad neuronal en el hipocampo de ratas diabéticas inducidas con STZ. La mayoría de los resultados del gel de *Aloe vera* fueron mejores que la insulina, demostrando que puede conducir a una mejora en las anomalías cognitivas y locomotoras, así como en ciertos trastornos psiquiátricos como la ansiedad en animales diabéticos. De acuerdo al estudio *in vivo* realizado en esta investigación, el *Aloe vera* es un agente anti-hiperglucémico eficaz contra la diabetes tipo 2 (Zarrintan *et al.*, 2015), reduce los niveles de glucosa en sangre sin alterar los niveles de lípidos y las funciones hepáticas-renales (Huseini *et al.*, 2011; Choudhary *et al.*, 2014). Su efecto antidiabético está relacionado con la reducción del estrés oxidativo y, por lo tanto, la mejora del estado antioxidante, e.g., una reducción de 44 % en los niveles de glucosa en sangre en pacientes diabéticos administrados con gel de *Aloe vera* y en combinación con glibenclamida (Choudhary *et al.*, 2014; Maan *et al.*, 2018).

Por otro lado, la pasteurización es una de las técnicas de procesamiento más aplicadas al gel de *Aloe vera* para reducir o eliminar microorganismos patógenos y enzimas. En la industria, el proceso de pasteurización más común se basa en el uso de altas temperaturas y tiempos cortos (de 85 a 95 °C durante 1 a 2 min). Sin embargo, algunos estudios científicos han publicado que las temperaturas empleadas en estos tipos de pasteurización degradan, inactivan y hasta destruyen los principales componentes bioactivos del *Aloe vera* como son polisacáridos de almacenamiento, estructurales y



compuestos fenólicos (Ezuruike y Prieto, 2014; Minjares y Femenia, 2017). Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el contenido fenólico, la capacidad antioxidante del gel pasteurizado de *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) a diferentes condiciones de pasteurización y su efecto antihiperglucemiante en ratas Wistar diabéticas.

## 2. Materiales y Métodos

Se utilizaron como materia prima hojas frescas enteras de *Aloe barbadensis* Miller donadas por la empresa "Hacienda de Pedriceña" ubicada en Pedriceña, Durango, México. Se realizó una selección de las hojas de *Aloe vera* considerando tamaño (35-50 cm) y edad de las plantas (3-4 años). Las hojas enteras se lavaron con agua destilada y se retiraron las espinas a lo largo de los bordes. Se separó la epidermis del parénquima usando un cuchillo en forma de bisturí. Las porciones se lavaron con agua destilada para eliminar los exudados. Se obtuvieron aproximadamente 415 kg de filetes de 970 kg de hojas frescas de *Aloe vera* utilizadas en este estudio. Las porciones de *Aloe* frescos se almacenaron a no más de 1 h a 1 °C antes de los tratamientos de pasteurización.

### 2.1 Pasteurización

Los filetes de *Aloe vera* lavados se cortaron en trozos pequeños, se trituraron en una licuadora semi industrial de acero inoxidable y se pasteurizaron. En cada uno de los tratamientos de pasteurización se utilizaron 22 kg de filetes. El proceso se realizó en un tanque de doble camisa con agitador, controlador electrónico de temperatura y válvula solenoide (marca Polinox, México), utilizando vapor saturado como fuente de transmisión de calor. De acuerdo con la literatura del procesamiento térmico del *Aloe vera* (Eshun y He, 2004; Ahlawat y Khatkar, 2011; Domínguez-Fernández et al., 2012) y la experiencia de la empresa "Hacienda de Pedriceña" ([www.haciendadepedricena.com/sabilamain.html](http://www.haciendadepedricena.com/sabilamain.html)), las muestras se pasteurizaron a 65, 75 y 85 °C, durante 15 y 25 min. Se llevaron a cabo tres réplicas para cada experimento. La empresa colaboradora llevó a cabo estudios microbiológicos que garantizaron la eficiencia de la pasteurización, monitoreando microorganismos y bacterias de deterioro como hongos y levaduras (NOM-111-SSA 1-1994), coliformes totales (NOM-093-SSA 1-1994. <10UFC/mL) y mesófilos aerobios (NOM-092-SSA 1-1995. 5000 UFC/mL). Todas las muestras pasteurizadas en el estudio cumplieron con la norma de seguridad microbiológica. La codificación de las muestras se acordó de la siguiente manera: una letra inicial, indicando muestras frescas (F) o pasteurizadas (P), luego un primer número para la temperatura de pasteurización (65, 75 ó 85 °C), seguido de un segundo número para el tiempo de retención en la pasteurización (15 ó 25 min). Así, por ejemplo, el código P65/25 identifica una muestra de gel de *Aloe vera* pasteurizada a 65 °C durante 25 min. Para la comparación de los resultados obtenidos entre las muestras de *Aloe vera* en los diferentes tratamientos, se consideró una muestra fresca como referencia para cada lote individual de muestras pasteurizadas, por lo tanto, para cada muestra fresca se utilizó la letra F en lugar de la letra P, incluyendo las condiciones de temperatura y el tiempo (Rodríguez-González et al., 2011).

## 2.2 Determinación del contenido de compuesto fenólico total

El contenido de compuestos fenólicos totales se determinó utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu (Medina-Torres *et al.*, 2016). Se liofilizaron (-21 a -60 °C; 103.45 a 1.077 Pa; 72 h) muestras de gel de *Aloe vera* fresco y pasteurizado. Muestras de 200 mg de gel liofilizado de *Aloe vera* se extrajeron durante 2 h con 2 mL de metanol al 80 % que contenía ácido clorhídrico al 1 % a temperatura ambiente en un agitador orbital a 200 rpm. La mezcla se centrifugó a 1,252 x g durante 1 min y el sobrenadante se decantó en viales de 4 mL. Los sobrenadantes se utilizaron para la cuantificación de compuestos fenólicos totales. Se mezclaron 100 uL de extracto con 0.75 mL de reactivo Folin-Ciocalteu (previamente diluido 10 veces con agua destilada) y se dejaron reposar a 22 °C por 5 min. Se agregaron 0.75 mL de solución de bicarbonato de sodio (60 g/L) a la mezcla. Después de 90 min a 22 °C, se midió la absorbancia a 725 nm, en un espectrofotómetro Thermo Scientific Multiskan Spectrum. Los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico/100 g de liofilizado de *Aloe vera* pasteurizado y fresco.

## 2.3 Determinación de la actividad antioxidante

Las técnicas de capacidad antioxidante utilizadas para ABTS (ácido 2,2'-azinobis 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico), CUPRAC (Capacidad antioxidante reductora del ion cobre) y FRAP (Poder antioxidante reductor del ion férrico), fueron descritas por Re *et al.* (1999) y Yao *et al.* (2010), adaptadas para su uso en microplacas. Para estos análisis se obtuvieron los extractos metanólicos de liofilizado de gel de *Aloe vera*, mediante la misma técnica que para compuestos fenólicos totales. Se leyeron absorbancias en un espectrofotómetro (Thermo Scientific Multiskan Spectrum) a 734, 450 y 593 nm, respectivamente. Se utilizó una curva estándar de Trolox (50-80 µM) para expresar los resultados en mg equivalentes de Trolox/100 g de muestra liofilizada.

Adicionalmente, se determinó capacidad antioxidante por el método modificado SDS-Ferricianuro (SDS-MFA) de acuerdo con Berker *et al.* (2010) y Martínez-García *et al.* (2013). Se preparó una solución de cloruro férrico (0.1 %, p/v) con 0.1 g de FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O en 1 mL de HCl 1 M, diluyendo a 50 mL con agua. La solución de dodecil sulfato de sodio (1 %, p/v) se preparó con 1.0 g de SDS en 100 mL de agua. A 1 mL de solución antioxidante (i.e., 500 µL de extracto metanólico de *Aloe vera* y 500 µL de EtOH, 96 %), 5 mL de H<sub>2</sub>O, 1.5 mL de HCl 1 M, 1.5 mL de solución de ferricianuro (1 %), y 0.5 mL de SDS (1 %), se le añadieron 0.5 mL de FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (0.2 %) hasta un volumen final de 10 mL. La mezcla se incubó a 50 °C en baño de agua por 20 min, se dejó enfriar a temperatura ambiente, y se leyó la absorbancia a 750 nm contra un reactivo en blanco. El color de la solución final fue estable durante al menos 30 min. Se elaboró una curva de catequina estándar (25 – 300 µM) para expresar los resultados en mg equivalentes de catequina por 100 g de muestra liofilizada (Berker *et al.*, 2010).

## 2.4 Estudio experimental *in vivo*

### 2.4.1 Animales

Se realizó un estudio *in vivo* en animales de experimentación, se utilizaron en total 50 ratas macho, sanos y adultos de la cepa Wistar, con un peso de 280 – 310 g. Todos los animales fueron

adquiridos en los Laboratorios Rismart (México) y se sometieron a un período de adaptación de una semana bajo un ciclo luz-oscuridad de 12 h con libre acceso a alimentos y agua. Lo anterior se llevó a cabo en el bioterio del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro, México, con cumplimiento de la NOM-062-ZOO-1999 (Amador *et al.*, 2006).

#### **2.4.2 Determinación de la glucosa en sangre**

La glucosa se cuantificó utilizando muestras de sangre obtenidas de la vena caudal de ratas con 12 h de ayuno, utilizando un glucómetro sensor (Accu-Check® Roche) con rango de sensibilidad de 20 a 600 mg/dL de glucosa, además del uso de tiras reactivas con sensor de confort (Accu-Check® Roche). La medición de la prueba se realizó mediante bioamperometría. Se midió la corriente generada por la reacción de la enzima glucosa deshidrogenasa de la tira reactiva convirtiendo la glucosa de la muestra de sangre en gluconolactona.

#### **2.4.3 Curva de Tolerancia a la Glucosa (CTG) para determinar la dosis efectiva con mayor capacidad anti hiperglucémica del gel de *Aloe vera*.**

Para la determinación de la dosis de *Aloe vera* a utilizar durante el estudio *in vivo* para evaluar el efecto anti-hiperglucémico se realizó una CTG, que consistió en utilizar cinco grupos de seis ratas Wistar sanas con 12 h de ayuno y se administró a cada grupo, una dosis de 100, 200, 300 y 500 mg/kg de peso corporal respectivamente, de gel de *Aloe vera* del tratamiento de pasteurización de 75 °C por 25 min (P75/25). Después de 5 min, se administró una dosis de glucosa (4 g/kg p.c. por vía oral) y el grupo control fue suministrado con agua. Los niveles de glucosa en sangre (mg/dL) se midieron a los 0, 30, 60, 90 y 120 min.

#### **2.4.4 Curva de tolerancia a la glucosa (CTG) para determinar el tratamiento de gel de *Aloe vera* pasteurizado con mayor capacidad anti-hiperglucémica.**

Para esta prueba se utilizó la dosis efectiva con mayor capacidad anti-hiperglucémica y cuatro muestras diferentes de gel de *Aloe vera*. Esta CTG consistió en formar cinco grupos de seis ratas Wistar cada uno con 12 h de ayuno, a estas se les administró una dosis de 500 mg/kg de peso corporal respectivamente de los tres tratamientos pasteurizados de gel de *Aloe vera* (P65/25, P75/25, P85/25). A un grupo se le administró gel fresco de *Aloe vera* y se utilizó un grupo control sin tratamiento. Después de 5 min se administró una dosis de glucosa (4 g/kg p.c. por vía oral), posteriormente se cuantificaron los niveles de glucosa en sangre (mg/dL) a los diferentes intervalos de tiempo, 30, 60, 90 y 120 min.

#### **2.4.5 Solución de estreptozotocina (STZ)**

El fármaco STZ (Sigma S0130-1G) se empleó de acuerdo con Rajasekaran *et al.* (2006) y Abo-Youssef *et al.* (2013). Este fármaco se utilizó para la inducción de diabetes en ratas, la solución se preparó disolviendo la STZ en 0.5 de tampón de citrato de sodio 0.1 M, pH 4.5.

## 2.4.6 Inducción de diabetes con estreptozotocina

De acuerdo con Jain *et al.* (2010), el uso de bajas dosis de STZ (40 mg/kg) en ratas, producen una destrucción parcial de las células  $\beta$ , pero las hace permanecer diabéticas. Se utilizaron 33 ratas Wistar con pesos de 283-310 g. Éstas se colocaron con al menos 12 h de ayuno. Las ratas se separaron en tres grupos de 11 ratas cada uno. Se realizaron los cálculos para la preparación de la STZ en solución de buffer de citratos y se administraron 45 mg/kg, ésta dosis se determinó de acuerdo con Rajasekaran *et al.* (2006) y Abo-Youssef *et al.* (2013). Se inyectó a cada rata con de solución de STZ por vía intraperitoneal.

## 2.4.7 Determinación de las propiedades anti- hiperglucémicas de gel fresco y pasteurizado de *Aloe vera* en ratas Wistar diabéticas.

Se integraron cuatro grupos experimentales: 1) grupo sano, 2) grupo de control diabético, 3) grupo diabético tratado con la muestra de gel de *Aloe vera* pasteurizado, que mostró la mayor capacidad anti hiperglucémica, 4) Un grupo diabético tratado con gel fresco de *Aloe vera* sin ningún tratamiento. Cada uno de los grupos se formó con seis animales de experimentación. Los animales fueron tratados durante tres semanas (21 días) (Alinejad-Mofrad *et al.*, 2015) y el gel de *Aloe vera* de los diferentes tratamientos fue molido y suministrado a través de una cánula intragástrica, con una dosis de 500 mg/kg de peso corporal (Rajasekaran *et al.*, 2006; Arce *et al.*, 2007). Cada semana se registró el consumo de alimento, el peso corporal, el nivel de glucosa en sangre (mg/dL), así como la supervivencia de los grupos en estudio.

## 2.5 Análisis estadístico

Para los resultados de las mediciones de Polifenoles totales y Capacidad Antioxidante, se calculó el porcentaje de variación de las muestras pasteurizadas de gel de *Aloe vera* con respecto a su correspondiente muestra fresca para cada tratamiento (Ecuación 1), realizándolo por triplicado y presentando las medias en las tablas correspondientes. Los porcentajes de variación negativos, indican que existió una disminución en los valores de las muestras pasteurizadas en comparación a su correspondiente muestra fresca.

$$\text{Ec. 1: } \% \text{ Variación} = \frac{\text{Resultado muestra Pasteurizada} - \text{Resultado muestra fresca}}{\text{Resultado muestra fresca}} \times 100$$

El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante un análisis unidireccional y multifactorial de varianza, ANOVA, con tres repeticiones por tratamiento para todas las técnicas, utilizando las pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) y Duncan con un intervalo de confianza del 95 % para la comparación de las medias de prueba.

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1 Resultados del contenido fenólico total y capacidad antioxidante

Los resultados de los polifenoles totales de muestras liofilizadas de gel de *Aloe vera* fresco y pasteurizado oscilaron entre 371.10 y 579.75 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de liofilizado (Tabla 1). Los tratamientos a 65 °C por 15 min (P65/15), así como los tratamientos realizados a 85 °C con ambos tiempos de retención (P85/15, P85/25) presentaron valores similares a la muestra fresca o concentraciones incluso superiores. El resto de los tratamientos mostraron una ligera disminución. A pesar de estos comportamientos, no hubo diferencia estadística significativa entre los porcentajes de variación de las muestras pasteurizadas con respecto a su correspondiente muestra fresca en los diferentes tratamientos. Los valores negativos de los porcentajes de variación representan una disminución de los polifenoles totales de la muestra pasteurizada respecto a su correspondiente muestra fresca. Los resultados presentados en este estudio son similares a los reportados por Zhen *et al.* (2001), Hu *et al.* (2003), Loots *et al.* (2007) y superiores a los reportados por Lee *et al.* (2000). Con esta información, se puede deducir que el tratamiento térmico no afectó significativamente el contenido fenólico total de los geles de *Aloe vera* fresco y pasteurizado en el experimento llevado a diferentes condiciones.

**Tabla 1.** Contenido de compuestos fenólicos totales y porcentaje de variación de muestras de gel fresco y gel pasteurizado de *Aloe vera*.

**Table 1.** Total phenolic compounds content and percentage variation of fresh and pasteurized *Aloe vera* gel samples.

Muestras	Compuestos fenólicos totales*	Muestras	Compuestos fenólicos totales*	Muestras	Compuestos fenólicos totales*
F65/15	455.78±93.8	F75/25	579.65±116.4	F85/15	452.89±27.0
P65/15	469.67±127.1	P75/25	480.81±115.5	P85/15	455.43±129.9
% Variación	3.048 <sup>a</sup>	%Variación	-24.246 <sup>a</sup>	%Variación	0.497 <sup>a</sup>
F65/25	445.47±143.0	F75/15	403.48±110.5	F85/25	396.07±129.1
P65/25	422.68±166.4	P75/15	371.10±12.9	P85/25	416.46±175.3
% Variación	-5.116 <sup>a</sup>	% Variación	-8.026 <sup>a</sup>	%Variación	5.148 <sup>a</sup>

Análisis multifactorial de varianza ANOVA entre los porcentajes de variación. Letras diferentes en las medias de las columnas, indican diferencia estadística significativa; prueba de LSD ( $p < 0.05$ ). \*

\*(mg equivalente de ácido gálico/100 g liofilizado).

Se puede destacar de los resultados de la Tabla 2, que, aunque en los métodos de capacidad antioxidante CUPRAC y FRAP no hubo diferencia estadística significativa entre los porcentajes de variación (% Variación) de las muestras pasteurizadas con referencia a sus correspondientes muestras frescas en los diferentes tratamientos, si hubo una tendencia de disminución en los valores de la capacidad antioxidante en todas las muestras pasteurizadas. Además, los valores del porcentaje de variación en la mayoría de los tratamientos son muy similares en estos dos métodos de análisis.

Asimismo, las muestras que presentaron menos efecto en la capacidad antioxidante fueron las tratadas a 65 °C por 25 min, al igual que en los métodos ABTS y SDS-MFA, en los que sí hubo una diferencia estadística significativa entre los tratamientos. De manera interesante en estos dos métodos, las muestras que se vieron más afectadas en capacidad antioxidante después del tratamiento de pasteurización fueron las procesadas a 85 °C por 15 min.

**Tabla 2.** Capacidad antioxidante, ABTS, CUPRAC, FRAP y SDS-MFA de gel fresco y pasteurizado de *Aloe vera* y el porcentaje de variación entre muestras pasteurizadas y frescas.

**Table 2.** Antioxidant capacity, ABTS, CUPRAC, FRAP and SDS-MFA of fresh and pasteurized *Aloe vera* gel and the percentage variation between pasteurized and fresh samples.

Muestras	ABTS*	CUPRAC*	FRAP*	SDS-MFA**
F65/15	534.43±177.48	565.33±231.17	336.41±91.91	262.81± 9.55
P65/15	424.37± 5.90	449.16±81.00	265.43±47.15	228.54± 38.11
% Variación	-17.16± 6.44 ab	-20.55±21.92 <sup>a</sup>	-21.101±48.69 <sup>a</sup>	- 13.08 ± 11.36 <sup>a</sup>
F65/25	335.12± 51.87	374.84±45.45	214.61±15.52	130.63± 8.41
P65/25	338.26± 16.96	318.35±23.32	197.70±14.81	163.19± 10.67
% Variación	2.63 ± 16.84 <sup>b</sup>	-15.07±5.13 <sup>a</sup>	-7.878±4.56 <sup>a</sup>	24.92± 0.13 <sup>b</sup>
F75/15	506.20± 9.19	517.05±84.61	333.83±94.52	117.54± 77.07
P75/15	401.29±121.47	396.68±98.83	256.72±57.70	125.83± 96.90
% Variación	-20.41± 25.68 ab	-23.28±6.11 <sup>a</sup>	-23.097±38.95 <sup>a</sup>	7.06± 11.84 ab
F75/25	554.69±157.87	669.46±5.06	365.62±32.72	390.78± 24.69
P75/25	506.26±123.71	516.78±60.95	273.01±37.61	280.97± 38.63
% Variación	-5.94± 20.82 <sup>b</sup>	-22.807±9.06 <sup>a</sup>	-25.328±14.94 <sup>a</sup>	-28.10± 14.24 <sup>a</sup>
F85/15	646.72± 79.93	615.60±19.21	366.10±38.65	320.67± 119.63
P85/15	446.76± 44.74	426.94±43.90	247.92±14.33	225.17± 39.57
% Variación	-30.10± 11.62 <sup>a</sup>	-30.647±8.47 <sup>a</sup>	-25.328±14.94 <sup>a</sup>	-29.78± 18.46 <sup>a</sup>
F85/25	438.41±126.70	469.16±99.33	290.60±54.88	200.61± 75.62
P85/25	404.56± 37.48	417.56±63.64	266.75±70.24	164.81± 10.01
% Variación	-4.46± 16.95 ab	-10.998±21.35 <sup>a</sup>	-32.280±62.92 <sup>a</sup>	- 17.81± 30.99 <sup>a</sup>

Letras diferentes en las medias de las columnas, indican diferencia estadística significativa; prueba de LSD ( $p < 0.05$ ).

ABTS (ácido 2,2'-azinobis 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico).

CUPRAC (Capacidad antioxidante reductora del ion cobre).

FRAP (Poder antioxidante reductor del ion férrico).

SDS-MFA (Método Modificado SDS-Ferricianida). \*

\* (mg equivalente de Trolox /100 g liofilizado)

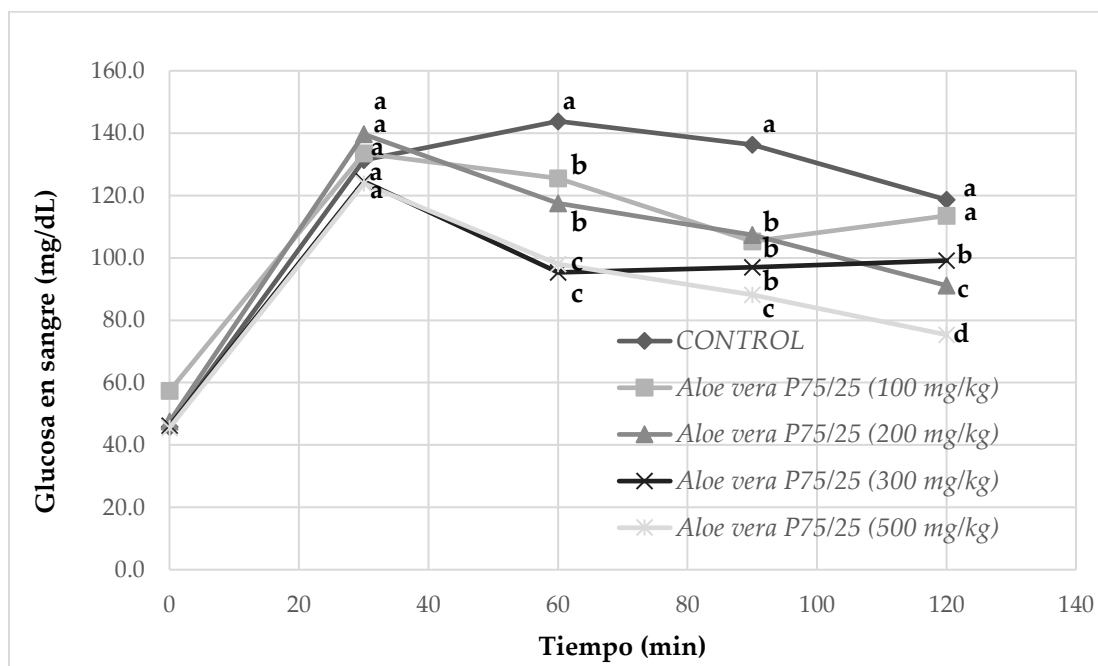
\*\* (mg equivalente de Catequina/100 g liofilizado)

Debido a lo anterior, se puede afirmar que el calor afecta la capacidad antioxidante de las muestras de gel de *Aloe vera* después del tratamiento de pasteurización a temperaturas de 65 a 85 °C. Esto concuerda con Chang *et al.* (2006), quienes aseguran que el contenido de compuestos fenólicos como la barbaloína disminuye a temperaturas superiores a 80 °C; pero también, a temperaturas inferiores a 65 °C, probablemente debido a la actividad enzimática del gel de *Aloe vera* (Femenia *et al.*, 2003;

Eshun y He, 2004). Asimismo, se puede sugerir que posiblemente el mejor tratamiento de pasteurización para el gel de *Aloe vera*, sin afectar tanto su capacidad antioxidante es de 65 °C por 25 min.

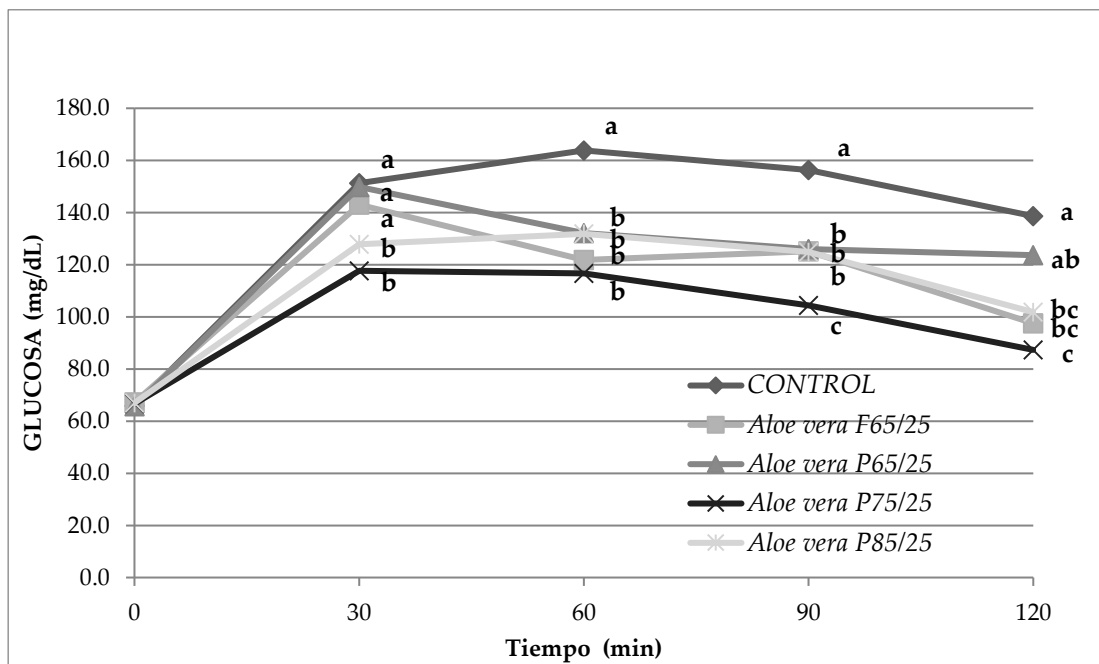
### 3.2 Efecto anti-hiperglucémico de muestras de gel de *Aloe vera* pasteurizadas

Se evaluó el efecto anti-hiperglucémico en ratas Wistar sanas del gel de *Aloe vera*, utilizando diferentes dosis. Se observó que a la mayor dosis utilizada se presentó el mayor efecto anti-hiperglucémico, decreciendo los niveles de glucosa en sangre después de 30 min, y presentando una diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) comparada con las otras dosis administradas. Una vez obtenida la mejor dosis de administración (Fig. 1), se realizó otra curva de tolerancia a la glucosa, utilizando una dosis de 500 mg/kg de peso corporal y muestras de cuatro tratamientos diferentes (Fig. 2). En dicha figura se presentan los tratamientos de *Aloe vera* F65/25, gel de *Aloe vera* P65/25, P75/25 y P85/25; administrados a ratas Wistar sanas, se aprecia que el grupo de mayor efecto anti-hiperglucémico fue el de P75/25.



**Figura 1.** Efecto anti-hiperglucémico de gel de *Aloe vera* P75/25 en ratas Wistar sanas a diferentes dosis. Letras diferentes muestran diferencia estadística significativa; prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ).

**Figure 1.** Antihyperglycemic effect of *Aloe vera* P75/25 gel in healthy Wistar rats at different doses. Different letters show significant statistical difference; Duncan's test ( $p < 0.05$ ).



**Figura 2.** Efecto anti-hiperglucémico de gel de *Aloe vera* sometido a diferentes tratamientos de pasteurización P65/25, P75/25 y P85/25 administrados a una dosis de 500 mg/kg a ratas Wistar.

Letras diferentes indican diferencia estadística significativa; prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ).

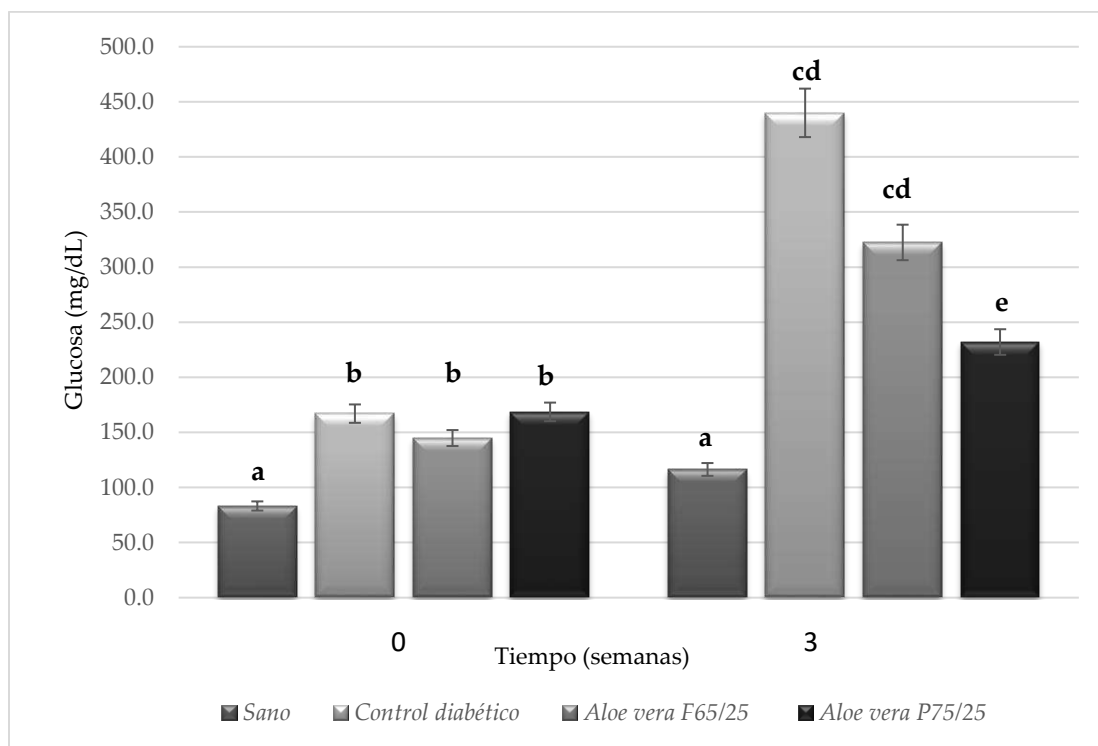
**Figure 2.** Antihyperglycemic effect of *Aloe vera* gel subjected to different pasteurization treatments P65/25, P75/25 and P85/25 administered at a dose of 500 mg/kg to Wistar rats.

Different letters indicate significant statistical difference; Duncan's test ( $p < 0.05$ ).

Se ha reportado que el efecto anti-hiperglucémico del *Aloe vera* puede atribuirse a los polisacáridos que contiene, como el glucomanano, el cual simula la actividad de los fibroblastos, causando proliferación, lo cual posteriormente incrementa la síntesis de colágeno (El Sayed *et al.*, 2016).

Según el estudio de Tabatabaei *et al.* (2017), la actividad anti-hiperglucémica del *Aloe vera* se asocia a su habilidad para incrementar la sensibilidad de la insulina, modular la expresión GLUT4, prevenir la muerte de células  $\beta$  y/o recobrar parcialmente las células  $\beta$  dañadas, y estimular la secreción de la insulina del remanente de las células  $\beta$ . El incremento de los niveles de insulina observados en el estudio de Rajasekaran *et al.* 2006, indicaron que el extracto de gel de *Aloe vera* simula la secreción de insulina del remanente de las células  $\beta$ -pancreáticas y/o la regeneración de las células  $\beta$ .





**Figura 3.** Nivel de glucosa sanguínea en ayuno de ratas Wistar diabéticas, inducidas con STZ (45 mg/kg p.c.) y tratadas durante 21 días, con 500 mg/kg p.c. de gel de *Aloe vera* fresco y P75/25. Letras diferentes en las barras del gráfico indican diferencia estadística significativa; prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ).

**Figure 3.** Fasting blood glucose level of diabetic Wistar rats induced with STZ (45 mg/kg b.w.) and treated for 21 days with 500 mg/kg b.w. of fresh *Aloe vera* gel and P75/25. Different letters in the bars of the graph indicate significant statistical difference; Duncan's test ( $p < 0.05$ ).

Tras una semana de la inducción de la diabetes con 45 mg/kg p.c. de STZ a las ratas Wistar, se les midió su nivel de glucosa en sangre, presentando diabetes moderada con valores iniciales de glucosa en sangre entre 144 y 169 mg/dL, iniciando en este momento el tratamiento de 21 días con gel de *Aloe vera* (Tiempo cero, Fig. 3). Se administraron el gel fresco de *Aloe vera* y el gel P75/25 respectivamente, a una dosis de 500 mg/kg de p.c. En la Fig. 3 se pueden observar los niveles de glucosa en sangre del grupo tratado con gel pasteurizado y fresco de *Aloe vera* al inicio del tratamiento y en la tercera semana al final del tratamiento. Los niveles de glucosa en sangre del grupo tratado con gel de *Aloe vera* pasteurizado disminuyó por debajo de los valores del grupo tratado con *Aloe vera* fresco y del grupo de control diabético, resultando de 232, 322.4 y 440 mg/dL respectivamente. Esto indica un efecto positivo en la disminución de uno de los principales indicadores de la diabetes mellitus que son los altos niveles de glucosa en sangre.

Se ha reportado que el *Aloe vera* procesada (incubación con celulasa, tratamiento térmico y clarificación con carbón activado) consumida por ratas con diabetes tipo 2, ayudó a incrementar la sensibilidad a la insulina, disminuyendo los niveles de glucosa en sangre en los animales experimentales (Kim et al., 2009).

Devaraj *et al.* (2013) reportaron efectos positivos en modelos *in vivo* de diabetes, incluyendo disminución rápida de los niveles de glucosa en ratas inducidas con Aloxan, aumento de la tolerancia a la glucosa en ratas administradas con glucosa, decremento de los niveles de glucosa y decremento del daño oxidativo en cerebros en ratas diabéticas inducidas con STZ y mejoramiento de los niveles de insulina en plasma.

Maan *et al.* (2018), argumentan que el gel de *Aloe vera* es un agente anti-hiperglucémico efectivo contra la diabetes tipo 2 y ha sido propuesto para la disminución de los niveles de glucosa en sangre debido a que éste incrementa el metabolismo.

## 4. Conclusiones

Debido al comportamiento en los valores de la capacidad antioxidante del gel de *Aloe vera*, con los métodos SDS-Modificado y ABTS, los tratamientos P65/25, P75/25, P85/25, se eligieron para hacer las pruebas preliminares del estudio *in vivo* para determinar su efecto anti-hiperglucémico.

El efecto anti-hiperglucémico del gel de *Aloe vera*, en ratas Wistar aumentó según la concentración de la dosis de administración. El gel de *Aloe vera* P75/25, causó el mayor efecto anti-hiperglucémico en ratas Wistar sanas. En un tratamiento de 21 días con suministro de gel de *Aloe barbadensis* Miller P75/25, los niveles de glucosa en sangre de ratas Wistar diabéticas inducidas con STZ (45 mg / kg) se encontraron por debajo de los del grupo de control diabético y del grupo tratado con *Aloe vera* fresco.

Por lo tanto, en este estudio el gel de *Aloe vera* pasteurizado tuvo una capacidad anti-hiperglucémica superior al gel fresco, ya que, aunque el tratamiento afectó su capacidad antioxidante, también puede hacer más biodisponibles a los compuestos fenólicos que no se afectaron y coadyuvar al balance de radicales libres generados por la enfermedad. Además, es posible que se pueda dar una condición de sinergia con las fibras presentes en el *Aloe vera*, que, debido al tratamiento térmico, proporcione una mayor biodisponibilidad de estos polisacáridos, como el acemanano y el glucomanano, que, por su capacidad de retención de agua, atrapen también los monosacáridos disueltos en el agua, y puedan disminuir su absorción y los niveles de glucosa en sangre.

## Agradecimientos

Al CONACYT por beca de posgrado. Al TecNM-Instituto Tecnológico de Durango, División de Estudios de Posgrado e Investigación; al Área de Ingeniería Química, Departamento de Química, Universitat de les Illes Balears, a la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología de España (Proyecto RTA2009-00118-C02) y al Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA) de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de interés de ningún tipo en la preparación y publicación del presente artículo.

## 5. Referencias

- Abo-Youssef, A.M.H. & Shehata Messiha, B.A. (2013). Beneficial effects of Aloe vera in treatment of diabetes: Comparative in vivo and in vitro studies. Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University 51(1): 7-11. <https://doi.org/10.1016/j.bfopcu.2012.03.002>
- Alinejad-Mofrad, S., Foadoddini, M., Saadatjoo, SA. & Shayesteh, M. (2015). Improvement of glucose and lipid profile status with Aloe vera in pre-diabetic subjects: a randomized controlled-trial. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders 14:1-7. <https://doi.org/10.1186/s40200-015-0137-2>
- Ahlawat, K. S. & Khatkar, B. S. (2011). Processing, food applications and safety of aloe vera products: a review. J. Food Sci. Technol. 48(5): 525 – 533. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0229-z>
- Anderson, R.A., Broadhurst, C.L., Polansky, M.M., Schmidt, W.F., Khan, A., Flanagan, V.P., Schoene, N.W. & Graves, D.J. (2004). Aislamiento y caracterización de polímeros de polifenoles tipo A de canela con actividad biológica similar a la insulina. Revista de Química Agrícola y Alimentaria 52(1): 65 – 70. <https://doi.org/10.1021/jf034916b>
- Andrade-Cetto, A. & Heinrich M. (2005). Plantas mexicanas con efecto hipoglucemiante utilizadas en el tratamiento de la diabetes. Revista de Etnofarmacología 99(3): 325 – 348. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.019>
- Arce Villavicencio, R. E., Molina-Ordóñez, J., Morán, F., & Moreno-Lozano, J. (2007). Efecto protector del *Aloe vera* (sábila) en lesiones gástricas inducidas con etanol en ratas. Sociedad Científica de San Fernando. Lima, Perú CIMEL Ciencia e Investigación Médica Estudiantil Latinoamericana 12(2): 71-75. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=71712207>
- Boudreau, M. D. & Beland, F.A. (2006). An Evaluation of the Biological and Toxicological Properties of Aloe barbadensis (Miller), Aloe Vera. Journal of Environmental Science and Health Part C 24(1):103-154. <https://doi.org/10.1080/10590500600614303>
- Chang, X. L., Wang, Ch., Feng, Y. & Liu, Z. (2006). Effects of Heat Treatments on the Stabilities of Polysaccharides Substances and Barbaloin in Gel Juice from *Aloe vera* Miller. Journal of Food Engineering 75(2): 245-251. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.04.026>
- Chinsembu, K.C. (2018). Diabetes mellitus and nature's pharmacy of putative antidiabetic plants. Journal of Herbal Medicine 15: 100230. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.09.001>
- Choudhary, M., Kochhar, A. & Sangha, J. (2014). Hypoglycemic and hypolipidemic effect of *Aloe vera* L. in non-insulin dependent diabetics. Journal of Food Science and Technology 51(1): 90-96. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0459-0>
- Christaki, E. V. & Florou-Paneri, C. (2010). *Aloe vera*: A plant for many uses. WFL Publisher. Science and technology 8 (2): 245-249. <https://doi.org/10.1234/4.2010.1627>
- Devaraj, S., Yimam, M., Brownell, L.A., Jialal, I., Singh, S. & Jia, Q. (2013). Effects of Aloe vera supplementation in subjects with prediabetes/ metabolic syndrome. Metabolic Syndrome and Related Disorders 11(1):35-40. <https://doi.org/10.1089/met.2012.0066>
- Domínguez-Fernández, R.N., Arzate-Vázquez, I., Chanona-Pérez, J.J., Welti-Chanes, J.S., Alvarado-González, J.S., Calderón-Domínguez, G.; Garibay-Febles, V. & Gutiérrez-López, G.F. (2012). El gel de *Aloe vera*: Estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia

- en la industria farmacéutica y alimentaria. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 11(1): 23-43. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62024415003>
- El Sayed, A.M., Ezzat, M.S., El Naggat, M.M. & El Hawary, S.S. (2016). *In vivo* diabetes wound healing effect and PLC-DAD-ESI-MS/MS profiling of the methanol extracts of eight *Aloe* species. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 26(3): 352-362. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.01.009>
- Eshun, K. & He, Q. (2004). *Aloe vera*: a valuable ingredient for the food, pharmaceutical and cosmetic industries: a review. *Critical reviews in food science and nutrition* 44(2): 91-96. <https://doi.org/10.1080/10408690490424694>
- Ezuruike, U. F. & Prieto, J. M. (2014). The use of plants in the traditional management of diabetes in Nigeria: pharmacological and toxicological considerations. *Journal of Ethnopharmacology* 155(2): 857-924. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.05.055>
- García-Peris, P., Bretón-Lesmes, I., De la Cuerda-Compes, C. & Cambolor-Alvarez, M. (2002). Metabolismo colónico de la fibra [Colonic metabolism of fiber]. *Nutr. Hosp.* XVII (Sup. 2) 11-16. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12141180/>
- He, Q., Changhong, L., Kojo, E. & Tian, Z. (2005). Quality and Assurance in the Processing of *Aloe Vera* Juice. *Food control* 16(2): 95 - 104. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2003.12.001>
- Hu, Y., Xu, J. & Hu, Q. (2003). Evaluation of Antioxidant Potential of *Aloe Vera* (*Aloe barbadensis* Miller) Extracts. *J. Agric. Food Chem.* 51(26): 7788-7791. <https://doi.org/10.1021/jf034255i>
- Huseini, H. F., Kianbakht, S., Hajiaghaee, R. & Dabaghian, F.H. Anti-hyperglycemic and anti-hypercholesterolemic effects of *Aloe vera* leaf gel in hyperlipidemic type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Planta Médica* 78(4): 311-316. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1280474>
- Jain, N., Vijayaraghavan, R., Pant, S. C., Lomash, V. & Ali, M. (2010). *Aloe vera* gel alleviates cardiotoxicity in streptozocin-induced diabetes in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 62(1): 115-123. <https://doi.org/10.1211/jpp.62.01.0013>
- Kuzuya, T., Nakagawa, Sh., Satoh, J., Kanazawa, Y., Iwamoto, Y., Kobayashi, M., Nanjo, K., Sasaki, A., Seino, Y., Ito, Ch., Shima, K., Nonaka, K. & Kadowaki, T. (2002). Report of the Committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* 55(1): 65 - 85. [https://doi.org/10.1016/s0168-8227\(01\)00365-5](https://doi.org/10.1016/s0168-8227(01)00365-5)
- Lee, K.Y., Weintraub, S.T. & Yu, B.P. (2000). Isolation and identification of a phenolic antioxidant from *Aloe barbadensis*. *Free Radical Biology & Medicine* 28(2): 261-265. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(99\)00235-x](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(99)00235-x)
- Loots, D.T., Van Der Westhuizen, F. H. & Botes, L. (2007). *Aloe ferox* Leaf Gel Phytochemical Content, Antioxidant Capacity, and possible Health Benefits. *J. Agric. Food Chem.* 55(17): 6891-6896. <https://doi.org/10.1021/jf071110t>
- Kim, K., Kim, H., Kwon, J., Lee, S., Kong, H., Im, S-A., Lee, Y-H., Lee, Y-R., Oh, S-T., Jo, T. H., Park, Y. I., Lee, Ch-K. & Kim, K. (2009). Hypoglycemic and Hypolipidemic Effects of Processed *Aloe vera* Gel in a Mouse Model of Non-insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Phytomedicine* 16(9): 856-863. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.02.014>

- Maan, A.A., Nazir, A., Khan, M. K. I., Ahmad, T., Zia, R., Murid, M. & Abrar, M. (2018). The therapeutic properties and applications of *Aloe vera*: A review. *Journal of herbal medicine*. 12: 1 – 10. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.01.002>
- Martínez-García, J.J., Gallegos-Infante, J. A., Rocha-Guzmán, N. E., Ramírez-Baca, P., Candelas-Cadillo, M. G. & González-Laredo, R. F. (2013). Drying parameters of half-cut and ground figs (*Ficus carica* L.) var, Mission and the effect on their functional properties. *Journal of Engineering* 2013: 710830. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/710830>
- Martínez, V.I., Periago, M. J. & Ros, G. (2000). Nutritional Meaning of Diet Phenolic Compounds. *Latin American Nutrition Archives. Official Body of the Latin American Nutrition Society* 50(1): 5-18. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11048566/>
- Medina-Torres, L., Calderas, F., Minjares, R., Femenia, A., Sánchez-Olivares, G., González-Laredo, R.F., Santiago-Adame, R., Ramirez-Nuñez, D.M., Rodríguez-Ramírez, J. & Manero, O. (2016). Structure preservation of *Aloe vera* (*barbadensis* Miller) mucilage in a spray drying process. *LWT – Food Science and Technology* 66: 93 – 100. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.023>
- Minjares-Fuentes, J. R. & Femenia, A. (2016). Effect of Processing on the Bioactive Polysaccharides and Phenolic Compounds from *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller). In (Eds) Farah Hosseinian, B. Dave Oomah & Rocio Campos-Vega. *Dietary Fiber Functionality in Food and Nutraceuticals: From Plant to Gut*, First Edition. JohnWiley & Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119138105.ch9>
- Mootoosamy, A. & Fawzi-Mahomoodally, M. (2014). Ethnomedicinal application of native remedies used against diabetes and related complications in Mauritius. *J. Ethnopharmacology* 151(1):413–444. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.10.069>
- Park, Y. I. & Lee, S.K. (2006). *New Perspectives on Aloe*. Springer. ISBN-10: 0-387-31799-6. ISBN-13: 978-0387-31799-1. <https://perpus.univpancasila.ac.id/repository/EBUPT180986.pdf>
- Rajasekaran, S., Ravi, K., Sivagnanam, K. & Subramanian, S. (2006). Beneficial Effects of *Aloe vera* Leaf Gel Extract on Lipid Profile Status in Rats with Streptozotocin Diabetes. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 33(3): 232-237. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2006.04351.x>
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying and 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)
- Rodríguez-González, V. M., Femenia, A., González-Laredo, R. F., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., Candelas-Cadillo, M. G., Ramírez-Baca, P., Simal, S. & Rosselló, C. (2011). Effects of pasteurization on bioactive polysaccharide acemannan and cell wall polymers from *Aloe barbadensis* Miller. *Carbohydrate Polymers* 86(4): 1675–1683. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.084>
- Rodríguez-González, S., Gutiérrez-Ruiz, I. M., Pérez-Ramírez, I. F., Mora, O., Ramos-Gómez, M. & Reynoso-Camacho, R. (2017). Mechanisms related to the anti-diabetic properties of mango (*Mangifera indica* L.) juice by product. *Journal of Functional Foods* 37: 190-199. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.07.058>
- Rosado-Pérez, J. & Mendoza-Núñez, V. M. (2007). Chronic Inflammation and Oxidative Stress in Diabetes Mellitus. *Bioquímica* 32(2):58-69. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=12738#>

- Sharma, B., Siddiqui, S., Ram, G., Chaudhary, M. & Sharma, G. (2013). Hypoglycemic and Hepatoprotective Effects of Processed *Aloe vera* Gel in a Mice Model of Alloxan Induced Diabetes Mellitus. *J. Diabetes and Metabolism* 4(9): 1000303. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6156.1000303>
- Suksomboom, N., Poolsup, N.† & Punthanintisarn, S. (2016). Effect of *Aloe vera* on glycaemic control in prediabetes and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* 41(2): 180 – 188. <https://doi.org/10.1111/jcpt.12382>
- Sun, H., Saeedi, P., Karuranga, S., Pinkepank, M., Ogurtsova, K., Duncan, B. B., Stein, C., Basit, A., Chan, J. C. N., Mbanya, J. C., Pavkov, M. E., Ramachandaran, A., Wild, S.H., James, S., Herman, W.H., Zhang, P., Bommer, C., Kuo, S., Boyko, E.J. & Magliano, D. J. (2022). IDF Diabetes Atlas: Global, regional, and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice* 183: 109119. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>
- Tabatabaei, S. R. F., Ghaderib, S., Bahrami-Tapeheburc M., Farboodb Y. & Rashnob, M. (2017). *Aloe vera* gel improves behavioral deficits and oxidative status in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 96: 279-290. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.09.146>
- Yao, Y., Sang, W., Zhou, M. & Ren, G. (2010). Phenolic composition and antioxidant activity of 11 celery cultivars. *Journal of food science* 75(1):C9-13. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01392.x>
- Zarrintan, A., Mobasseri, M., Zarrintan, A. & Ostadrahimi, A. (2015). Effects of *Aloe vera* supplements on blood glucose level and lipid profile markers in type 2 diabetic patients. – a randomized clinical trial. *Pharm Sci.* 21(2):65–71. <https://doi.org/10.15171/PS.2015.19>
- Zhen, W. & Wang, S. Y. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.* 49(11): 5165-5170. <https://doi.org/10.1021/jf010697n>

2023 TECNOCENCIA CHIHUAHUA

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



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

Artículo Científico

# Riesgo de lesiones músculo-esqueléticas en trabajadores de recolección de residuos sólidos urbanos

Risk of musculoskeletal injuries in urban solid waste collection  
workers

Laura Cristina García-Villa<sup>1\*</sup>, Diana Laura Hernández-Torres<sup>1</sup> y María Teresa Gutiérrez-Escajeda<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tecnológico Nacional de México, Campus Tecnológico de Delicias, Facultad de Ingeniería Industrial, Delicias, Chihuahua, México.

\*Correspondencia: Correo electrónico: [L18540124@delicias.tecnm.mx](mailto:L18540124@delicias.tecnm.mx) (Laura Cristina García Villa)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v17i1.1093>

Recibido: 10 de noviembre de 2022; Aceptado: 24 de enero de 2023

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

## Resumen

La recolección de Residuos Sólidos Urbanos (RSU) en México se lleva a cabo mediante el método de acera, donde los recolectores recogen los residuos colocados enfrente de las viviendas. Durante la jornada, los recolectores adoptan posturas inadecuadas que influyen en el desarrollo de padecer lesiones músculo-esqueléticas. El presente estudio tiene como objetivo evaluar el método de recolección de RSU en la ciudad de Delicias, Chihuahua, México; a través de la observación de las posturas forzadas y la manipulación de cargas con aplicación del método ergonómico Valoración Rápida del Cuerpo Completo (REBA por sus siglas en inglés) y la ecuación del Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH por sus siglas en inglés) identificando el nivel de riesgo postural. Este estudio se realizó en una muestra representativa de 20 recolectores. Los resultados indicaron que, al manipular el bote metálico, el 80 % de los recolectores alcanzó un nivel de riesgo muy alto y el 20 % un riesgo alto; con el bote de plástico, el 23.4 % muestran un riesgo muy alto, 70 % un riesgo alto y el 6.6 % un riesgo medio. Por lo tanto, los recolectores de RSU son más propensos a desarrollar algún Trastorno Musculo-esquelético (TME) en hombros, cuello, brazos, piernas, tronco y muñecas por la continua e incorrecta manipulación de los RSU.

**Palabras clave:** evaluaciones ergonómicas, trastornos musculo-esqueléticos, recolectores de residuos sólidos urbanos, nivel de riesgo postural, índice de levantamiento.

## Abstract

Waste collection of MSW (Municipal Solid Waste) in Mexico is carried out using the sidewalk method, where the collectors collect the waste placed in front of the houses. During the working day, collectors adopt inappropriate postures that influence the development of musculoskeletal injuries. The objective of this study is to evaluate the MSW collection method in Delicias city, Chihuahua, Mexico through the observation of forced postures and the handling of loads with the application of the REBA ergonomic method (Rapid Entire Body Assessment) and the NIOSH equation (National Institute for Occupational Safety and Health) identifying the level of postural risk. This study was carried out in a representative sample of 20 MSW waste collectors. The results indicated that, when manipulating the metal can, 80 % of the collectors reached a very high risk level and 20 % a high risk; with the plastic bottle, 23.4 % show a very high risk, 70 % a high risk and 6.6 % a medium risk. Therefore, it can be said that waste collectors are more likely to develop some musculoskeletal injuries (TME for its acronym in Spanish) in the shoulders, neck, arms, legs, trunk and wrists due to the continuous and incorrect handling of waste.

**Keywords:** ergonomic evaluations, musculoskeletal disorders, urban solid waste collectors, postural risk level, lifting index.

## 1. Introducción

Los Trastornos Musculoesqueléticos (TME) son problemas de salud que afectan al aparato locomotor, compuesto por huesos, músculos, tendones y ligamentos (Organización Mundial de la Salud, 2021); y se presentan, principalmente, en codos, hombros, manos, muñecas y en la espalda; es decir, zona cervical, dorsal y lumbar (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2015; Lopez *et al.*, 2020). Los TME de origen laboral se desarrollan a través del tiempo y por diversos factores como la manipulación de cargas, los movimientos repetitivos y las posturas forzadas; las lesiones más frecuentes son en la región lumbar, seguida de la columna dorsal y cervical (Battini *et al.*, 2018; Rodríguez-Blanes *et al.*, 2018; Junta de Castilla y León, 2019). Estos trastornos afectan por igual a todos los sectores laborales, representando uno de los problemas más importantes de salud ocupacional y constituyen una de las principales causas de ausentismo laboral en el mundo (Organización Mundial de la Salud, 2021).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (2021), aproximadamente 1,710 millones de personas en el mundo padecen de TME. En Europa, se estima que 40 millones de trabajadores padecen alguno de estos trastornos (Junta de Castilla y León, 2019). Por su parte, México registró, 12,622 casos relacionados con enfermedades laborales durante el 2016, de las cuales 4,683 fueron por enfermedades musculoesqueléticas (Rodríguez *et al.*, 2021).

La tarea realizada por los recolectores de los residuos sólidos urbanos, es uno de los trabajos más peligrosos para el ser humano, debido a la posibilidad de adquirir o desarrollar enfermedades ocupacionales como TME (Organización Internacional del Trabajo, 2019), además, el riesgo de sufrir un desorden musculoesquelético se incrementa debido a la falta de cultura de prevención de riesgos y a la carencia del equipo de protección personal (Risetto *et al.*, 2010).

Considerando la importancia de los impactos asociados a las condiciones de trabajo en la salud de las personas, se han realizado diversos estudios enfocados en los efectos de estas condiciones con el



desarrollo de TME. Una investigación realizada en Colombia analizó las condiciones de trabajo y el impacto en la salud de los trabajadores de RSU de países de América (Brasil, Paraguay, Argentina y Estados Unidos), y concluyó que los TME son causados por la manipulación de los contenedores pesados de basura y por los movimientos repetitivos que conlleva su labor; así como también las largas jornadas laborales y a la misma naturaleza del trabajo (López *et al.*, 2021). En otro estudio realizado en Nicaragua, se determinó el perfil de salud ocupacional y factores asociados que padecen los recolectores de basura del municipio de León; el estudio fue de corte transversal entre febrero y marzo de 2019, en el que se entrevistaron a 93 recolectores de basura, incluyendo a los trabajadores permanentes y temporales; los resultados arrojaron que el 90.3 % de los recolectores presentaron síntomas de malestares musculoesqueléticos, siendo el dolor articular el más frecuente, con un 64.5 % (Parrillas y Pérez, 2019).

En Taiwán, se realizó un estudio transversal en dos ciudades ubicadas en el norte, durante 2018-2019, en el que participaron 626 recolectores de residuos municipales que rellenaron de forma anónima un cuestionario estructurado. Los efectos de moderación y mediación del desequilibrio esfuerzo-recompensa (ERI por sus siglas en inglés) y el apoyo social en los TME de orden superior se analizaron mediante el Macro Modelo de Proceso de Haye. Los resultados mostraron la prevalencia de TME en miembros superiores del cuerpo, específicamente, el 43.4 % para el cuello, del 56 % para el hombro, del 24.1 % para la parte superior de la espalda y del 33.1 % para la mano/muñeca. Se presentó una mayor prevalencia de hombro (72.2 %), cuello (48 %) y parte superior de la espalda (30 %) en las trabajadoras en comparación con los hombres (Yang *et al.*, 2022).

El desarrollo de TME se genera, en gran parte, por actividades o procesos desarrollados en ausencia de una metodología diseñada con un enfoque ergonómico. La ergonomía tiene una importante contribución a la seguridad y salud laboral, esta se define como la ciencia o estudio para optimizar el bienestar humano, aplicándose no solo al trabajo sino a toda la actividad humana donde se utilicen artefactos, considerando aquellos factores de riesgo para asegurar que el trabajo esté adaptado al cuerpo humano y así tener mejores condiciones laborales, evitando futuras lesiones o daños en la salud de los empleados (Defelippe, 2014; Cañas, 2015). Cabe considerar que el objetivo de la ergonomía es prevenir las lesiones de los tejidos blandos y los TME causados por la exposición repentina o sostenida a la fuerza, vibraciones, movimientos repetitivos y posturas incómodas (Grooten y Johanssons, 2018; Navas, 2018).

Uno de los métodos utilizados para la evaluación ergonómica de los trabajadores es la Valoración Rápida del Cuerpo Completo (REBA, por sus siglas en inglés), el cual lleva a cabo un sistema de análisis de posturas forzadas para identificar el nivel de riesgo de desarrollar trastornos musculoesqueléticos relacionados con las actividades laborales (CENEA, 2016; Vidal, 2020). Por otra parte, el método ergonómico de evaluación de carga es por la ecuación de NIOSH que fue desarrollado por el Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH por sus siglas en inglés) la cual parte de levantamientos ocasionales, con un agarre ideal de la carga (López *et al.*, 2020).

Dada la importancia de la ergonomía y considerando los antecedentes de los impactos en el desarrollo de TME, así como el interés por prevenir lesiones futuras a causa de la naturaleza del trabajo realizado por los recolectores de RSU; el presente estudio se realiza con la finalidad de determinar el nivel de riesgo postural de los recolectores de RSU de la ciudad de Delicias, Chihuahua, México a través de la aplicación de métodos de evaluación ergonómicas, dado que el manejo de cargas, las posturas inadecuadas y los movimientos repetitivos, aumentan la posibilidad

de padecer un trastorno músculo-esquelético a los trabajadores dedicados a la recolección de residuos sólidos urbanos.

## 2. Materiales y métodos

El diseño metodológico del presente análisis ergonómico fue transversal, con un alcance descriptivo, aplicado a los recolectores de RSU de la ciudad de Delicias, Chihuahua, México. El estudio se desarrolló *in situ* en trabajo de campo, entre los meses de septiembre y noviembre del año 2021. Se tiene un total de 30 participantes, los cuales serán el objeto de estudio, la unidad de muestreo es el porcentaje de recolectores que presentan alguna dolencia o malestar después de la jornada laboral, para ello se toma en cuenta un estudio realizado en Yucatán en donde se obtuvo que el 73 % de recolectores mencionaron tener alguna dolencia en su cuerpo, mientras que el 27 % hicieron referencia a no tener molestias (Rodríguez *et al.*, 2021, p. 31). Para obtener el tamaño de la muestra se utilizó la fórmula de proporción Ec. (1), con un nivel de confianza del 90 % y un error de 10 %.

$$n = \frac{NZ^2pq}{e^2(N-1) + Z^2pq} \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde:

- $n$ : tamaño de la muestra
- $N$ : tamaño de la población
- $Z$ : nivel de confianza
- $e$ : grado de error
- $p$ : probabilidad de ocurrencia
- $q$ : probabilidad de no ocurrencia

Datos:

$P=73\%$

$Q=27\%$

$N=30$

$Z=1.645$

$E=0.10$

$$n = \frac{(30)(1.645)^2(.73)(.27)}{(.10)^2(30-1) + (1.645)^2(.73)(.27)}$$

$$n = \frac{16.0007}{0.82335}$$

$$n = 19.43 \text{ recolectores}$$

La población objeto de estudio fueron 30 recolectores de RSU de la ciudad, que representan la totalidad de este personal. Con base en ésta, se realizó un censo por conveniencia en donde se fue

completando la participación al llegar a una muestra representativa de 20 recolectores de acuerdo a la fórmula de proporción.

Para el análisis ergonómico, se utiliza el método REBA el cual consiste en identificar el nivel de riesgo de padecer un TME, mediante un análisis de las posturas que adopta el trabajador; para ello, se divide el cuerpo en dos grupos: grupo A y grupo B. El primer grupo lo componen el tronco, el cuello y las piernas y el grupo B se compone del brazo, el antebrazo y la muñeca (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2015). Las puntuaciones de cada uno de los miembros se suman al final; si la puntuación es igual a 1, significa que el riesgo es inapreciable, si es una puntuación de 2 a 3 puntos quiere decir que hay un riesgo bajo, si la puntuación es de 4 a 7 es un riesgo medio, si hay una puntuación de 8 a 10 significa que hay un riesgo alto por lo cual la actuación es necesaria cuanto antes, si la puntuación es de 11 a 15 puntos existe un riesgo muy alto entonces la actuación debe ser de inmediato (Diego-Mas, 2015).

Por otra parte, también se utiliza la ecuación de NIOSH Ec. (2) para evaluar el levantamiento de cargas, así como levantamiento con agarre no óptimos a través del Índice de Levantamiento (IL), donde podemos identificar aquellos levantamientos de carga que están relacionados con el riesgo de padecer un TME (López *et al.*, 2020).

$$RWL = LC \cdot HM \cdot VM \cdot DM \cdot AM \cdot FM \cdot CM \quad \text{Ec. (2)}$$

**Donde:**

LC = Establecimiento de la constante de carga (*load constant*)

HM = Factor de distancia horizontal (*horizontal multiplier*)

VM = Factor de altura (*vertical multiplier*)

DM = Factor de desplazamiento vertical (*distance multiplier*)

AM = Factor de asimetría (*asymmetric multiplier*)

FM = Factor de frecuencia (*frequency multiplier*)

CM = Factor de agarre (*coupling multiplier*)

$$IL = \text{Peso de la carga} / RWL \quad \text{Ec. (3)}$$

Con la ecuación de NIOSH se determina el cálculo del índice de levantamiento Ec. (3); si el IL de la tarea nos da como resultado una puntuación menor o igual a 1 significa que los trabajadores pueden realizar la actividad sin ocasionarles problemas, si da como resultado entre 1 y 3 significa que algunos trabajadores pueden padecer dolencias o lesiones si realizan esa actividad, y si nos da una puntuación mayor a 3, la tarea ocasionará problemas a la mayoría de los empleados (López *et al.*, 2020).

## Recolección y análisis de datos

Se realizó una serie de observaciones previas con la finalidad de identificar y conocer las variables que estaban implicadas en el estudio. Primero, se reconoció que los camiones que se utilizan para la recolección de RSU son de carga trasera (Fig. 1). Además, se identificaron tres

posturas forzadas: al sujetar y acercar el contenedor al camión recolector, al cargar el contenedor de basura y las posturas que realizan al momento de depositar la basura.



**Figura 1.** Camión recolector utilizado en la ciudad.

**Figure 1.** Collector truck used in the city.

Al momento de observar el método de trabajo se fueron registrando los contenedores más comúnmente utilizados en las viviendas los cuales son, el bote de plástico, el bote de metal, las bolsas chicas y las bolsas grandes; con esta información se realizó un cálculo para obtener la probabilidad de ocurrencia de cada contenedor siendo: 45.1 % para el bote de plástico, 38.5 % para el bote de metal, 7.6 % para las bolsas chicas y 8.6 % para bolsas grandes (Tabla 1).

**Tabla 1.** Cálculo de la probabilidad de ocurrencia de cada contenedor.

**Table 1.** Calculation of the probability of occurrence of each container.

Colonia	Contenedor por vivienda			
	Plástico	Metal	Bolsas	
			G	Ch
Alameda	10	2	1	2
Benito Juárez	8	7	3	2
Francisco Villa	9	8	2	1
Pablo Gómez	8	10	2	2
Linda Vista	9	7	3	2
Flores de Tepeyac	11	6	2	1
Nuevo Delicias	7	9	2	2
Desarrollo Urbano	10	8	2	2
Girasoles	9	10	1	1
Cumbres del Deporte	8	9	3	1
<b>Total</b>	89	76	17	15
<b>Probabilidad</b>	0.451	0.385	0.086	0.076

De acuerdo con los cuatro tipos de contenedores utilizados en la ciudad de Delicias, y su probabilidad de ocurrencia mencionada, se procedió a calcular una muestra estadística (Tabla 2), utilizando la fórmula de proporción infinita, con un nivel de confianza del 90 %, con la finalidad de obtener el peso promedio de los botes que son levantados por los recolectores, determinando que deben ser pesados 67 botes de plástico, 64 botes de metal, 21 bolsas grandes y 19 bolsas chicas.

**Tabla 2.** Cálculo de la muestra.

**Table 2.** Sample calculation.

Plástico	Metal	Bolsas	
		G	Ch
$\frac{(1.65)^2 (.451)(.549)}{(.10)^2}$	$\frac{(1.65)^2 (.385)(.615)}{(.10)^2}$	$\frac{(1.65)^2 (.086)(.914)}{(.10)^2}$	$\frac{(1.65)^2 (.076)(.924)}{(.10)^2}$
<b>67</b>	<b>64</b>	<b>21</b>	<b>19</b>

Al conocer las posturas forzadas a evaluar, se procedió a observar y videografiar los movimientos ejecutados por los recolectores mientras realizaban las labores habituales de la recolección de RSU por las distintas avenidas de la ciudad. Al mismo tiempo, se obtuvo el pesaje de los contenedores de acuerdo con la muestra estadística, para lo cual se utilizó una báscula industrial de la marca Rhino modelo I-PEP.

Posteriormente se aplicó el método REBA, para evaluar las tres posturas con los cuatro contenedores diferentes, y se procedió con la evaluación del índice de levantamiento con la ecuación de NIOSH. Los softwares utilizados se encuentran en la página de ergonautas en la plataforma Ergoniza © (2006), disponible en: <https://www.ergonautas.upv.es/ergoniza/app/index.html>, donde se crea una cuenta para tener acceso a realizar evaluaciones ergonómicas de métodos como: RULA (*Rapid Upper Limb Disorders*), REBA, OWAS (*Osako Working Analysis System*), NIOSH, OCRA (*Occupational Repetitive Action*), entre otros.

Al conseguir las grabaciones de los 20 recolectores y el pesaje completo de los contenedores, se procedió a realizar un análisis de las posturas (Fig. 2), los ángulos corporales fueron calculados a través de fotografías con ayuda del software Angulus (2016), se colocan fotografías de las posturas a analizar, permitiendo calcular los ángulos necesarios para realizar las evaluaciones ergonómicas; en este caso, se estudia la flexión del cuello, piernas, tronco, brazos, antebrazos y muñecas.



**Figura 2.** Ejemplo del análisis de ángulos corporales con el software Angulus. a) Extensión de brazo 43°, b) Flexión del tronco 44°, c) Flexión de antebrazo 51°, d) Flexión del tronco 45°, flexión de pierna 87°, f) flexión de tronco 12°, g) flexión de tronco 52°, h) extensión de brazo 101°.

**Figure 2.** Example of the analysis of body angles with the Angulus software. a) arm extension 43°, b) trunk flexion 44°, c) forearm flexion 51°, d) trunk flexion 45°, leg flexion 87°, f) trunk flexion 12°, g) trunk flexion 52°, h) arm extension 101°.

Después de haber realizado el cálculo de los ángulos, y colocado la información correspondiente para cada método, se creó una base de datos en el programa Excel® (2016), con los resultados y el análisis, colocando la información de manera individual por recolector y por método, para llevar a cabo el cálculo del promedio de pesaje de cada contenedor.

Durante su jornada laboral, los recolectores de RSU manipulan botes y bolsas con diferentes pesos y dimensiones (Fig. 3); en promedio el peso de los contenedores en las viviendas es de  $33.00 \pm 4.10$  kg para el bote de metal (Fig. 3-a),  $17.00 \pm 4.68$  kg para el bote de plástico (Fig. 3-b),  $9.40 \pm 3.42$  kg las bolsas grandes (Fig. 3-c) y  $1.30 \pm 0.34$  kg las bolsas chicas (Fig. 3-d).

De acuerdo con los resultados obtenidos del método REBA para los botes metálicos y de plástico (Tabla 3), se observó que, al girar el bote metálico para colocarlo enfrente del camión recolector, el 70 % de los recolectores presentan un riesgo muy alto y el otro 30 % un riesgo alto. Al cargarlo, el 95 % de los recolectores tienen un riesgo muy alto y el 5 % restante un riesgo alto, las posturas que toman al depositar la basura en el camión representan un nivel de riesgo muy alto para el 75 % de los recolectores y para el 25 % un nivel de riesgo alto. El riesgo que presenta la manipulación del bote de plástico al momento de girarlo, es un riesgo alto para el 70 % de los recolectores y un riesgo medio para el 15 %. Al cargarlo, el 25 % muestran un riesgo muy alto y el otro 75 % un riesgo alto; con respecto a la postura al depositar la basura del bote de plástico, el 5 % de los recolectores presentan un nivel de riesgo medio, el 65 % presentan un riesgo alto y el 30 % un nivel de riesgo muy alto.



**Figura 3.** Contenedores de RSU utilizados en las viviendas de la ciudad.

**Figure 3.** MSW containers used in the city's housing units.

Con respecto a los resultados obtenidos con la ecuación de NIOSH, para el bote metálico y de plástico, tenemos que, al levantar el bote de metal, 11 recolectores presentan un IL mayor a 3, los otros 9 obtuvieron un IL de entre 1 y 3. En cambio, con el bote de plástico, los 20 recolectores dan como resultado un IL entre 1 y 3.

**Tabla 3.** Resultados de la evaluación al manipular contenedores metálicos y de plástico.

**Table 3.** Evaluation results when handling metal and plastic containers.

Recolector	REBA			NIOSH		REBA			NIOSH	
	Bote metálico					Bote de plástico				
	Gira	Carga	Deposita	LPR	IL	Jala	Carga	Deposita	LPR	IL
1	11	13	12	12.62	2.622	9	10	9	10.87	1.618
2	11	11	11	12.61	2.624	10	10	8	9.81	1.792
3	9	10	11	10.85	3.050	8	11	11	11.01	1.597
4	10	11	11	9.9	3.343	9	10	6	10.87	1.618
5	10	12	10	9.29	3.562	9	10	10	9.66	1.820
6	11	13	11	9.04	3.661	10	10	11	8.61	2.042
7	11	12	12	10.43	3.173	11	10	11	13.11	1.341
8	12	12	10	11.52	2.873	11	10	10	9.34	1.883
9	10	11	10	9.71	3.408	8	10	10	10.62	1.656
10	9	12	10	11.02	3.003	9	10	11	9.96	1.765
11	11	12	11	12.83	2.579	11	8	10	11.12	1.581
12	12	13	12	10.36	3.194	10	9	11	12.2	1.441
13	10	13	10	14.4	2.298	8	10	10	11.8	1.490
14	11	12	11	10.36	3.194	7	11	9	11.4	1.542
15	11	12	12	12.67	2.612	6	9	9	11.12	1.581
16	11	13	11	11.5	2.878	8	11	11	11.06	1.590
17	11	12	12	10.76	3.076	8	11	9	9.8	1.794

<b>18</b>	11	12	11	12.97	2.551	7	10	9	10.13	1.736
<b>19</b>	12	12	11	11.01	3.006	10	11	10	9.32	1.887
<b>20</b>	11	12	11	12.83	2.579	9	10	10	11.31	1.555

Por otro lado, el resultado del método REBA para bolsas chicas y grandes (Tabla 4); en la actividad de sujetar las bolsas grandes, el 65 % de los recolectores presentan un nivel de riesgo medio, mientras que el 35 % un riesgo alto; al cargar las bolsas grandes, el 10 % de los recolectores muestran un nivel de riesgo bajo, 75 % un nivel de riesgo medio y el resto un riesgo alto, al depositar la bolsa grande al camión, el 90 % de los recolectores exponen un nivel de riesgo medio y el 10 % representan un riesgo alto. La acción de sujetar las bolsas chicas muestra un nivel de riesgo inapreciable para el 5 % de los recolectores, 20 % un riesgo bajo, 70 % un riesgo medio y el otro 5 % un riesgo muy alto; la variabilidad del nivel de riesgo se debe a donde se encuentran colocadas, ya sea en algún árbol o reja de la vivienda. Al cargar las bolsas chicas, hay un nivel de riesgo inapreciable para el 15 %, un riesgo bajo para el 60 % y un riesgo medio para el 25 % de los recolectores. Cuando son depositadas en el camión, hay un riesgo medio para el 70 %, un riesgo bajo para el 25 % y un riesgo inapreciable para el 5 %. Así mismo, la ecuación de NIOSH para bolsas chicas y grandes, nos da un IL menor a 1, lo que significa ser una actividad que no causará problema a los recolectores.

**Tabla 4.** Resultados de la evaluación al manipular bolsas chicas y grandes.

**Table 4.** Evaluation results when handling small and large bags.

Recolector	REBA			NIOSH		REBA			NIOSH	
	Bolsas grandes					Bolsas chicas				
	Agarrar	Cargar	Soltar	LPR	IL	Agarrar	Cargar	Soltar	LPR	IL
<b>1</b>	7	10	9	12.66	0.742	1	2	3	15.98	0.088
<b>2</b>	7	10	4	14.35	0.655	9	2	5	13.21	0.106
<b>3</b>	8	5	6	12.11	0.776	6	2	2	16.27	0.086
<b>4</b>	8	5	5	11.99	0.784	6	4	4	14.56	0.096
<b>5</b>	9	5	6	14.78	0.636	2	2	1	11.76	0.119
<b>6</b>	7	7	7	10.15	0.926	5	3	4	15.02	0.093
<b>7</b>	6	5	6	15.55	0.605	6	7	3	15.05	0.093
<b>8</b>	7	8	6	15.8	0.595	7	4	4	16.53	0.085
<b>9</b>	7	4	7	15.89	0.592	7	2	6	15.48	0.090
<b>10</b>	8	5	7	10.52	0.894	7	4	7	11.03	0.127
<b>11</b>	4	3	4	14.94	0.629	3	1	3	14.5	0.097
<b>12</b>	9	3	5	13.29	0.707	6	4	4	12.07	0.116
<b>13</b>	8	5	6	14.49	0.649	6	2	4	16.73	0.084
<b>14</b>	7	4	6	16.3	0.577	4	1	6	13.93	0.101
<b>15</b>	7	5	7	14.98	0.628	3	2	4	16.3	0.086
<b>16</b>	6	5	8	15.55	0.605	4	2	4	13.51	0.104



17	7	5	7	13.94	0.674	5	1	6	14.41	0.097
18	8	6	7	13.57	0.693	4	3	5	13.49	0.104
19	5	4	7	15.88	0.592	3	2	3	14.5	0.097
20	7	4	4	13.24	0.710	4	3	4	13.82	0.101

### 3. Discusión

Considerando los resultados de la evaluación del método REBA, la Tabla 5 hace referencia a la parte del cuerpo afectada debido al esfuerzo corporal realizado de manera general por los recolectores. De forma específica, los resultados del presente estudio identificaron que la manipulación del bote de metal afecta principalmente los brazos, hombros, tronco y piernas de los recolectores; mientras que con el bote de plástico existe un sobreesfuerzo en los brazos, hombros, tronco y cuello. Así mismo, con las bolsas grandes de residuos hay sobreesfuerzos en muñecas, antebrazos, cuello, brazos, y tronco; y para el caso de las bolsas chicas, se presenta un riesgo en las muñecas, antebrazos y cuello.

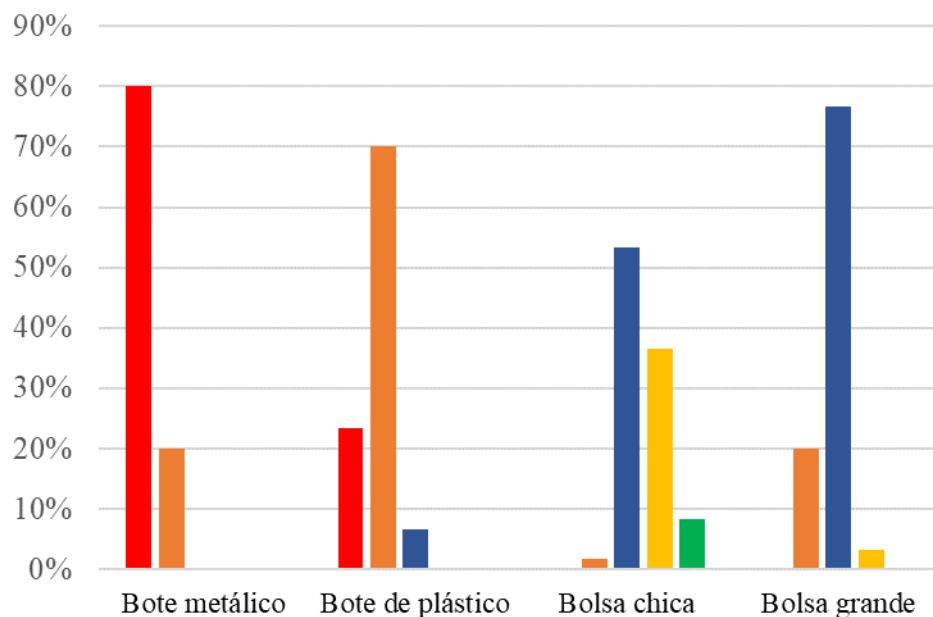
**Tabla 5.** Partes del cuerpo afectadas debido al esfuerzo corporal.

**Table 5.** Parts of the body affected due to bodily effort.

Contenedor	Esfuerzo corporal	Parte del cuerpo afectada
<b>Bote metálico (girar)</b>	Giro y flexión del cuerpo, rotación de brazos	Tronco, brazos y antebrazos
<b>Bote metálico (cargar)</b>	Inclinación y rotación del tronco, flexión de rodillas y antebrazos	Tronco, antebrazos, rodillas
<b>Bote metálico (depositar)</b>	Extensión de brazo, elevación de hombros y flexión de cuello	Brazos, cuello y hombros
<b>Bote de plásticos (girar/arrastrar)</b>	Giro y flexión del cuerpo / extensión de brazo, rotación de brazos	Tronco, brazos y antebrazos
<b>Bote de plásticos (cargar)</b>	Inclinación y rotación del tronco, flexión de rodillas y antebrazos	Tronco, antebrazos, rodillas
<b>Bote de plásticos (depositar)</b>	Extensión de brazo, elevación de hombros y flexión de cuello	Brazos, cuello y hombros
<b>Bolsas grandes (sujetar)</b>	Flexión del tronco, flexión de muñecas	Tronco y muñecas
<b>Bolsas grandes (cargar)</b>	Flexión de antebrazos torsión de muñecas	Antebrazos y muñecas
<b>Bolsas grandes (depositar)</b>	Extensión de brazo, inclinación del cuello y del cuerpo	Brazos, cuello y tronco
<b>Bolsas chicas (sujetar)</b>	Elevación de hombros o flexión del tronco	Hombros o tronco
<b>Bolsas chicas (cargar)</b>	Flexión de antebrazos, torsión de muñecas	Antebrazos y muñecas
<b>Bolsas chicas (depositar)</b>	Extensión de brazo, inclinación del cuello, extensión de muñecas	Brazos, cuello y muñecas

De forma general, el riesgo predomina en los hombros, cuello, brazos, piernas, tronco y muñecas. Un estudio realizado a recolectores en Vietnam muestra que la espalda baja resultó ser el sitio más afectado, seguido por el cuello y hombros (Nguyen *et al.*, 2020). Otra investigación, identifica que el riesgo más significativo se encuentra en los brazos con un 80.6 %, muñecas/manos con un 74.2 %, y espalda con un 67.7 % (Tuesca-Armijos, 2020). Un estudio realizado en España, sobre el desarrollo de secuelas en el hombro, señala que el 51.6 % de los trabajadores de limpieza presentan molestias en los hombros, aumentando el dolor en esta zona debido a las posturas forzadas y a los movimientos repetitivos (López *et al.*, 2021).

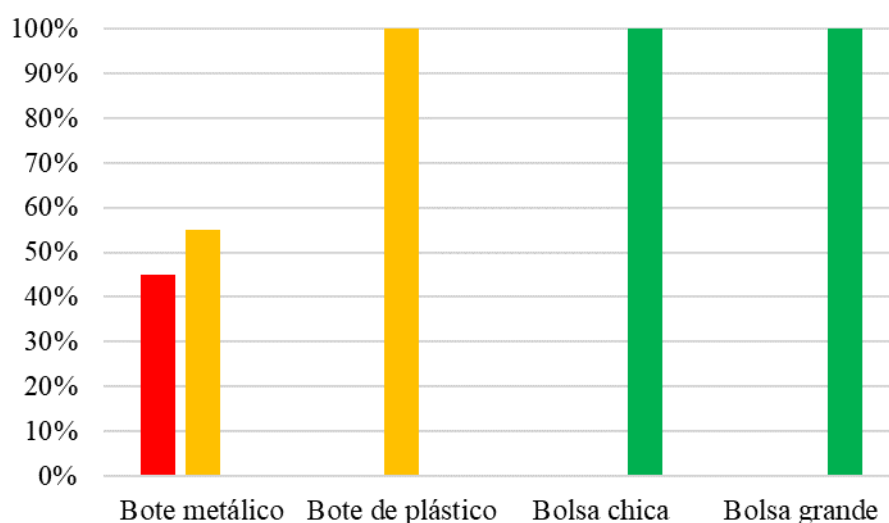
De acuerdo con los resultados obtenidos, se pudo observar que la manipulación del bote de metal provoca que los recolectores presenten un 80 % de riesgo muy alto y un 20 % de riesgo alto de padecer o desarrollar un TME, debido a las posturas inadecuadas que realizan. Con respecto a los resultados con los botes de plástico, se demostró que el 23.3 % de los recolectores presentan riesgo muy alto, el 70 % riesgo alto y 6.7 % riesgo medio. Estos resultados coinciden con los niveles de riesgo en estudios similares; un estudio en Nigeria mostró que el 26.7 % de los recolectores de residuos estaban en alto riesgo y el 66.7 % tenían un riesgo muy alto para el desarrollo de TME (Tuesca-Armijos, 2020). Por otra parte, un trabajo realizado en Yucatán, México dio como resultado que el 31.7 % de trabajadores obtuvieron un riesgo muy alto y el 48.8 % presentó un riesgo alto (Rodríguez *et al.*, 2021). Por otro lado, el riesgo de las bolsas chicas es de 53.3 % riesgo medio, 36.7 % de riesgo bajo y 8.3 % de riesgo inapreciable; mientras que, la manipulación de bolsas grandes presenta un 20 % de riesgo alto, 76.7 % de riesgo medio y 3.3 % de riesgo bajo (Fig. 4).



**Figura 4.** Nivel de riesgo postural por tipo de contenedor. ■ Riesgo muy alto, ■ riesgo alto, ■ riesgo medio, ■ riesgo bajo, ■ riesgo inapreciable.

**Figure 4.** Level of postural risk by type of container. ■ Very high risk, ■ high risk, ■ medium risk, ■ low risk, ■ negligible risk.

Los resultados obtenidos con la ecuación de NIOSH, para evaluar el índice de levantamiento de los cuatro contenedores muestran que, al levantar el bote de metal, el 55 % de los recolectores obtuvieron un riesgo elevado, el otro 45 % un riesgo moderado; mientras que el bote de plástico presenta un riesgo moderado para el 100 % de los recolectores; las bolsas chicas y las bolsas grandes tienen un nivel de riesgo aceptable para el 100 % de los recolectores (Fig. 5). Algunos estudios que han utilizado esta misma ecuación para evaluar la tarea de los recolectores de residuos muestran resultados similares; en la ciudad de Huaquillas, Ecuador, se realizó un estudio a 31 empleados, tanto hombres como mujeres entre 18 a 65 años; dando como resultado que 61.3 % de los recolectores tienen un riesgo elevado y el otro 38.7 % un riesgo moderado de padecer o desarrollar trastornos músculo-esqueléticos (Tuesca-Armijos, 2020).



**Figura 5.** Resultado del índice de levantamiento (IL) de los contenedores de basura. ■ Riesgo elevado, ■ Riesgo moderado, ■ Riesgo aceptable.

**Figure 5.** Result of the lifting index (IL) of the garbage containers. ■ High risk, ■ Moderate risk, ■ Acceptable risk

El levantamiento constante de cargas es un factor que influye en el desarrollo de TME; por lo tanto, los recolectores de RSU tienen un mayor riesgo de sufrir complicaciones dada la naturaleza del trabajo. Debido a que el riesgo mayor predomina en los hombros, cuello, brazos, piernas, tronco y muñecas, algunos TME que potencialmente podrían experimentar los recolectores de basura por las posturas inadecuadas son: el síndrome cervical por tensión, tortícolis, trocanteritis, rotura del tendón de Aquiles, lumbalgia, hernia discal, tendinitis del manguito de los rotadores, entre otros (Fundación Estatal para la Prevención de Riesgos Laborales, 2019).

## 4. Conclusiones

Los resultados obtenidos por ambos métodos dan como resultado que el contenedor de metal representa un mayor riesgo para desarrollar trastornos músculo esqueléticos en los

trabajadores recolectores de basura de la ciudad de Delicias, Chihuahua, México. Estas lesiones pueden ser principalmente en hombros, cuello, brazos, piernas, tronco o muñecas, debido al esfuerzo físico que implica para realizar sus labores diarias.

Por lo tanto, los contenedores de metal son inadecuados para que la ciudadanía los siga utilizando en el desecho de sus residuos; los botes de plástico son una alternativa para sustituirlos gradualmente. Además, considerando lo que establece la ecuación de NIOSH con respecto al peso máximo de carga, que es de 23 kg, siempre y cuando se utilice en las condiciones adecuadas, se puede concluir que el bote de plástico es un contenedor adecuado para depositar los RSU siendo su peso promedio  $17.00 \pm 4.68$  kg.

Si las condiciones a las que se enfrentan los recolectores de basura de la ciudad, no cambian o mejoran, éstos podrían desarrollar algún TME que afectaría su salud y calidad de vida. Sin embargo, el riesgo de estos padecimientos puede disminuir con la implementación de medidas de carácter preventivo y técnico que garanticen la seguridad y salud de los trabajadores. Para esto, se requiere el apoyo por parte de la ciudadanía, el gobierno y la empresa dedicada a la recolección de RSU, la cual debe brindar capacitación necesaria, así como el equipo de protección personal adecuado para los trabajadores.

## Agradecimientos

Agradecemos la colaboración de los recolectores de la ciudad de Delicias, Chihuahua, México y a la empresa encargada por su disponibilidad para la realización de este estudio.

## Conflicto de interés

Los autores de este artículo declaran no tener ningún conflicto de interés

## 5. Referencias

- attini, D., Botti, L., Mora, C. & Sgarbossa, F. (2018) Ergonomics and human factors in waste collection: analysis and suggestions for the door-to-door method. IFAC 51(11): 838-843. <https://doi.org/10.1016/j.ifacol.2018.08.443>
- Cañas, J. (2015) Ergonomía en los sistemas de trabajo. Grana, España. Secretaria de Salud Laboral de la UGT-CEC. <https://www.virtualpro.co/biblioteca/ergonomia-en-los-sistemas-de-trabajo>
- CENEA. Método de evaluación ergonómica reba: grandes riesgos de su incorrecta aplicación. CENEA, la ergonomía laboral del siglo XXI (2021). <http://bit.ly/40nWMKc>
- Defelippe, L. (2014). Las lesiones osteomioarticulares más frecuentes en recolectores de residuos (Tesis de grado, Universidad FASTA). [http://redi.ufasta.edu.ar:8082/jspui/bitstream/123456789/636/2/2014\\_K\\_017.pdf](http://redi.ufasta.edu.ar:8082/jspui/bitstream/123456789/636/2/2014_K_017.pdf)

- Diego-Mas, J.A. (2015). Evaluación postural mediante el método REBA. Ergonautas, Universidad Politécnica de Valencia. <https://www.ergonautas.upv.es/metodos/reba/reba-ayuda.php>
- Fundación Estatal para la Prevención de Riesgos Laborales. (2019). Trastornos Musculo esqueléticos. <http://bit.ly/40xw9CG>
- Grooten, W. & Johansson, E. (2018). Observational Methods for Assessing Ergonomic Risks for Work-Related musculoskeletal disorders. A Scoping Review. Revista Ciencias de la Salud 16(especial): 8-38. <https://doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/revsalud/a.6840>
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. (2015). Posturas de trabajo: evaluación del riesgo. INSHT. <http://bit.ly/3YhVE96>
- Junta de Castilla y León. (2019). Trastornos músculo-esqueléticos. Revista de Prevención de Riesgos Laborales de Castilla y León 11: 28-67. <http://bit.ly/3IF48Ss>
- López, M., Ramírez, E., Naranjo, A., Velarde, J., Rodríguez, I. & Chacara, A. (2020). Programa para la prevención de trastornos musculoesqueléticos. Editorial externa. ISBN 978-607-437-516-9. <http://bit.ly/3IEveQH>
- López, M., Valle, M. & Fausto, J. (2021). Condiciones laborales y riesgos para la salud en recolectores de basura. Revista Colombiana de Salud Ocupacional 11(1): 34-41. <https://doi.org/10.18041/2322-634X/rcso.1.2021.5898>
- Navas, E. (2018). Ergonomía 2ª ed. Editorial ICB, Malaga. ISBN 1512968889.
- Nguyen, B. V., Tran, T. T., Hoang, N. T., Nguyen, B. N. & Nguyen, Q. T. (2020). Musculoskeletal Pain and Work-related Risk Factors among Waste Collectors in Hanoi, Vietnam: A Cross-sectional Study. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences 8(E): 498-508. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2020.4866>
- Organización Internacional del Trabajo (2019). Seguridad y Salud en el centro del trabajo. Primera edición. <https://www.oitcinterfor.org/node/7564>
- Organización Mundial de la salud. (2022). Musculoskeletal conditions. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/musculoskeletal-conditions>
- Parrillas, S. & Pérez, F. (2019). Perfil de salud ocupacional y factores asociados en recolectores de basura de la ciudad de León, en el período febrero-marzo 2019 (Tesis de grado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, UNAN-LEON). <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/8139>
- Rissetto, M., Jaromezuk, A., Vives, H., Balgac, J., Vives, A. & Guerra, W. (2010). La recolección de los residuos sólidos urbanos mediante camiones y las consecuencias físicas que padecen sus operarios. Rumbos Tecnológicos 2: 111-126. <http://bit.ly/3ID84mZ>
- Rodríguez, M., Couoh, A., Hijuelos, N., Pérez, E. & Barrero, V. (2021) Nivel de riesgo postural para trastornos musculoesqueléticos asociado a la actividad laboral en recolectores de residuos yucatecos. Ciencia y Humanismo en la Salud 8(1): 27-37. <https://revista.medicina.uady.mx/revista/index.php/cienciayhumanismo/article/view/163>

- Rodriguez-Blanes, G., Lobato-Cañón, J., Sánchez-Payá, J., Ausó-Pérez, J. & Cardona-Llorens, A. (2020). Influencia de las medidas preventivas ergonómicas en el desarrollo de secuelas por patología no traumática del hombro. *Archivos de Prevención de Riesgos Laborales* 23(2): 196-210. <https://doi.org/10.12961/apr1.2020.23.02.06>
- Vázcones-Illapa R., Tuesca-Armijos, R. (2020). Prevalencia de trastornos musculoesqueléticos y riesgo ergonómico en el personal que realiza recolección de desechos sólidos (Tesis de grado, Universidad Internacional SEK). <http://repositorio.uisek.edu.ec/handle/123456789/3675>
- Vidal, J. (2020). Propuesta de una norma técnica en seguridad y salud ocupacional para trabajos de recolección de residuos sólidos municipales (Tesis de grado, Universidad Tecnológica de Perú). <https://hdl.handle.net/20.500.12867/3418>
- World Health Organization. Musculoskeletal Conditions. (2021). <http://bit.ly/3JzH8Wa>
- Yang, C.L., Huang, W.P., Lin, W.Y., Tseng, P.C. & Kuo, H.W. (2022). Job-related stress associated with work-related upper extremity musculoskeletal disorders (UEMDs) in municipal waste collectors: the moderation and mediation effect of job support. *BMC Musculoskelet Disord* 23: 762. <https://doi.org/10.1186/s12891-022-05721-y>
- Yussouff, A., Adedeji, K. & Ismaila, S. (2017). Ergonomic Analysis of Worker Postures in Waste Collection Job. *International Journal of Management and Sustainability* 6(3): 47-53. <https://doi.org/10.18488/journal.11.2017.63.47.53>

2023 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

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



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

Artículo Científico

# Geles covalentes de arabinosilanos ferulados inducidos con lacasa o peroxidasa: estructuras de entrecruzamiento, características reológicas y actividad antioxidante

Covalent gels of ferulated arabinosylans induced with laccase or peroxidase: cross-linking structures, rheological characteristics and antioxidant activity

Nedie S. Chávez-Gutiérrez<sup>1</sup>, Karla G. Martínez-Robinson<sup>1\*</sup>, Rafael Canett-Romero<sup>3</sup>, María D. Figueroa-Pizano<sup>1</sup>, Alma C. Campa-Mada<sup>1</sup>, Yubia B. De Anda-Flores<sup>1</sup>, Jorge A. Marquez-Escalante<sup>1</sup>, Agustín Rascón-Chu<sup>2</sup>, Elizabeth Carvajal-Millan<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Biopolímeros, CTAOA. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carretera Gustavo Enrique Astiazarán Rosas No. 46, Hermosillo, Sonora, México. CP 83304. Tel. (662) 289 2400.

<sup>2</sup> Biotecnología, CTAOV. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carretera Gustavo Enrique Astiazarán Rosas No. 46, Hermosillo, Sonora, México. CP 83304. Tel. (662) 289 2400.

<sup>3</sup> Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad de Sonora. Blvd. Luis Encinas y Av. Rosales. Hermosillo, Sonora, México. CP. 83000

\*Correspondencia: karlagm@ciad.mx (Karla G. Martínez-Robinson), ecarvajal@ciad.mx (Elizabeth Carvajal-Millan)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v17i1.1099>

Recibido: 11 de noviembre de 2022; Aceptado: 14 de abril de 2023

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

## Resumen

Los arabinosilanos ferulados (AX) forman geles covalentes por acoplamiento oxidativo del ácido ferúlico (AF) generando dímeros (di-AF) y trímeros de AF como estructuras de entrecruzamiento. En esta investigación se estudió el efecto de la gelificación de AX inducida con lacasa o peroxidasa, sobre las estructuras de entrecruzamiento, las características reológicas y la actividad antioxidante de los geles desarrollados. Los geles de AX al 2% (p/v) formados con peroxidasa registraron valores mayores de di-AF (0.195 µg/g) y módulo elástico (94 Pa) respecto a los obtenidos con lacasa (0.153 µg/g y 79 Pa, respectivamente). Además, los geles inducidos con peroxidasa presentaron mayor actividad antioxidante (13.21 y 3.3 µmol de TEAC/g muestra por método ABTS+ y DPPH, respectivamente) en relación con los generados con lacasa (9.63 y 3.0 µmol de TEAC/g muestra por

método ABTS+ y DPPH, respectivamente), lo cual podría atribuirse al mayor contenido de di-AF 8-5' y 5-5'. Es posible que las diferencias entre estos geles estén relacionadas con el mecanismo de acción de las enzimas utilizadas. La lacasa oxida directamente al AF en AX mientras que, con peroxidasa, el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> realiza esta acción y, por su bajo peso molecular, podría acceder más fácilmente al AF del polisacárido, favoreciendo su entrecruzamiento.

**Palabras clave:** Arabinoxilanos ferulados, lacasa, peroxidasa, geles, caracterización

## Abstract

Ferulated arabinoxylans (AX) form covalent gels by oxidative coupling of ferulic acid (FA) generating dimers (di-FA) and FA trimers as crosslinking structures. In this investigation, the effect of AX gelation induced with laccase or peroxidase on the cross-linking structures, rheological characteristics and antioxidant activity of the developed gels was studied. The 2% (w/v) AX gels formed with peroxidase registered higher values of di-FA (0.195 µg/g) and elastic modulus (94 Pa) compared to those obtained with laccase (0.153 µg/g and 79 Pa, respectively). In addition, the gels induced with peroxidase presented higher antioxidant activity (13.21 and 3.3 µmol of TEAC/g sample by the ABTS+ and DPPH method, respectively) in relation to those generated with laccase (9.63 and 3.0 µmol of TEAC/g sample by the ABTS+ method and DPPH, respectively), which could be attributed to the higher content of di-FA 8-5' and 5-5'. It is possible that the differences between these gels are related to the mechanism of action of the enzymes used. Laccase directly oxidizes FA in AX while, with peroxidase, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> performs this action and, due to its low molecular weight, could more easily access the FA of the polysaccharide, favoring its crosslinking.

**Keywords:** Ferulated arabinoxylans, laccase, peroxidase, gels, characterization

## 1. Introducción

Los arabinoxilanos ferulados (AX) son polisacáridos presentes en diversos cereales, tanto en pericarpio y aleurona como en endospermo. En los últimos años se ha acrecentado el interés por los AX y sus derivados ya que se han asociado con efectos benéficos a la salud como antioxidantes (Malunga y Beta, 2015), prebióticos (Marquez-Escalante *et al.*, 2018), inmunoestimulantes (Mendis *et al.*, 2016), reguladores de glucosa y colesterol (Vogel *et al.*, 2012) y agentes antiproliferativos (Melo-Silveira *et al.*, 2019).

Una característica importante de los AX es su capacidad para producir geles por entrecruzamiento de sus cadenas poliméricas mediante acoplamiento oxidativo del ácido ferúlico (AF) por vía enzimática. Las enzimas lacasa y peroxidasa inducen la formación de dímeros (di-AF) y trímeros (tri-AF) de AF. Estos entrecruzamientos covalentes en la red polimérica proporcionan a los geles de AX características particulares como ser poco afectados por cambios de temperatura, fuerza iónica o pH. Debido a lo anterior, a estos geles se les atribuye un gran potencial de aplicación como matrices para la liberación controlada de biomoléculas en la industria alimentaria, biomédica y biotecnológica (Knudsen y Lærke, 2010; Mendez-Encinas *et al.*, 2018).

Las características estructurales de los AX están relacionadas con su fuente y definen las propiedades de los geles formados; por ejemplo, los AX de maíz presentan un mayor contenido de AF que los AX



de trigo y por lo tanto forman geles con un contenido más alto de di-AF comparado con geles de AX de trigo (Niño-Medina *et al.*, 2010). En este sentido, una fuente importante para la obtención de los AX es el residuo obtenido de la producción de bioetanol de maíz llamado granos secos de destilería con solubles (Dried distillers grains with solubles, DDGS) (Fierro-Islas *et al.*, 2018). Este subproducto de maíz es de bajo costo y destinado principalmente a la alimentación de animales por lo que su uso como fuente de AX representa una alternativa interesante para otorgarle valor agregado y aumentar la sustentabilidad de la producción de bioetanol de maíz (Mendez-Encinas *et al.*, 2018).

Respecto a la gelificación de los AX, se ha reportado que el tipo de agente entrecruzante utilizado tiene un efecto en las propiedades de los geles formados (Martínez-López *et al.*, 2019). Sin embargo, no existe información suficiente que permita comparar el efecto de distintas enzimas en la gelificación de AX con diferentes características. En este sentido es necesario generar nuevo conocimiento sobre el efecto de la relación entre estructura de AX, enzima entrecruzante y características de los geles de AX formados. Por otro lado, se ha encontrado que, en general, la actividad antioxidante de los AX disminuye al formar un gel debido al acoplamiento oxidativo del AF que origina los di-AF y tri-AF, lo cual implica una reducción en el contenido de AF en el gel (Mendez-Encinas *et al.*, 2019a). No obstante, no se conoce aún el efecto de la formación de geles de AX con distinta enzima entrecruzante sobre la actividad antioxidante de estos materiales.

Por lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente trabajo de investigación es estudiar el efecto del tipo de agente entrecruzante (lacasa o peroxidasa) sobre las estructuras de entrecruzamiento, las características reológicas y la actividad antioxidante de AX.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1 Fuente de Obtención de los AX

Se utilizaron AX extraídos de un subproducto de la producción de bioetanol de maíz, los granos secos de destilería con solubles (DDGS), de acuerdo con el método reportado por Mendez-Encinas *et al.* (2019a). Los AX se extrajeron mediante hidrólisis alcalina con NaOH 0.5 N (25 °C, 2 h). Los sólidos se eliminaron por filtración (20-25 µm) y el filtrado se centrifugó a 12,096 g a 20 °C por 15 min (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA). El sobrenadante se acidificó a pH 4 con HCl 3N. El líquido acidificado se centrifugó (12,096 g a 20 °C por 15 min), el sobrenadante se precipitó en etanol al 65% (v/v) a 4 °C y se secó por intercambio de solventes (Mendez-Encinas *et al.*, 2019a). La muestra seca se definió como arabinosilanos ferulados (AX). El rendimiento de los AX se calculó en porcentaje (% peso seco AX/peso seco DDGS) de acuerdo con la fórmula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \left( \frac{g \text{ AX}}{g \text{ DDGS}} \right) \times 100\%$$

## 2.2 Caracterización de los AX

### Identidad molecular

Se utilizó espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) (Nicolet iS50 FTIR, Nicolet Instrument Corp., Madison, WI, EUA) con reflectancia total atenuada (ATR), en modo de absorbancia de 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  y 4  $\text{cm}^{-1}$  de resolución, siguiendo el procedimiento reportado por De Anda-Flores *et al.* (2020).

### Contenido de azúcares neutros

El contenido de azúcares neutros se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), de acuerdo con la metodología establecida por Carvajal-Millan *et al.* (2007). La muestra de polisacárido se sometió a una hidrólisis con ácido trifluoroacético 4N a 120 °C durante 2 h, utilizando manitol como estándar interno. La reacción se detuvo con hielo y el extracto fue evaporado a 50 °C y enjuagado dos veces con 200  $\mu\text{L}$  de agua Milli-Q. El extracto evaporado fue solubilizado en 1 mL de agua ultrapura y se filtró utilizando un tamaño de poro de 0.45  $\mu\text{m}$ , (Whatman, Maidstone, Reino Unido). Se utilizó un equipo de CLAR (Waters e2695 Separation Module, Milford, EUA) con un detector de índice de refracción (Waters 2414, Milford, EUA). La muestra se inyectó en una columna CH Pb (7.8 x 300 mm, Waters, Milford, MA, EUA) y se utilizó una elución isocrática con agua a un flujo de 0.4 mL/min a 70 °C.

### Contenido de AF, di-AF y tri-AF

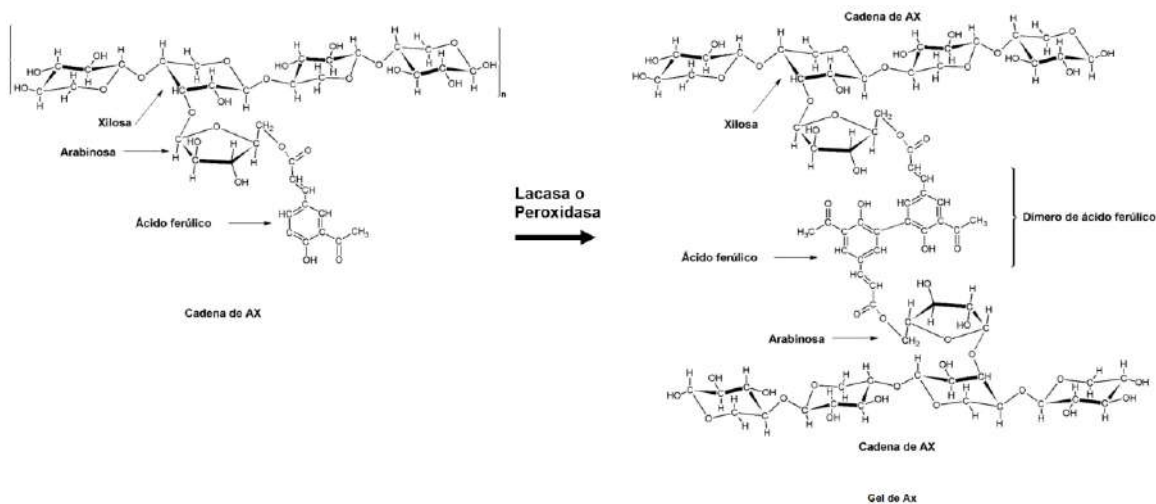
La cuantificación de AF, di-AF y tri-AF en AX se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (CLAR-FR), de acuerdo con Vansteenkiste *et al.* (2004). A 100 mg de AX se agregaron 10 mL de NaOH 2N y la mezcla se mantuvo en agitación a 100 rpm y 25 °C (KS 3000 ic control, IKA, NC, EUA) durante 2 h en atmósfera de nitrógeno y ausencia de luz. Posteriormente, la mezcla se neutralizó con 1 mL de HCl 2N. Después se agregaron 5 mL de éter etílico, se centrifugó a 1000 g, 20 °C y 5 min, y el sobrenadante se recuperó en ausencia de luz. Nuevamente, la muestra se trató con 5 mL de éter etílico, se centrifugó y se recuperó siguiendo el procedimiento anteriormente descrito. El sobrenadante recuperado fue evaporado a 35 °C bajo flujo de nitrógeno y el concentrado se resuspendió en 1 mL de mezcla agua:metanol:ácido acético (60:30:10 v/v) y se filtró (0.45  $\mu\text{m}$ , Whatman, Maidstone, Reino Unido). Los extractos se inyectaron en una columna Altima C18 (250mm x 4.6 mm, Alltech Associates, Inc., Deerfield, EUA) colocada en un equipo CLAR (Waters e2695 Separation Module, Milford, EUA) acoplado un detector de arreglo de diodos (Waters 2998, Milford, EUA) a una longitud de onda de 320 nm.

## Viscosidad intrínseca y peso molecular viscosimétrico

La viscosidad intrínseca  $[\eta]$  de los AX fue determinada mediante viscosimetría capilar con temperatura controlada utilizando un capilar Ubbelohde mediante el método de Mead, Kraemer y Fouss (Carvajal-Millan *et al.*, 2007).

### 2.3 Gelificación de AX

La formación de geles de AX se llevó a cabo por el método enzimático (Fig. 1) utilizando lacasa de *Trametes versicolor* (E.C.1.10.3.2) o peroxidasa de rábano (E.C.1.11.1.7). Se preparó una dispersión de AX al 2% (p/v) en una solución reguladora de citrato-fosfato 0.5 M a pH 5. Los geles de AX formados con lacasa se prepararon agregando 0.1 U de enzima por mg de AX, mientras que para los geles inducidos con peroxidasa se añadió 0.1 U por mg de AX y 1.5  $\mu\text{mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  por mg AX (Martínez-López *et al.*, 2019).



**Figura 1.** Esquema representativo que describe la gelificación de AX por vía enzimática.

**Figure 1.** Representative scheme describing the gelation of AX by the enzymatic route.

Fuente: Modificado a partir de Mendez-Encinas *et al.* (2019a).

### Contenido de AF, di-AF y tri-AF en los geles

La cuantificación de AF, di-AF y tri-AF en los geles de AX se realizó mediante CLAR-FR (Vansteenkiste *et al.*, 2004). A 100 mg de gel previamente liofilizado (Freezone 6 Labconco, Kansas, Missouri, EUA) por 24 h a  $-37\text{ }^{\circ}\text{C}$  y 0.133 mbar se agregaron 10 mL de NaOH 2N. La muestra se mantuvo en agitación (100 rpm, 2h, 25  $^{\circ}\text{C}$ ) (KS 3000 ic control, IKA, NC, EUA) en atmósfera de nitrógeno y ausencia de luz. La mezcla se neutralizó (1 mL de HCl 2N), se agregaron 5 mL de éter

etílico, se centrifugó a 1000 g, 20 °C y 5 min, y el sobrenadante se recuperó en ausencia de luz. Se agregó de nuevo 5 mL de éter etílico y se repitió la centrifugación y recuperación de sobrenadante. Los sobrenadantes recuperados fueron evaporados a 35 °C bajo flujo de nitrógeno y el concentrado se resuspendió en 1 mL de mezcla agua:metanol:ácido acético (60:30:10 v/v) y se filtró (0.45 µm, Whatman, Maidstone, Reino Unido). Los filtrados se inyectaron en una columna Altima C18 (250mm x 4.6 mm, Alltech Associates, Inc., Deerfield, EUA) en un equipo CLAR (Waters e2695 Separation Module, Milford, EUA) acoplado un detector de arreglo de diodos (Waters 2998, Milford, EUA) a una longitud de onda de 320 nm.

## Reología

La cinética de formación de los geles de AX al 2% (p/v) fue estudiada mediante reología dinámica oscilatoria de baja deformación utilizando un reómetro Discovery HR-2 (TA Instruments, New Castle, EUA), de acuerdo con el procedimiento reportado por Vansteenkiste *et al.* (2004). El módulo elástico ( $G'$ ) y viscoso ( $G''$ ) se registró durante 1 h a 25 °C. Se utilizó una frecuencia de 1 Hz y un porcentaje de deformación del 10%. Una vez formados los geles se les aplicó un barrido de frecuencia de 1 a 10 Hz con 10% de deformación a 25 °C, así como un barrido de deformación de 0.1 a 25% a 1 Hz y 25 °C.

## FT-IR de los geles

Se utilizó espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) (Nicolet iS50 FT-IR, Nicolet Instrument Corp., Madison, WI, EUA) utilizando reflectancia total atenuada (ATR), en modo de absorbancia de 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  y 4  $\text{cm}^{-1}$  de resolución, siguiendo el procedimiento reportado por De Anda-Flores *et al.* (2020). Los geles analizados fueron previamente liofilizados (Freezone 6 Labconco, Kansas, Missouri, EUA) por 24 h a -37 °C y 0.133 mbar.

## 2.4 Actividad Antioxidante de AX y geles de AX

La actividad antioxidante *in vitro* de AX y sus geles formados vía lacasa o peroxidasa fue analizada utilizando los métodos ABTS<sup>+</sup> y DPPH. La dispersión de AX se preparó en agua en el rango de 0 a 5 mg/mL mediante agitación en placa durante 12 h a 25 °C. Para la evaluación de los geles estos fueron liofilizados (Freezone 6 Labconco, Kansas, Missouri, EUA) por 24 h a -37 °C y 0.133 mbar. La dispersión de los geles liofilizados se preparó en agua a 5 mg/mL utilizando un homogeneizador ultrasónico (JY92-IIDN, Hinotek, Shanghai, China) a 25 °C, 50 impulsos y 30% de potencia durante 5 min. Se tomaron 400 µl de cada una de las dispersiones y se añadieron 350 µl de metanol y se agitaron manualmente para su posterior análisis.

El método ABTS<sup>+</sup> se utilizó de acuerdo con lo reportado anteriormente (Rosa *et al.*, 2013; Re *et al.*, 1999). Se utilizaron dispersiones de AX a diferentes concentraciones (0-5 mg/mL). La absorbancia de la muestra y la mezcla de reactivos ABTS<sup>+</sup> se midieron a una longitud de onda de 734 nm en un espectrofotómetro (Cary 60, Agilent, Santa Clara, EUA) a los 7, 15, 21 y 60 min. Los resultados se reportaron como µmol de Trolox por gramo de muestra (µmol TEAC/g muestra). Se utilizó una curva dosis-respuesta de Trolox de (1-20 µg/mL) para determinar la actividad antioxidante de las muestras.

La actividad antioxidante por el método DPPH se midió de acuerdo con el método descrito por Malunga y Beta (2015). Se utilizaron dispersiones de AX a diferentes concentraciones (0–2000 µg/mL). Se preparó una solución de DPPH 45 µM (1.8 mg de DPPH en 30 mL de metanol). Posteriormente, se añadieron 20 mL de agua y se almacenaron en la oscuridad hasta su uso. Se tomaron alícuotas de 400 µL de solución de AX y se mezclaron con 350 µL de metanol absoluto. Luego se añadieron 750 µL de solución DPPH a la mezcla, se agitaron y se mantuvieron en la oscuridad. Las mediciones se realizaron a los 40 y 60 min a una absorbancia de 515 nm usando un espectrofotómetro (Cary 60, Agilent, Santa Clara, EUA). La actividad antioxidante se calculó mediante una curva dosis-respuesta de Trolox (0–15.0 µg/mL) y los resultados se expresaron como µmol de TEAC/g de muestra.

## 2.5 Análisis Estadístico

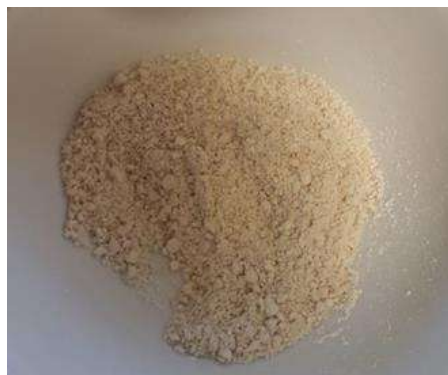
Los resultados fueron expresados como medias y desviación estándar de tres repeticiones. Se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) con nivel de significancia de 0.05 ( $p < 0.05$ ), y una comparación por Tukey-Kramer (Software NCSS versión 2021).

## 3. Resultados y discusión

### 3.1 Extracción y Caracterización de AX

El rendimiento de extracción de AX a partir de DDGS fue de 3.5%, siguiendo la metodología de Carvajal-Millan *et al.* (2007). El polisacárido se obtuvo en forma de un polvo fino como se muestra en la Fig. 2. El porcentaje de extracción con 2 h de hidrólisis alcalina fue mayor que lo reportado en investigaciones previas con tiempos de 15, 30 y 60 min (De Anda-Flores *et al.*, 2020; Marquez-Escalante *et al.*, 2019; Mendez-Encinas *et al.*, 2018).

Las características macromoleculares de los AX obtenidos se presentan en el Tabla 1. Los AX presentaron una proporción arabinosa/xilosa (A/X) de  $0.60 \pm 0.03$ , lo cual indica que la estructura del polisacárido se encuentra moderadamente ramificada con arabinosas. El contenido de AF fue de  $5.0 \pm 0.4$  (µg/g AX), menor al reportado en investigaciones previas con tiempos más cortos de hidrólisis alcalina (De Anda-Flores *et al.*, 2020; Mendez-Encinas *et al.*, 2018). No fueron detectados di-AF ni tri-AF en el polisacárido a diferencia de otras investigaciones, donde se ha reportado la presencia de los di-AF 5-5', 8-5' y 8-O-4' (Marquez-Escalante *et al.*, 2019; Mendez-Encinas *et al.*, 2019 a, b). Estas diferencias se pueden atribuir al tiempo más prolongado de hidrólisis alcalina (2 h) del presente estudio, en comparación con tiempos más cortos (15, 30 y 60 min) utilizados en investigaciones previas, ya que el grado de saponificación de los enlaces éster entre AF y arabinosas es mayor al aumentar el tiempo de exposición a pH alcalino.



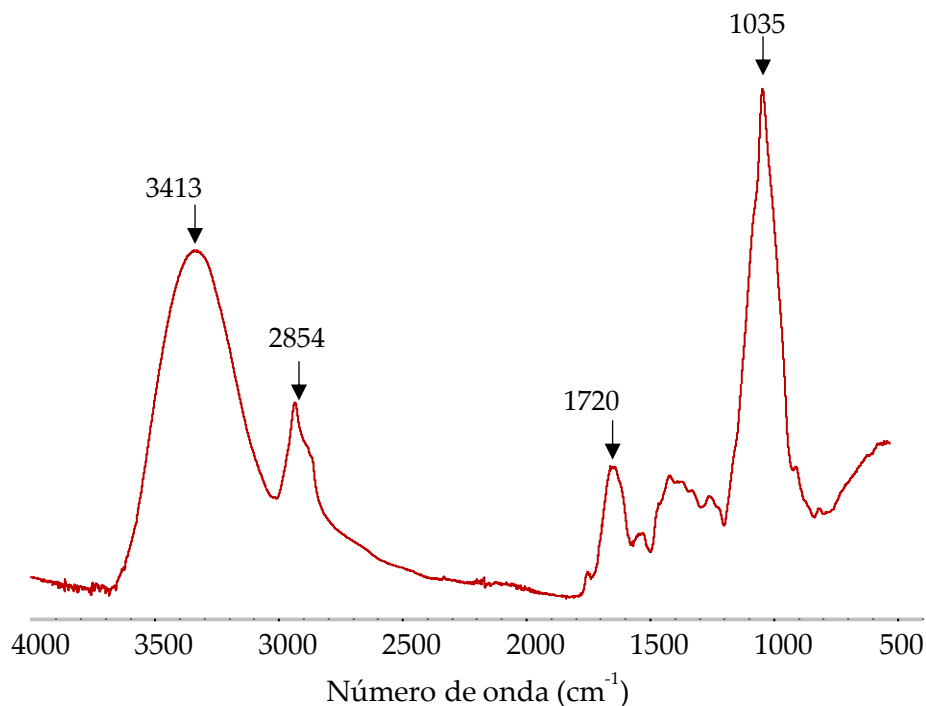
**Figura 2.** AX extraídos de DDGS.  
**Figure 2.** AX extracted from DDGS.

**Tabla 1.** Características macromoleculares de AX extraídos de DDGS.  
**Table 1.** Macromolecular characteristics of AX extracted from DDGS.

<b>Característica</b>	<b>Valor</b>
Proporción A/X	$0.60 \pm 0.03$
Ácido ferúlico ( $\mu\text{g/g}$ AX)	$5.0 \pm 0.4$
di-AF ( $\mu\text{g/g}$ AX)	Nd
tri-AF ( $\mu\text{g/g}$ AX)	Nd
Viscosidad intrínseca $[\eta]$ (mL/g)	$114 \pm 13$
Peso molecular viscosimétrico (Mv) kDa	$368 \pm 35$

Nd: no detectado. Valores medios de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

El espectro FT-IR de los AX se muestra en la Fig. 3 donde se observa una región característica para este polisacárido entre 1200 y 800  $\text{cm}^{-1}$ . La banda principal centrada en 1035  $\text{cm}^{-1}$  ha sido anteriormente asignada a la flexión C-OH con un pequeño hombro 995  $\text{cm}^{-1}$  relacionado con el estiramiento C-O-C antisimétrico del enlace glucosídico  $\beta(1-4)$  de las xilosas que forman la cadena principal de los AX (Barron y Rouau, 2008). La banda a 1720  $\text{cm}^{-1}$  ha sido relacionada con el enlace éster y con la vibración del enlace C=C como se ha reportado para el espectro infrarrojo del AF (Kacurakova et al 1999). También se registró una banda en 3413  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente al estiramiento de los grupos OH y en 2854  $\text{cm}^{-1}$  asignada a los grupos  $\text{CH}_2$ . Este espectro FT-IR es similar al reportado por otros autores para AX (Mendez-Encinas et al. 2019a).

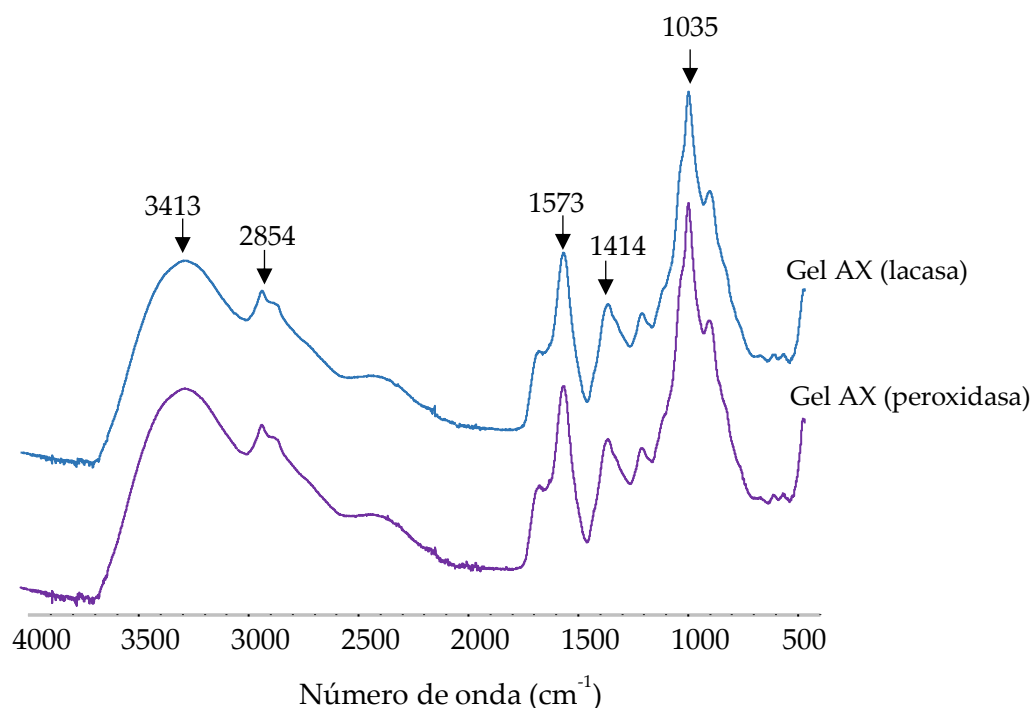


**Figura 3.** Espectro infrarrojo con transformada de Fourier de AX obtenidos de DDGS.  
**Figure 3.** Fourier transform infrared spectrum for AX from DDGS.

### 3.2 Gelificación de AX

#### FT-IR

El espectro FT-IR de los geles de AX (Fig. 4) es similar al de los AX no entrecruzados (Fig. 3) con la región característica entre 1200 y 900  $\text{cm}^{-1}$  y la banda de absorción máxima a 1035  $\text{cm}^{-1}$  relacionada con los enlaces glicosídicos  $\beta$ -(1-4) de la cadena de xilosas en este polisacárido. Se observa también la banda a 3413  $\text{cm}^{-1}$  atribuida a los grupos OH y la de 2854  $\text{cm}^{-1}$  asignada a los grupos  $\text{CH}_2$ . Por otro lado, los espectros de los geles de AX formados con lacasa y con peroxidasa presentaron bandas mejor definidas y de mayor intensidad a 1573  $\text{cm}^{-1}$  y 1414  $\text{cm}^{-1}$  en relación con el espectro de AX. Estas bandas han sido asociadas al estiramiento asimétrico del CO y relacionadas con un aumento en la vibración de los grupos éster (Mendez-Encinas *et al.* 2019b). Estas diferencias se atribuyen al acoplamiento oxidativo (vía lacasa o peroxidasa) entre las cadenas de polisacárido. Estos espectros coinciden con los reportados por otros autores para AX gelificados (Mendez-Encinas *et al.* 2019 a, b; González-Estrada *et al.*, 2015).



**Figura 4.** Espectro infrarrojo con transformada de Fourier de geles de AX inducidos con lacasa o peroxidasa.  
**Figure 4.** Fourier transform infrared spectrum for AX gels induced with laccase or peroxidase.

### Contenido de AF, di-AF y tri-AF

Después del proceso de gelificación de los AX, el AF se oxidó en un 94% al utilizar la enzima lacasa o peroxidasa como agente entrecruzante. No se presentaron diferencias significativas respecto al contenido de tri-AF en los geles de AX formados, pero aquellos inducidos con peroxidasa presentaron un mayor contenido de di-AF respecto a los geles formados con lacasa (Tabla 2).

En el gel formado con lacasa se presentó el isómero 8-5' como el di-AF mayoritario (61%), seguido del di-AF 8-O-4' (20%) y el di-AF 5-5' (19%). En los geles formados con peroxidasa se presentaron los isómeros de di-AF en el siguiente orden: 8-5', 5-5' y 8-O-4' en un 59%, 25% y 16%, respectivamente (Tabla 3). Estos resultados son similares a los reportados por Martínez-López *et al.* (2019).



**Tabla 2.** Contenido de AF, di-AF y tri-AF en AX y geles de AX inducidos con lacasa o peroxidasa.

**Table 2.** Content of AF, di-AF and tri-AF in AX and AX gels induced with laccase or peroxidase.

<b>Muestra</b>	<b>AF</b> ( $\mu\text{g/g}$ )	<b>di-FA</b> ( $\mu\text{g/g}$ )	<b>tri-FA</b> ( $\mu\text{g/g}$ )
AX	$5.00 \pm 0.40^a$	Nd	Nd
<b>Gel AX (lacasa)</b>	$0.30 \pm 0.03^b$	$0.153 \pm 0.010^b$	$0.020 \pm 0.001^a$
<b>Gel AX (peroxidasa)</b>	$0.31 \pm 0.01^b$	$0.195 \pm 0.010^a$	$0.020 \pm 0.001^a$

Nd: no detectado. Valores medios de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

Letras distintas en una misma columna indican que la diferencia entre estas medias es estadísticamente significativa.

**Tabla 3.** Composición de isómeros de di-FA en geles de AX.

**Table 3.** Composition of di-FA isomers in AX gels.

<b>Muestra</b>	<b>8-5'</b> ( $\mu\text{g/g}$ )	<b>8-O-4'</b> ( $\mu\text{g/g}$ )	<b>5-5'</b> ( $\mu\text{g/g}$ )
<b>Gel AX (lacasa)</b>	$0.093 \pm 0.001^b$	$0.030 \pm 0.001^a$	$0.030 \pm 0.001^b$
<b>Gel AX (peroxidasa)</b>	$0.116 \pm 0.001^a$	$0.032 \pm 0.001^a$	$0.047 \pm 0.001^a$

Valores medios de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

Letras distintas en una misma columna indican que la diferencia entre estas medias es estadísticamente significativa.

## Reología

### Cinética de gelificación

La Fig. 5 muestra la evolución del módulo de elasticidad ( $G'$ ) y el módulo de viscosidad ( $G''$ ) de las soluciones de AX al 2 % (p/v) tratadas con lacasa o peroxidasa en función del tiempo. Para ambos sistemas de gelificación se obtuvo un comportamiento similar con un incremento de  $G'$  en

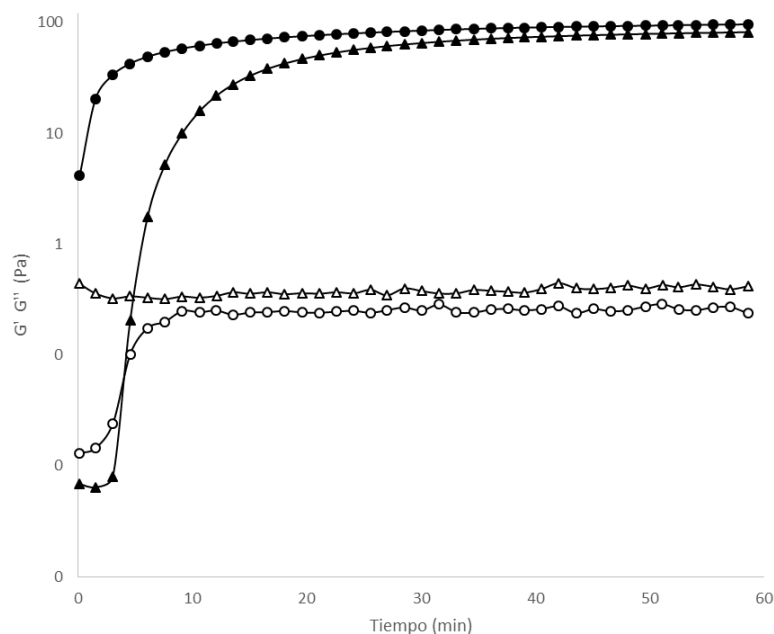
función del tiempo hasta alcanzar un pseudo *plateau*. Al final de la cinética, los geles presentaron valores de  $G'$  y  $G''$  de 79 y 0.3 Pa para lacasa, respectivamente, mientras que para peroxidasa esos valores fueron de 94 y 0.4 Pa, respectivamente. Estos valores están dentro del rango reportado para otros geles de AX extraídos de DDGS (Mendez-Encinas *et al.*, 2019a; Marquez-Escalante *et al.*, 2019). Las características viscoelásticas de los geles estudiados se resumen en la Tabla 4. Los valores bajos de la tangente delta confirman que los materiales son predominantemente elásticos.

El mayor valor de  $G'$  en geles formados con peroxidasa puede atribuirse al mayor contenido de di-FA en este material (0.195  $\mu\text{g/g}$  AX) respecto al obtenido al utilizar lacasa como entrecruzante (0.153  $\mu\text{g/g}$  AX) como se describió en la Tabla 2. En relación con los isómeros de di-AF formados, en los geles formados con peroxidasa fue más alta la proporción de estructuras 8-5' y 5-5'. De acuerdo con Hatfield y Ralph (1999), el di-AF 5-5' es el único isómero relacionado con la formación de uniones tanto inter como intra-cadena de AX. Los isómeros 8-5' y 8-O-4' forman solamente uniones inter cadena de AX. Así, los di-AF 8-5' contribuyen de manera efectiva a la elasticidad a la red polimérica del gel lo cual explica el mayor valor de  $G'$  en estos geles formados con peroxidasa.

Las diferencias encontradas en las estructuras de entrecruzamiento y las características reológicas de los geles de AX formados con lacasa o con peroxidasa podrían estar relacionados con los mecanismos de acción de estas enzimas. La lacasa cataliza la oxidación de AF esterificado en el AX por la interacción entre el  $\text{O}_2$  y el cobre presente en la enzima, lo que resulta en una reacción retardada. En la catálisis con peroxidasa, el  $\text{H}_2\text{O}_2$  actúa en la primera etapa de la reacción y, dado su menor peso molecular, puede acceder más fácilmente al AF de los AX, favoreciendo así el acoplamiento oxidativo entre las cadenas. Esto podría explicar el mayor contenido de di-AF en geles obtenidos con peroxidasa respecto al generado con lacasa (Martínez-López *et al.*, 2019).

### **Espectro mecánico y barrido de deformación en geles de AX**

Los espectros mecánicos y barridos de deformación de los geles de AX formados por lacasa o peroxidasa después de una hora a 25 °C se muestran en las Fig. 6 y 7. En estos gráficos se observa un comportamiento típico de un material viscoelástico con valores de  $G'$  lineales e independientes de la frecuencia de deformación y valores de  $G''$  menores y dependientes de la frecuencia. Este comportamiento es similar a lo reportado anteriormente para geles de AX inducidos por lacasa o peroxidasa (Martínez-López *et al.*, 2019). Los valores de tangente delta ( $G''/G'$ ) son menores a 1, indicando la presencia de un sistema predominantemente elástico (Ross-Murphy, 1984). En las Tablas 4 y 5 se presentan las características viscoelásticas de los geles a 0.25 Hz y a 5% de deformación, respectivamente, las cuales son las condiciones utilizadas en la cinética de gelificación (Fig. 5).



**Figura 5.** Cinética de gelificación para soluciones de AX al 2% (p/v) inducida con lacasa o peroxidasa. Mediciones a 0.25 Hz, 5% de deformación y 25 °C. Lacasa ( $G'$  ▲,  $G''$  △); peroxidasa ( $G'$  ●,  $G''$  ○). Promedio de tres repeticiones.

**Figure 5.** Gelation kinetics for 2% (w/v) AX solutions induced with laccase or peroxidase. Measurements at 0.25 Hz, 5% strain and 25 °C. Laccase ( $G'$  ▲,  $G''$  △); peroxidase ( $G'$  ●,  $G''$  ○). Average of three repetitions.

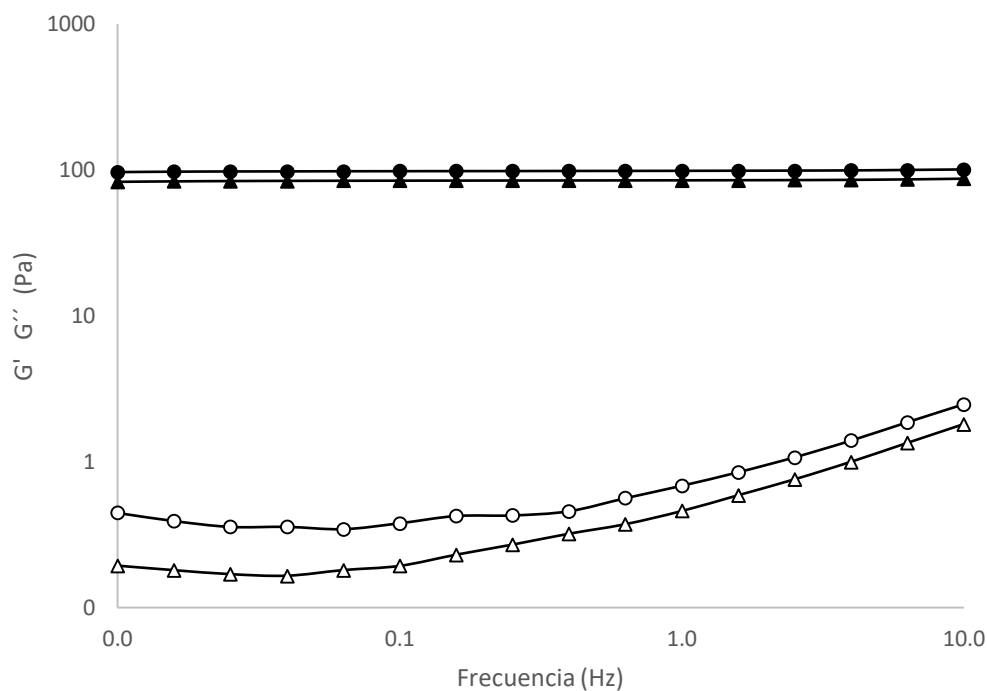
**Tabla 4.** Características viscoelásticas de geles de AX al 2% (p/v) inducidos con lacasa o peroxidasa al final de la gelificación a 0.25 Hz y 5% de deformación.

**Table 4.** Viscoelastic characteristics of 2% (w/v) AX gels induced with laccase or peroxidase at the end of gelation at 0.25 Hz and 5% strain.

Muestra	$G'$ (Pa)	$G''$ (Pa)	Tangente delta ( $G''/G'$ )
Gel AX (lacasa)	$79 \pm 7^b$	$0.30 \pm 0.03^b$	$0.003 \pm 0.001^a$
Gel AX (peroxidasa)	$94 \pm 5^a$	$0.41 \pm 0.01^a$	$0.004 \pm 0.002^a$

Valores medios de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

Letras distintas en la columna indican que la diferencia entre estas medias es estadísticamente significativa.



**Figura 6.** Barrido de frecuencia de geles de AX al 2% (p/v) entrecruzados vía lacasa o peroxidasa. Mediciones a 5% de deformación y 25 °C. Lacasa ( $G' \blacktriangle$ ,  $G'' \triangle$ ); peroxidasa ( $G' \bullet$ ,  $G'' \circ$ ). Promedio de tres repeticiones.

**Figure 6.** Frequency sweep of 2% (w/v) AX gels crosslinked via laccase or peroxidase. Measurements at 5% strain and 25 °C. Laccase ( $G' \blacktriangle$ ,  $G'' \triangle$ ); peroxidase ( $G' \bullet$ ,  $G'' \circ$ ). Average of three repetitions.

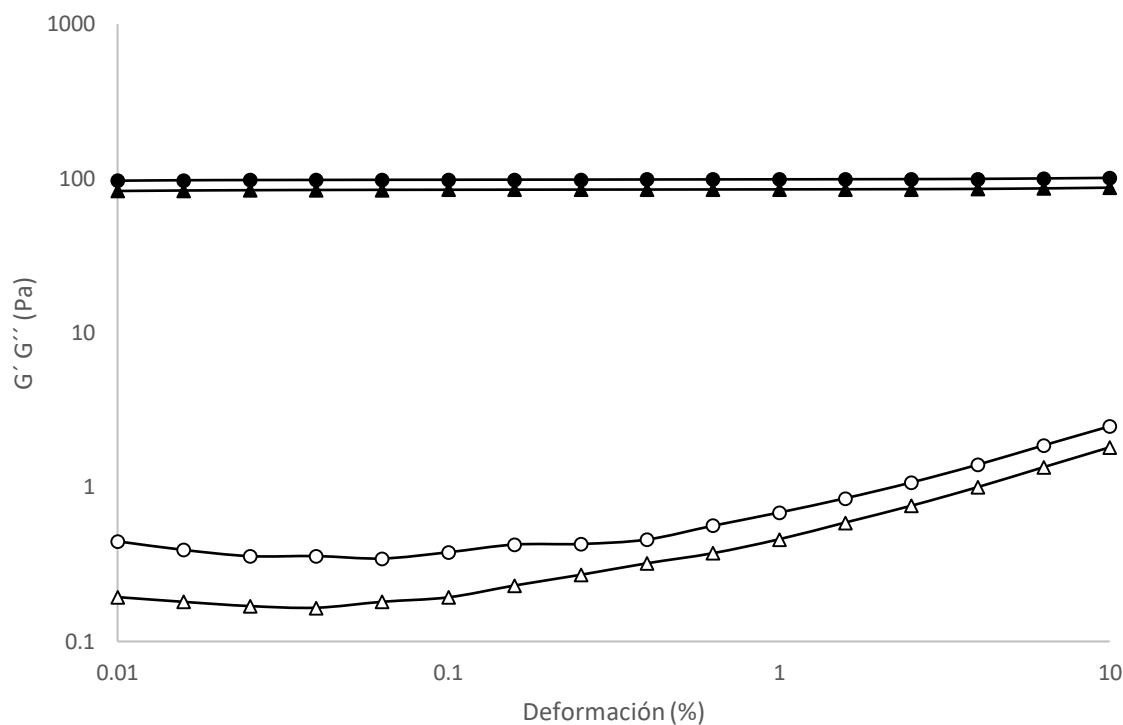
**Tabla 5.** Características viscoelásticas de geles de AX al 2% (p/v) inducidos con lacasa o peroxidasa al final del barrido de frecuencia. Valores a 0.25 Hz en el barrido de frecuencia.

**Table 5.** Viscoelastic characteristics of 2% (w/v) AX gels induced with laccase or peroxidase at the end of the frequency sweep. Values at 0.25 Hz in the frequency sweep.

Muestra	$G'$ (Pa)	$G''$ (Pa)	Tangente delta $G''/G'$
Gel AX (lacasa)	$85 \pm 6^b$	$0.32 \pm 0.05^a$	$0.003 \pm 0.001^a$
Gel AX (peroxidasa)	$98 \pm 6^a$	$0.45 \pm 0.08^a$	$0.004 \pm 0.001^a$

Valores medios de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

Letras distintas en la columna indican que la diferencia entre estas medias es estadísticamente significativa.



**Figura 7.** Barrido de deformación en geles de AX al 2% (p/v) formados con lacasa o peroxidasa. Mediciones a 0.25 Hz y 25 °C. Lacasa ( $G' \blacktriangle$ ,  $G'' \triangle$ ); peroxidasa ( $G' \bullet$ ,  $G'' \circ$ ). Promedio de tres repeticiones.

**Figure 7.** Deformation sweep for 2% (w/v) AX gels formed with laccase or peroxidase. Measurements at 0.25 Hz and 25 °C. Laccase ( $G' \blacktriangle$ ,  $G'' \triangle$ ); peroxidase ( $G' \bullet$ ,  $G'' \circ$ ). Average of three repetitions.

**Tabla 6.** Características viscoelásticas de geles de AX al 2% (p/v) inducidos con lacasa o peroxidasa. Valores a 5% en el barrido de deformación.

**Table 6.** Viscoelastic characteristics of 2% (w/v) AX gels induced with laccase or peroxidase. Values at 5% in the deformation sweep.

Muestra	$G'$ (Pa)	$G''$ (Pa)	Tangente delta $G''/G'$
Gel AX (lacasa)	$85 \pm 6^b$	$1.4 \pm 0.1^b$	$0.015 \pm 0.001^b$
Gel AX (peroxidasa)	$99 \pm 6^a$	$1.9 \pm 0.1^a$	$0.019 \pm 0.001^a$

Valores medios de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

Letras distintas en la columna indican que la diferencia entre estas medias es estadísticamente significativa.

## Actividad Antioxidante

La actividad antioxidante de los AX y los geles de AX inducidos con lacasa o peroxidasa, determinada por el método ABTS+ y DPPH se presenta en el Tabla 7. Tanto al utilizar el método ABTS+ como el método DPPH los AX y los AX gelificados presentaron actividad antioxidante. Los valores registrados por el método ABTS+ fueron más altos que los obtenidos con el método DPPH. Este efecto ya ha sido anteriormente reportado y se ha relacionado con una mayor afinidad del radical fenoxilo hacia el radical ABTS+, ya que este radical es un catión inestable que reacciona con antioxidantes generando compuestos que también poseen actividad antioxidante, lo que conduce a la sobreestimación de los resultados obtenidos de actividad antioxidante en una muestra. Por el contrario, el radical DPPH es relativamente estable y puede reducirse fácilmente extrayendo hidrógeno de moléculas donantes (Marquez-Escalante *et al.*, 2019). Los geles de AX inducidos con peroxidasa como entrecruzante presentaron una actividad antioxidante mayor que los formados con lacasa. Este resultado podría estar relacionado con el mayor contenido de di-AF en los geles formados con peroxidasa, en particular de las estructuras isoméricas 8-5' y 5-5', lo cual concuerda con el reporte de Jia *et al.* (2018), quien encontró que los di-AF 8-5' y 5-5' presentan mayor actividad antioxidante.

**Tabla 7.** Actividad antioxidante de AX y geles de AX inducidos por lacasa o peroxidasa.  
**Table 7.** Antioxidant activity of AX and AX gels induced by laccase or peroxidase.

Muestra	ABTS+ ( $\mu\text{mol}$ de TEAC/g muestra)	DPPH ( $\mu\text{mol}$ TEAC/g muestra)
AX	16.99 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>	4.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
Gel de AX (lacasa)	9.63 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	3.0 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>
Gel de AX (peroxidasa)	13.21 $\pm$ 0.28 <sup>b</sup>	3.3 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>

TEAC= Actividad antioxidante equivalente a Trolox ( $\mu\text{mol}$  de TEAC/g muestra).

Valores promedios de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

Letras distintas en la columna indican que la diferencia entre estas medias es estadísticamente significativa.

## 4. Conclusiones

Los AX obtenidos de DDGS presentan características moleculares que les permiten formar geles inducidos por lacasa y peroxidasa. Los geles obtenidos con peroxidasa presentan un mayor contenido de estructuras de entrecruzamiento, así como un módulo elástico y una actividad antioxidante más elevados respecto a los generados con lacasa. La diferencia en el contenido de di-AF en los geles de AX formados con estas enzimas podría estar relacionada con el mecanismo de

acción de las mismas. La mayor elasticidad de los geles formados con peroxidasa se atribuye al contenido de di-AF en estos materiales mientras que el valor más alto de actividad antioxidante podría relacionarse con la proporción más elevada de isómeros 8-5' y 5-5'. Los resultados indican que los AX desarrollan distinto contenido y formas de estructuras de entrecruzamiento, así como diferentes características reológicas y propiedades antioxidantes en función del sistema enzimático de gelificación utilizado. Bajo esta perspectiva, los resultados del presente estudio permiten plantear la posibilidad de tratar los AX con distintos agentes entrecruzantes para diseñar materiales con características y propiedades específicas para el área alimenticia, biomédica y farmacéutica, entre otras.

## Agradecimientos

Esta investigación fue apoyada por el Fondo de apoyo para el fomento de la investigación sobre la región Sonora-Arizona en México 2019 (clave 20614, proyecto aprobado a E. Carvajal-Millan).

## Conflicto de interés

Los autores señalan que no existe conflicto de intereses en la publicación de estos resultados.

## Nomenclatura

AX	Arabinosilanos ferulados
DDGS	Distillers Dried Grains with Solubles/Granos secos de destilería con solubles
AF	Ácido ferúlico
di-AF	Dímeros de ácido ferúlico
tri-AF	Trímeros de ácido ferúlico
FT-IR	Fourier Transform Infrared/Transformada de Fourier para infrarrojos
CLAR	Cromatografía líquida de alta resolución
G'	Módulo elástico
G''	Módulo viscoso
Pa	Pascal
DPPH	$\alpha, \alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

Trolox	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
TEAC	Trolox-Equivalent Antioxidant Activity/Actividad antioxidante equivalente de Trolox
ATR	Attenuated Total Reflection/Reflectancia total atenuada
[ $\eta$ ]	Viscosidad intrínseca

## 5. Referencias

- Barron C. & X. Rouau. 2008. FTIR and Raman Signatures of Wheat Grain Peripheral Tissues. *Cereal Chemistry* 85, 619-625. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-85-5-0619>
- Carvajal-Millan E., A Rascón-Chu., J. Márquez-Escalante, N.Ponce de León, V. Micard & A. Gardea. 2007. Maize bran gum: extraction, characterization and functional properties. *Carbohydr. Polym.* 69(2): 280-285. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.10.006>
- De Anda-Flores Y., E. Carvajal-Millan, J. Lizardi-Mendoza, A. Rascon-Chu, A.L. Martínez-López, J. Marquez-Escalante, F.Brown-Bojorquez & J. Tanori-Cordova. 2020. Covalently crosslinked nanoparticles based on ferulated arabinoxylans recovered from a distiller's dried grains byproduct. *Processes* 8(6), 691-705; <https://doi.org/10.3390/pr8060691>
- Fierro Islas J.M., E. Carvajal Millán, A.C. Campa Mada, J.A. Márquez Escalante & A. Rascón Chu. 2018. El subproducto del bioetanol de maíz como fuente de arabinoxilanos para la industria alimentaria. *Industria Alimentaria* 40(6), 34-43. [https://issuu.com/alfaeditorestecnicos/docs/industria\\_alimentaria\\_noviembredic\\_8c7ac60a927c70](https://issuu.com/alfaeditorestecnicos/docs/industria_alimentaria_noviembredic_8c7ac60a927c70)
- González-Estrada R., M. Calderón-Santoyo, E. Carvajal-Millan, F.D.J.A., Valle, J.A. Ragazzo-Sánchez, F. Brown-Bojorquez & A. Rascón-Chu. 2015. Covalently cross-linked arabinoxylans films for *Debaryomyces hansenii* entrapment. *Molecules* 20 (6), 11373-11386. <https://doi.org/10.3390/molecules200611373>
- Hatfield R.D. & J. Ralph. 1999. Modelling the feasibility of intramolecular dehydrodiferulate formation in grass walls. *J. Sci. Food Agric.* 79: 425-427. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(19990301\)79:425-427](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(19990301)79:4<425::AID-SF425>3.0.CO;2-3)
- Jia Y., Y. He & F. Lu. 2018. The structure-antioxidant activity relationship of dehydrodiferulates. *Food Chem.* 269:480-485. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.038>
- Kacurakova M., N. Wellner, A. Ebringerova, Z. Hromadkova, R. H. Wilson & P.S. Belton. 1999. Characterisation of xylan-type polysaccharides and associated cell wall components by FT-IR and FT-Raman spectroscopies. *Food Hydrocoll.* 13:35-41. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(98\)00067-8](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(98)00067-8)
- Knudsen K.E.B. & H.N. Lærke. 2010. REVIEW: Rye arabinoxylans: molecular structure, physicochemical properties and physiological effects in the gastrointestinal tract. *Cereal Chem.* 87: 353-362. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-87-4-0353>



- Malunga L.N. & T. Beta. 2015. Antioxidant capacity of water-extractable arabinoxylan from commercial barley, wheat, and wheat fractions. *Cereal Chem.* 92(1):29-36. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-11-13-0247-R>
- Marquez-Escalante J., E. Carvajal-Millan, Y.L. López-Franco, E.M. Valenzuela-Soto & A. Rascón-Chu. 2018. Efecto prebiótico de los arabinoxilanos y los arabinoxilo-oligosacáridos y su relación con la promoción de la buena salud / Prebiotic effect of arabinoxylans and arabinoxylan-oligosaccharides and the relationship with good health promotion. *CienciaUAT* 13(1):146-164. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v13i1.922>
- Marquez-Escalante J.A. & E. Carvajal-Millan 2019. Feruloylated arabinoxylans from maize distiller's dried grains with solubles: effect of feruloyl esterase on their macromolecular characteristics, gelling, and antioxidant properties. *Sustainability* 11(22):6449-6461; <https://doi.org/10.3390/su11226449>
- Martínez-López A.L., E. Carvajal-Millan, J. Marquez-Escalante, A.C. Campa-Mada, A. Rascón-Chu, Y.L. López-Franco & J. Lizardi-Mendoza. 2019. Enzymatic crosslinking of ferulated arabinoxylan: effect of laccase or peroxidase catalysis on the gel characteristics. *Food Sci. Biotechnol.* 28(2):311-318. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0488-9>
- Melo-Silveira R. F., R. L. Silva-Viana, D. Araujo-Sabry, R. A Da Silva., D. Machado, A. K. Lima-Nascimento, K. Castanho-Scortecci., C.V. Ferreira-Halder, G. Lanzi-Sasaki. & H.A.Oliveira Rocha. 2019. Antiproliferative xylan from corn cobs induces apoptosis in tumor cells. *Carbohydr. Polym.* 210:245-253. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.073>
- Mendez-Encinas M.A., E. Carvajal-Millan, M.P. Yadav, Y.L. López-Franco, A. Rascon-Chu, J. Lizardi-Mendoza, F. Brown-Bojorquez, E. Silva-Campa & M. Pedroza-Montero. 2019a. Partial removal of protein associated with arabinoxylans: Impact on the viscoelasticity, crosslinking content, and microstructure of the gels formed. *J. Appl. Polym. Sci.* 136(15), 47300. <https://doi.org/10.1002/app.47300>
- Mendez-Encinas M.A., E. Carvajal-Millan, A. Rascón-Chu, H. Astiazarán-García, D.E. Valencia-Rivera, F. Brown-Bojorquez, E. Alday & C. Velazquez. 2019b. Arabinoxylan-based particles: *in vitro* antioxidant capacity and cytotoxicity on a human colon cell line. *Medicina* 55 (7):349. <https://doi.org/10.3390/medicina55070349>
- Mendez-Encinas M.A., E. Carvajal-Millan, A. Rascon-Chu, H. Astiazaran-García, & D.E. Valencia-Rivera. 2018. Ferulated Arabinoxylans and Their Gels: Functional Properties and Potential Application as Antioxidant and Anticancer Agent, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Article ID 2314759. <https://doi.org/10.1155/2018/2314759> Izy
- Mendis M., E. Leclerc & S. Simsek. 2016. Arabinoxylans, gut microbiota and immunity. *Carbohydr. Polym.* 139:159-166. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.068>
- Niño-Medina G., E. Carvajal-Millán, A. Rascon-Chu, J.A. Marquez-Escalante, V. Guerrero & E. Salas-Muñoz. 2010. Feruloylated arabinoxylans and arabinoxylan gels : structure, sources and applications. *Phytochem Rev.* 9 : 111-120. <https://doi.org/10.1007/s11101-009-9147-3>
- Re R., Pellegrini N., A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang & C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 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)

- Rosa N. N., C. Barron, C. Gaiani, C. Dufour & V.J. Micard. 2013. Ultra-fine grinding increases the antioxidant capacity of wheat bran. *J. Cereal Sci.* 57(1):84-90. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.10.002>
- Vogel B., D.D: Gallaher & M. Bunzel. 2012. Influence of crosslinked arabinoxylans on the postprandial blood glucose response in rats. *J. Agric. Food Chem.* 60(15):3847-3852. <https://doi.org/10.1021/jf203930a>
- Vansteenkiste E., C .Babot, X. Rouau & V. Micard. 2004. Oxidative gelation of feruloylated arabinoxylan as affected by protein. Influence on protein enzymatic hydrolysis. *Food Hydrocolloids*, 18(4):557-564. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.09.004>

2023 TECNOCENCIA 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

# Recent developments on wall materials for the microencapsulation of probiotics: A review

Desarrollos recientes en materiales de pared para la microencapsulación de probióticos: Una revisión

José Gabriel Montoya-Soto<sup>1</sup>, Rubén Francisco González-Laredo<sup>1</sup>, Luis Medina-Torres<sup>2\*</sup>, Olga Miriam Rutiaga-Quñones<sup>1</sup>, José Alberto Gallegos-Infante<sup>1</sup>, Luz Araceli Ochoa-Martínez<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> Tecnológico Nacional de México/IT de Durango. Felipe Pescador 1830 Ote., 34080 Durango, Dgo., México.

<sup>2</sup> Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Circuito Exterior S/N, Coyoacán, Cd. Universitaria, 04510 Ciudad de México, CDMX.

\*Correspondencia: [luismt@unam.mx](mailto:luismt@unam.mx) (Luis Medina-Torres)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v17i1.1140>

Recibido: 09 de enero de 2023; Aceptado: 18 de abril de 2023

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

## Abstract

In recent decades a surge in demand for better and healthier foods has sprung up. One category of products under such increases in demand is probiotic products, both in the form of foodstuffs and dietary supplements. These are living microorganisms that when consumed provide a variety of health benefits to the host, regarding the health of the gastrointestinal tract. The main technological hurdle this presents is to provide them alive in enough quantity. Therefore, microencapsulation methods are often employed to enhance their survivability. A critical point in the design of the encapsulation processes is the adequate selection of an encapsulating agent, which must comply with a series of requirements such as being food grade, being able to envelop the probiotic, and being of low cost to name a few. Thus, this presents an area of opportunity regarding the formulation and exploration of different wall materials. In this paper, some of the developments regarding new wall materials for microencapsulated probiotics are presented and discussed.

**Keywords:** microencapsulation, probiotic, wall material, *Lactobacillus*, mucilage, gum

## Resumen

En las últimas décadas ha surgido un aumento en la demanda de alimentos mejores y más saludables. Entre ellos, los productos probióticos, ya sea en forma de productos alimenticios o como suplementos dietéticos. Los probióticos son microorganismos vivos que cuando se consumen en cantidades adecuadas brindan una variedad de beneficios para la salud del huésped, en particular,

a la salud del tracto gastrointestinal. El principal obstáculo tecnológico que esto plantea es proporcionarlos vivos en cantidad suficiente. Por ello, a menudo se emplean métodos de microencapsulación para aumentar su capacidad de supervivencia. Un punto crítico en el diseño de los procesos de encapsulación es la selección adecuada de un agente encapsulante, el cual debe cumplir con una serie de requisitos como ser grado alimenticio, poder envolver al probiótico y ser de bajo costo, por mencionar algunos. Por lo tanto, esto presenta un área de oportunidad en cuanto a la formulación y exploración de diferentes materiales de pared. En este artículo, se presentan y discuten algunos de los desarrollos relacionados con nuevos materiales de pared para probióticos microencapsulados.

**Palabras clave:** microencapsulación, probiótico, material de pared, *Lactobacillus*, mucílago, goma.

## 1. Introduction

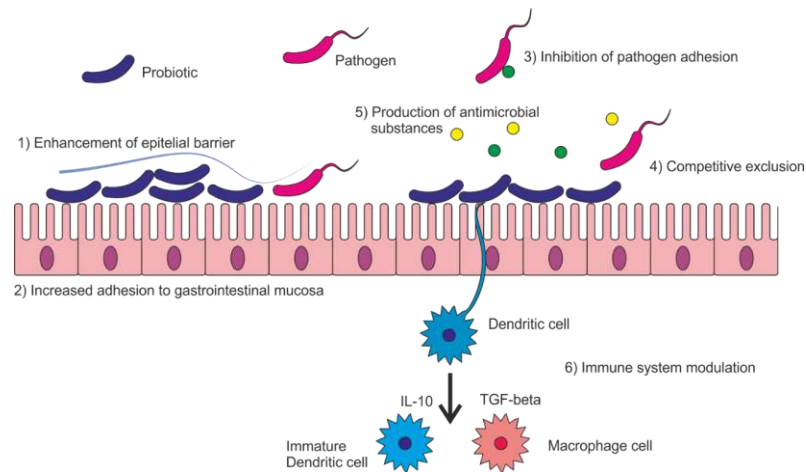
The importance of probiotics in several sectors such as the pharmaceutical and food industries has resulted in an ever-increasing interest in its application to both food systems and food supplements and drugs. A microorganism is considered a probiotic by the United Nations Food and Agriculture Organization (FAO) and World Health Organization (WHO) if it provides measurable and verifiable health benefits to the host when it is administered in a sufficient dose. A sufficient dose is considered to be around  $10^6$  CFU per milliliter or gram (although this may vary from individual to individual) (FAO/WHO, 2002, 2006). Ensuring that the right amount of living cells is administered is one of the challenges that technologists and engineers face when working with probiotics due to the harsh conditions during both processing and delivering into the gastrointestinal tract.

Microencapsulation is the group of technologies in which a sensitive but biologically active component is enveloped using a much more resistant material known as wall material. Some of the features of the encapsulated products are consumer safety, such as the “generally recognized as safe (GRAS)” label given by the Food and Drug Administration (FDA); ability to envelop adequately the active material, preserving its bioactive and/or organoleptic features; protection against adverse environmental conditions such as humidity, temperature changes, or UV radiation; and controlled release of the active material after its consumption (Kandasamy and Naveen, 2022). Thus, one of the main concerns when designing a probiotic microencapsulation process is the adequate selection of the encapsulating material (wall material) because it must comply the aforementioned characteristics and be compatible with the probiotic physiological characteristics, site of action, preferred release mechanism and the encapsulation technique used.

Thus, one of the food engineers’ main concerns is seeking new wall materials sources that fulfill technological features. Among them, meeting GRAS requirements, good thermal, rheological, and physicochemical in addition to other effects such as prebiotic potential or anti-inflammatory properties (Macías-Cortés *et al.*, 2020). The objective of this review is to collect works about the different materials used for the microencapsulation of probiotics; with an emphasis in novel or previously unexplored materials such as mucilage, gums, vegetable proteins.

## 2. Probiotics

As stated in Probiotics in Food: Health and nutritional properties page 2, the FAO and WHO (2002), define a probiotic as "live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host." The use of probiotics in food systems is quite old, dating back centuries, mainly for the production of fermented milk products such as yogurt and kefir. Some of the microorganisms responsible for the production of these food products include several genera of lactic acid bacteria such as *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, and yeasts such as some species of the genus *Kluyveromyces*. In broad terms, the idea behind the consumption of probiotics is to change the composition of the normal and potentially harmful microbiome into one that provides benefits to its host. This is due to multiple mechanisms by which probiotics benefit their host, as shown in Figure 1. These include enhancing the epithelial barrier, increasing adhesion to the gastrointestinal mucosa, inhibition of pathogen adhesion, competitive exclusion of pathogens, secretion of antimicrobial substances, and modulation of the immune system (Bermudez-Brito *et al.*, 2012)



**Figure 1.** Probiotic's mechanisms of action.

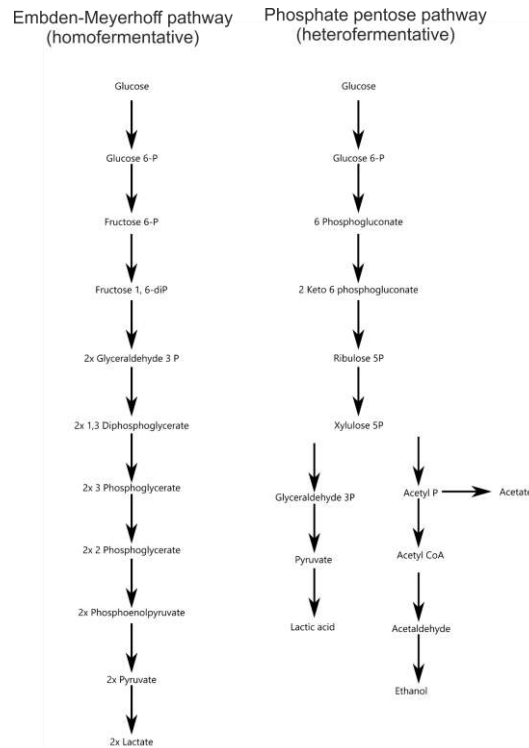
**Figura 1.** Mecanismos de acción de los probióticos.

### 2.1 Common probiotics

#### 2.1.1 Lactic acid bacteria

Lactic acid bacteria are a group of facultative anaerobic gram-positive bacteria, commonly found in human mucosal surfaces and fermented foods, such as some dairy products and fermented vegetables (Vinderola *et al.*, 2019). These include *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, etc. Lactic acid bacteria have been used for at least a century in the production of products such as fermented dairy foods like yogurt, cheese, and kefir, and fermented vegetables such as pickles, sauerkraut, or

kimchi, and some fermented meats like salami. Some species of *Lactobacillus* used as probiotics are *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei*, *Lb. helveticus* (Azad et al., 2018). Regarding their morphology, they can be classified into bacilli and cocci. According to their metabolism they can be separated into homofermentative, bacteria that produce almost exclusively lactic acid, and heterofermentative which can produce other metabolic products such as ethanol, acetic acid, and CO<sub>2</sub>. Figure 2 shows a diagram of the main metabolic pathways from which homofermentative and heterofermentative bacteria obtain energy.



**Figure 2.** Embden-Meyerhoff (left) and Phosphate pentose (right) metabolic pathways.  
**Figura 2.** Rutas metabólicas Embden-Meyerhoff (izquierda) y pentosas fosfato (derecha).

Lactobacilli are rod-shaped bacteria often found in food such as dairy and fermented vegetables. In the same way lactobacilli can be classified by their metabolism as homofermentative and heterofermentative.

Homofermentative bacteria's main characteristic is that the primary product of their fermentation is lactic acid, with little to no presence of other metabolites such as CO<sub>2</sub>, acetic acid, or ethanol. This is due to a preference of species within this classification for the Embden-Meyerhoff pathway that uses glucose as its main substrate, ending with pyruvate as final product which then acts as an acceptor of protons by reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) and leads to the production of lactate and NAD<sup>+</sup> (Poltronieri et al., 2017). While strict homofermentative bacteria exist within the *Lactobacillus* genus, they are fewer in number than heterofermentative species. Some

homofermentative species within the genus are *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. helveticus*, *Lb. salivarius* (Vinderola et al., 2019).

Heterofermentative includes all lactic acid bacteria that produce other metabolites aside from lactic acid while fermenting sugars, this includes CO<sub>2</sub>, ethanol, and acetic acid. Bacteria within this group, have a predilection for the pentose phosphate pathway that uses sugars (e.g., glucose) as a substrate to produce NADPH, pentoses, and ribose (used for the synthesis of nucleotides), and the final product is xylulose, which is metabolized into ethanol, acetate, and lactate by its catabolism. Within this classification exist both obligate heterofermentative and facultative heterofermentative. *Lactobacillus* species such as *plantarum*, *sakei*, *curvatus*, and *casei*, are considered facultative heterofermentative; while species such as, *fermentum*, *pontis*, *reuteri*, *brevis*, and *buchneri*, are considered obligate heterofermentative. These bacteria have shown several probiotic activities such as immune system modulation, production of antimicrobial substances and direct competition with pathogens (Vinderola et al., 2019).

### 2.2.1 Other bacteria

Even when the most studied probiotics are lactic acid bacteria, other genera such as *Propionibacterium*, or *Bifidobacterium* can be found inhabiting the same places. In addition, other genera typically associated with the human gut as *Escherichia* and *Clostridium*, may have probiotic strains (George Kerry et al., 2018; Crook et al., 2019; Guo et al., 2020).

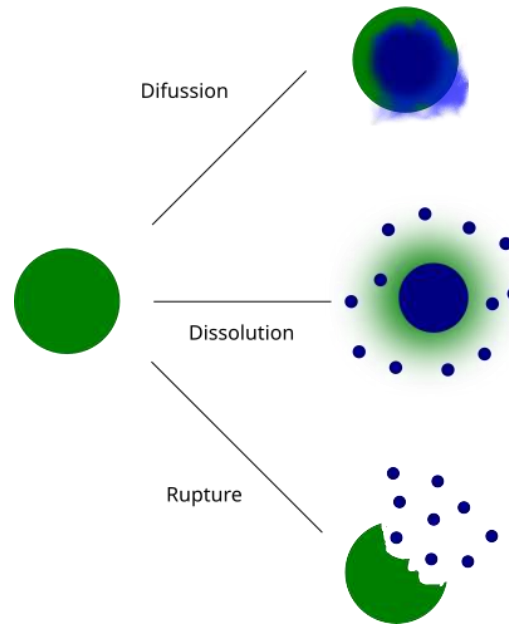
### 2.3.1 Yeast

Yeast is a heterogeneous denomination given to single-celled organisms belonging to the fungi kingdom. They are widely used in the food industry and are involved in the production of many food products including wine, beer, bread, kefir, cider, sake, cocoa, etc. Some species of yeast that have shown potential as probiotics include *Saccharomyces cerevisiae*, *S. cerevisiae* var. *boulardii*, *Kluyveromyces marxianus*, *K. lactis*, *Pichia kluyveri*, *P. pastoris*, *Debaromyces* spp., *Torulasporea* spp., *Hanseniaspora* spp., etc. These have shown various activities such as denaturing *Clostridium difficile*'s toxins and modulation of cytokines production (Gut et al., 2018; Staniszewski and Kordowska-Wiater, 2021).

## 3. Microencapsulation

This is the name given to technologies whose final goal is to envelop on a microscopic scale any given active material (often called core material) in a layer that protects it from reactions with the environment, increasing its shelf life, stabilizing, and ensuring a gradual release of the active material when consumed. All microencapsulation technologies have three steps: the wall must envelop the core material, the shell must maintain its integrity, and finally, the crust must subside at the right moment (and right place) ensuring the release of its contents at an adequate rate (Macías-Cortes et al., 2020). The release of the active material inside the microcapsule is as important as its microencapsulation. There are different mechanisms, as shown in Figure 3. The microcapsules release their content mediated by factors such as temperature, pressure, and concentration gradient,

and subjected to the adequate stimulus, the enveloping material will dissolve, expand or rupture (Hu *et al.*, 2017). There are different methods of microencapsulation, the most common are mentioned ahead.



**Figure 3.** Different release mechanisms of the active component in a microcapsule.

**Figura 3.** Diferentes mecanismos de liberación del componente activo de una microcápsula.

### 3.1 Extrusion

This technique typically involves mixing the probiotic along with a hydrocolloid such as a carbohydrate dispersion. Thereafter, it is extruded through a nozzle producing a small droplet, afterwards, these droplets fall into a bath containing a solution that hardens the wall material enveloping its core. The main advantage of this procedure is that it does not involve the use of either high temperature or solvents, thus ensuring a high survival rate for the probiotic. The most common material used to microencapsulate with this method is sodium alginate. However, the main disadvantage for this process to be used at an industrial scale lies within its inability to produce large quantities of microcapsules, the relatively high particle size and its higher costs compared with other methods (Lee *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2020).

### 3.2 Coacervation

The definition of coacervation is the separation into two liquid phases of a colloidal solution. There are two main forms of coacervation, simple and complex. Simple coacervation involves the use of a single polymer and a salt or dissolving agent, such dissolving agents can be either alcohol



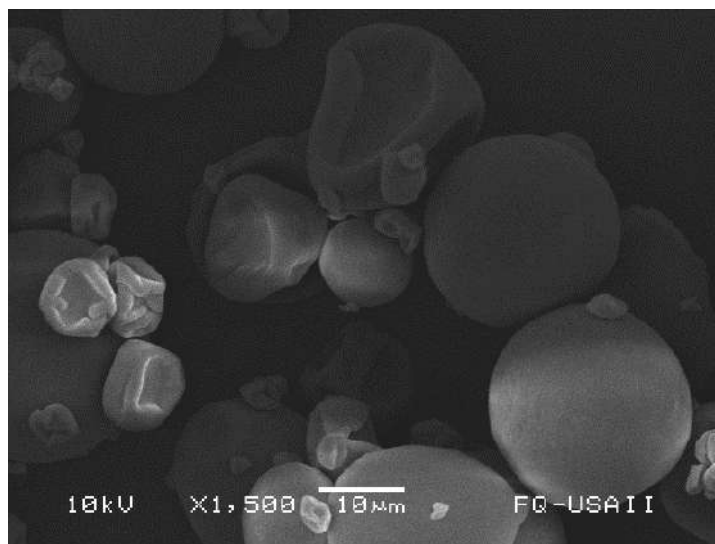
or acetone. In complex coacervation, two polymers with opposing charges interact producing two immiscible phases of liquid, the dense phase, which is polymer-rich, and the continuous phase which is not. This method often uses animal proteins such as gelatin, whey protein or sodium caseinate. Even though this technique provides advantages over other methods such as very stable shells, with very high encapsulation efficiency and great controlled release of the core material, it poses several disadvantages mainly due to the time required to encapsulate and its cost. This is a relatively new technology, and it is considered to still be in experimental phase (Dhakal and He, 2020; Yang *et al.*, 2020).

### 3.3 Liposomes

This encapsulation technique requires the formation of a bilayer, typically of a phospholipid, in an aqueous solution to which agitation, and heat are applied to form vesicles. Since phospholipids are amphiphilic molecules, the liposomes can trap polar active substances in an aqueous solution with their polar ends. It is also possible as well to trap nonpolar substances with the lipophilic end of the phospholipid, making them more suitable for an aqueous delivery system. A special application of this technique is the entrapment of core materials that require high water activity such as enzymes or probiotics. Although one of the main disadvantages of this method of encapsulation is the low resistance of the encapsulating material, being a phospholipid, it is prone to oxidation and hydrolysis as well as sensitive to changes in pH and temperature (Dhakal and He, 2020; Mehta *et al.*, 2022).

### 3.4 Spray drying

Spray drying is one of the most widely spread microencapsulation techniques in use due to its short processing time and the overall quality of the encapsulated product, mainly uniform particle size, and defined morphology (see Figure 4). Spray drying is a technology that consists in the pulverization or atomization of a suspension or solution into a chamber filled with hot gas and finally recover it in the form of powder. The way in which spray drying microencapsulation works is to prepare a dispersion of both the active and enveloping materials in an adequate solvent, pumping the dispersion into the drying chamber, wherein it is atomized, and the solvent is quickly evaporated. The dehydrated product is collected either in powder or agglomerated form from a cyclone (Ceja-Medina *et al.*, 2020). This method consists of the next main steps: preparation of the dispersion, homogenization, atomization, dehydration of the atomized particles and collection. Some of the advantages the final product provides when working with spray drying is an increased shelf life due to its low water activity, thus reducing the need of refrigeration, cutting costs in both storage and transport. The main elements present in spray drying equipment (see Figure 5) are a feeding pump, an atomizer, a heating device, a drying chamber, and a cyclone. Spray drying uses a variety of compounds from which polysaccharides such as starches with varying grades of modification, gums, and plant-based mucilage are of particular interest. This technique's main disadvantages are due to the high temperature involved. Because of this a wall material that is highly resistant to heat, has high water solubility and a relatively low viscosity such as Gum Arabic, modified starches, maltodextrin, and plant mucilage (Macías-Cortes *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2020).



**Figure 4.** SEM micrography of *Lb. plantarum* microencapsulated in an *Aloe vera* mucilage/agave fructans/gum Arabic microcapsule

**Figura 4.** Micrografía por SEM de *Lb. plantarum* microencapsulado en una microcápsula de mucílago de *Aloe vera*/fructanos de agave/goma Arábiga (Ceja-Medina *et al.*, 2020).

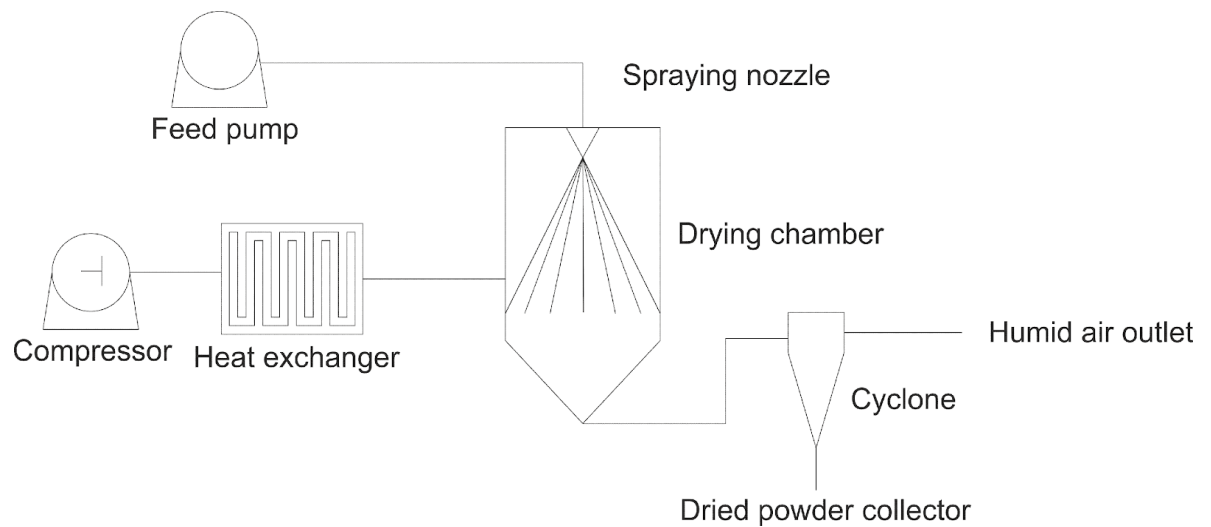
### 3.5 Spray chilling

Spray chilling, also known as spray cooling, is typically employed to encapsulate hydrophilic materials into a hydrophobic shell. The wall material is most often a lipidic material such as waxes, with a relatively high melting point, and similarly to spray drying is atomized into a chamber filled with cool gas, which causes a fast solidification of the lipidic material around the core. This technique is typically used in the encapsulation of water-soluble vitamins, enzymes, and flavor agents. It is also possible to encapsulate hydrophobic core materials with hydrophobic wall materials such as the encapsulation of liposoluble vitamins with fats, waxes, and oils as wall materials. The main disadvantage of this method lies in the melting point of the material used as it should be low enough as to not thermally kill the probiotic and high enough to not melt at room temperature. For this reason, mixtures of waxes and other materials such as polysaccharides are under study (Choudhury *et al.*, 2021).

### 3.6 Spray freeze-drying

This is a combination of spray chilling and lyophilization in which a mixture of both the encapsulating agent and the core material is sprayed into a cooling chamber in which it is instantly frozen, producing a current of tiny ice spheres in which both materials are contained. Thereafter, the ice particles are freeze-dried through regular lyophilization. Lyophilization is the removal of moisture from a frozen matrix without going through the liquid phase, through a process known as sublimation. Sublimation involves the use of very low pressure to turn ice into water vapor without raising its temperature to the melting point. Its main use is to dry materials that are particularly

sensitive to high temperature. Lyophilization consists of the next phases, the initial freezing phase, and two drying phases. The initial phase in lyophilization is freezing, wherein most of the moisture is frozen. Afterwards during the first drying step, frozen free moisture is removed by sublimation. The two parameters that play a crucial role during this step are the shelf temperature and the chamber pressure. The second drying phase cycle involves the elimination of unfrozen bound water through desorption. The wall materials needed for this technique are similar to those needed in spray drying, with the exception of resistance to high temperature (Kandasamy and Naveen, 2022).



**Figure 5.** A typical arrangement of spray drying equipment.

**Figura 5.** Un arreglo típico de un equipo de secado por aspersión.

### 3.7 Fluidized bed coating

It is like spray drying technology, although with some modifications. It consists of three stages, the absorption of the core materials onto a support material, a solid porous material, which is being fluidized; the coating which is done by spraying the liquid wall material into the fluidized bed; and finally, the hardening of the shell by either vaporization of the wall material solvent or by chilling, being air the most common gas used to both fluidize and cooling. This method provides flexibility in wall materials using both water soluble materials such as protein and polysaccharides and lipophilic materials such as waxes (Mehta *et al.*, 2022).

## 4. Wall materials

The selection of adequate wall material is essential given that it will determine both the efficiency of encapsulation and the stability of the capsules. Some of the qualities that wall material must possess are, non-reactivity towards the core material, it must be able to contain the core integrally inside of the capsule, being economically viable, it must meet standards such as FDA's GRAS, and depending on whether its application is in food or not, it must not have any unpleasant smells or flavors (Dhawal and He, 2020). While most of the commonplace materials nowadays meet the criteria of being safe for consumption, some of the more common problems are that resistance of capsules and the price of the material are often at odds. Another avenue for new sources of materials is that some might have prebiotic effects or come from vegan or vegetarian sources. This opens new avenues for development of new developments. A brief list of recent developments regarding common wall materials can be seen in Table 1. There are different wall materials of microencapsulation, the most common are:

### 4.1 Protein

Protein wall materials coming from both animal and vegetable sources have been used with success to encapsulate probiotics, some of these sources range from dairy, gelatin, and various legumes. Protein solubility varies according to a variety of extrinsic factors, like pH and temperature, and intrinsic factors mainly regarding the structure of the protein and its amino acid profile. Their molecular weight varies drastically ranging from around 10 kDa upwards to 50 kDa or more. The capacity of proteins to form emulsions is variable depending on factors such as molecular weight, source, structure, and adsorption capacity (Kim *et al.*, 2020). Proteins are typically sourced from animal byproducts such as gelatin, obtained from the thermal hydrolysis of collagen from waste products of the meat and leather industry such as bones, horns, hooves, skins, cartilage. One of the most used sources for microencapsulating proteins is milk, usually milk whey. Milk whey is the liquid remaining from the curdling of milk during cheese elaboration. It contains a mix of minerals, and proteins such as alpha-lactalbumin, beta-lactoglobulin, and lactose. It is mainly used along with wall materials from other sources such as carbohydrates like maltodextrin, alginates, etc. (Bhagwat, *et al.*, 2020; Obradović *et al.*, 2022). Due to the rise in demand of vegan and vegetarian ingredients, advances in vegetable protein have also been made. Regarding vegetable protein works like González-Ferrero *et al.* (2020) worked with soy protein isolate, and maltodextrin to produce microcapsules loaded *Lactobacillus plantarum* CECT 220, using a Büchi spray dryer, with a survival rate of 93 %. Or Qi *et al.* (2021) in which a microcapsule made by coacervation made using pea protein isolate and sugar beet pectin yielded the best results in a gastrointestinal simulated digestion. Nevertheless, the bulk of research on vegetable protein is centered around microencapsulating materials like antioxidants, essential oils, and vitamins. Due to their origin and complex purification, protein wall materials are typically of higher costs than some other materials such as carbohydrates.

**Table 1.** Common wall materials, and recent developments on probiotic microencapsulation**Tabla 1.** Materiales de pared comunes y desarrollos recientes en microencapsulación de probióticos

Polymer	Monomeric units	Encapsulation techniques	Temperature °C (i=inlet, o=outlet)	Encapsulation efficiency %	Probiotic	Reference
<b>Whey protein</b>	Lactalbumin and lactoglobulin (amino acids)	Spray drying (SD)	140(i) 60(o)	70.65±1.84	<i>Enterococcus canintestini</i>	Bhagwat, et al., 2020
<b>Gelatin</b>	Hydrolyzed collagen (amino acids)	Emulsification/coacervation	40	97.78	<i>Lb. plantarum</i>	Paula et al., 2019
<b>Maltodextrin</b>	Glucose	SD	130-150(i) 55±2(o)	89.15	<i>Lb. acidophilus</i>	Arepally et al., 2020
		Mixed flow SD	140(i) 80(o)	20.88±0.03	<i>Lb. rhamnosus</i>	Jiang et al., 2020
<b>Resistant and modified starch</b>	alfa 1-4 and alfa 1-6 linked Glucose	Extrusion	-	48.46 ± 0.98	<i>Lb. casei</i>	Ashwar et al., 2018
<b>CMC</b>	Carboxy-methyl Glucose	Extrusion	-	94.7±0.78	<i>Lb. plantarum</i>	Dafe et al., 2017
<b>Chitosan</b>	Glucosamine	SD	120(i) 68(o)	91±0.33	<i>K. marxianus</i>	Vanden Braber et al., 2020
<b>Fructans</b>	Fructose	SD/Spray Freeze Drying	SD: 110(i), 62(o) SFD: -80	SD: 89.21 SFD: 96.16	<i>Lb. plantarum</i>	Yoha, et al., 2020

## 4.2 Lipids

Lipids, which include fatty acids, fats, waxes, sterols, and phospholipids, are an eclectic group of molecules used to designate substances with relatively low polarity, and thus low solubility in polar compounds such as water. As such there are not many studies that work with the encapsulation of probiotics with only lipids as an encapsulating agent. Nevertheless, there are some studies in which an outer crust of materials such as beeswax and stearic acid is used to cover microcapsules made with other materials such as resistant starch or alginate to increase their resistance to moisture. Lipids also ensure a controlled release in the intestine by the way of lipase action while being digested (Rodrigues et al., 2020).

### 4.3 Carbohydrates

Carbohydrates are the group of biopolymers most widely used in the encapsulation of probiotics. They can be identified in any number of ways by size, composition, refining grade, and origin. Being classified regarding their composition in homopolysaccharides when their forming monomers are the same, such as starches, maltodextrin, and inulin, and heteropolysaccharides, when their forming units are non-homogeneous, such is the case of gums such as Arabic and guar gums. Carbohydrate solubility in water varies depending on the degree of polymerization, and crystallinity; being those with a smaller polymerization degree and less crystalline more easily solubilized. While carbohydrates range in molecular weight from around 180 Da for average monosaccharides to 480 kDa for an average polysaccharide, although some polysaccharides can upwards to 788 kDa. The molecular weight of carbohydrates frequently used in microencapsulation usually starts at around 20 kDa (Ushiyama and Shimizu, 2018).

#### 4.3.1 Starch

Starch is the name given to the reserve polysaccharides made by green plants. It is found in foodstuffs such as cereals and tubers and it is one of the main sources of calories in modern human diets. It is made up of glucose units linked together by alpha  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4) glycosidic bonds, forming long chains, known as amylose, with ramifications of alpha  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  6) glycosidic bonds known as amylopectin. Starch is typically made up of around 1:3 up to 1:4 parts of amylose to parts of amylopectin by weight. It is used both as an ingredient and raw material for different food products, including modified starches and high fructose corn syrup. It has recently become of interest to technologists the use of resistant starches as novel materials for the encapsulation of probiotics due to their potential as a prebiotic. Resistant starches are starches resistant to enzymatic digestion by intestinal amylase, this is due to a higher proportion of amylose which is less susceptible to these enzymes due to its structure. The categories of resistant starch are as follows RS1) physically inaccessible, RS2) native granules of non-gelatinized starch, RS3) retrograded amylose, RS4) chemically modified starch (Bojarczuk *et al.*, 2022). RS4 was studied by Ashwar *et al.*, (2018; 2021) using a rice-modified starch in an extrusion system.

#### 4.3.2 Maltodextrin

Maltodextrin is a group of polysaccharides obtained from partial hydrolysis of starches. Like starch, it is made up of glucose monomers bound to each other by  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4) bonds with occasional  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  6) bond ramifications. Maltodextrin is one of the most widely used and studied encapsulating agents with works as recent as those made on survivability and stability by Arepally *et al.* (2020), with novel forms of spray drying technology such as mixed flow spray drying by Jiang *et al.* (2020), and its uses with other materials to yield better capsules such as whey protein by Bhagwat *et al.* (2020).

### 4.3.3 Cellulose

Cellulose is a structural polysaccharide found most abundantly in the cell walls of plants, although it is also produced by bacteria such as that found in acetic fermentations. It is made up, like starch, of glucose monomers, with the difference being that the bonds between subunits are  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 6), forming a much more resistant fibrillar structure. In its natural form, it is of little use as an encapsulating agent due to its very low solubility in water and other common solvents, thus some products derived from it such as methylcellulose, hydroxypropyl cellulose, and carboxymethylcellulose (CMC), and other forms of such as micro and nanocrystalline cellulose are used. Multiple works with both modified cellulose and nano/micro crystalline cellulose are at the forefront of the study of new methods of probiotic encapsulation. Such as the study done by Wang *et al.* (2022) where kelp nanocellulose was incorporated in an alginate microcapsule, leading to increased survivability during gastrointestinal digestion simulation in comparison with a system made exclusively with alginate. Regarding modified cellulose Tao *et al.* (2019), used skim milk along with some polysaccharides including several modified celluloses such as CMC, hydroxypropyl methylcellulose, methylcellulose as well as gum arabic and sodium alginate observing increased survivability of *Lb. paracasei*, after spray drying compared to skim milk alone with encapsulation efficiencies between 91 to 97 %.

### 4.3.4 Chitosan

Chitosan is a food-grade polysaccharide obtained from processing shrimp and other crustaceans' exoskeletons with an alkali such as sodium hydroxide, it is the only carbohydrate used in microencapsulation that is predominantly positively charged. It is composed of  $\beta$  (1 $\rightarrow$  4) linked units of both acetylated and nonacetylated D-glucosamine. It is widely used in the chemical, pharmaceutical, cosmetic, and food industries (Pech-Canul *et al.*, 2020). Chitosan has also been used as an encapsulating agent to encapsulate different probiotics such as *Lb. gasseri*, *Lb. rhamnosus*, *Lb casei*, *Lb. acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* and, *B. bifidum* (Călinoiu *et al.*, 2019).

### 4.3.5 Fructans

Although the bulk of forming units of fructans are as the name suggests fructose the reducing end of the chain is a sucrose unit. There are five different types of fructans according to the kind of bonds they present. The major kinds of fructans are inulin, levan, graminin and neo series inulin and levan. In nature they are found in plants such as onions, garlic, artichokes, asparagus, grasses, and agave. Fructans are widely used in the food industry mainly as a dietary fiber supplement, because of their prebiotic properties (Wang and Cheong, 2023).

Fructans have recently been of interest as encapsulating agents in processes similarly to spray drying such as the study done by Ceja-Medina *et al.* (2020) in which several food gums such as guar, xanthan, and gum Arabic, as well as whey protein concentrate in several encapsulating systems, made up from a mixture of *Aloe vera* mucilage and high molecular weight agave fructans. Being the systems made with *Aloe vera*/fructans/whey and *Aloe vera*/fructans/gum Arabic, the ones with a higher survival rate at about 70 %. Also, the work of Alvarado-Reveles *et al.* (2019) involved the use

of both agave fructans and buttermilk proteins as wall materials yielding  $1.08 \times 10^{10}$  CFU/mL against  $3 \times 10^9$  CFU/mL using buttermilk proteins alone.

#### 4.3.6 Algae polysaccharides

Some of the most used heteropolysaccharides in the industry are derived from algae. Some of the polymers which are currently under use in the food and pharmaceutical industries as encapsulating material are those of the carrageenan family of polymers from which kappa, iota, and lambda carrageenan are the most used. Another relevant polysaccharide obtained from algae is alginic acid often found in its salt form as sodium alginate is a linear polymer with blocks of (1→4) beta-D-mannuronate and alpha-L-guluronate. Another relevant polysaccharide derived from algae is agar, it is most often associated with microbiological culture media, although not properly microencapsulation since the particle size is bigger than 1mm developments such as the one done by Albadran *et al.* (2020) which used chitosan to coat gelatin-agar particles to encapsulate *Lb. plantarum*, demonstrating survival to a simulated gastric and intestinal digestion, demonstrate possible new applications for agar as a potential microencapsulating agent

#### 4.3.7 Gums and mucilages

Gum is a generic name given to a broad number of heteropolysaccharides that are soluble and have the property of forming gels; gums are often found on the seed epidermis, the leaves, and the bark of plants, although there are some, such as xanthan gum, that are of microbial origin. Gums are a response to damage by some plants or unfavorable environmental conditions. Some of the most common gums include guar, acacia (also known as Arabic), and tragacanth gums. Mucilages are natural components of plant metabolism, they are very thick, viscoelastic, and usually do not have as high solubility as gums, inside the plant they are often involved in water retention, calorie reserves, as well as helping in seed germination (Amiri *et al.*, 2021). A widely used gum is gum Arabic which is a heteropolysaccharide obtained from the bark of *Acacia senegal* (L.), its constituents are arabinose, galactose, rhamnose, and glucuronic acid. It has been thoroughly studied as an enveloping material for probiotics such as the work of Arepally *et al.* (2020); in which a mixture of maltodextrin and gum Arabic are used to encapsulate probiotics in a spray dryer, providing better physical and physicochemical properties, as well as higher encapsulation yields when higher concentrations of gum Arabic was used with a viability percentage higher than 80 % (around 7.3-9.9 log CFU/g). An alternative to gum Arabic that is currently under study is mesquite gum, which is obtained from several species of trees under the *Prosopis* genus such as *P. laevigata*, *P. juliflora*, *P. velutina*, and *P. pubescens*. Mesquite gum is made up mainly of monomeric units of L-arabinose and D-galactose with trace amounts of D-xylose, D-mannose, and D-glucuronate, differing from acacia gum because of its lack of L-rhamnose (Mudgil and Barak, 2020). There are few works regarding the use of mesquite gum as a protecting agent for probiotics one of such is the work done by Rodríguez-Huezo *et al.* (2014) a double emulsion process, in which *Lb. plantarum* cells were dispersed in canola oil (continuous phase) and either sweet whey or "aguamiel" (sweet agave juice" were dispersed in water, after that, it was further dispersed in a dispersion of gum Arabic, mesquite gum, and maltodextrin. This emulsion was then integrated into the processing of Oaxaca cheese, exhibiting survival rates of 8.2 and 8.15 log CFU/g for sweet whey and aguamiel respectively versus 6.8 log CFU/g in cheeses prepared with free cells.



Regarding mucilages, while there have been uses in the food industry for them before, it is only recently that such polymers have garnered attention to their potential as new encapsulating materials, although in some cases there has been more development towards the encapsulating of antioxidants or other kinds of ingredients such as the work done by Medina-Torres *et al.* (2019), which involved the encapsulation of gallic acid with nopal (*Opuntia ficus-indica*) and *Aloe vera* mucilage via spray drying, obtaining a higher releasing percentage when encapsulating using *Aloe vera* mucilage while nopal mucilage gave particles with a bimodal particle size distribution and a prolonged release of the active ingredient. The work done by Jannasari *et al.* (2019) in which a mixture of gelatin and cress seed mucilage was used to encapsulate Vitamin D using coacervation as the encapsulation method obtaining up to 67 % of encapsulation efficiency. Cortés-Camargo *et al.* (2017 and 2019), which used a mixture of mesquite gum and nopal mucilage to encapsulate lemon essential oil obtaining the best overall results using a mix of both since nopal mucilage gave greater encapsulating efficiency while mesquite gum allowed for a greater volatile oil retention. Alpizar-Reyes *et al.* (2020) used tamarind seed mucilage to encapsulate sesame seed oil both showed comparable results in peroxide value results for the oil, which was much lower than that of free oil confirming the capabilities of these materials as good encapsulating vectors for essential oils. Although few, work regarding the encapsulation of probiotics using these gums and mucilages, there have been some recent developments such as the works of Lai *et al.* (2020 and 2021). They used flaxseed mucilage to encapsulate *Lb. rhamnosus* GG that yielded a reduction in cellular death during storage between 120-135 % at 4°C and between 52-243 % at 25°C. The work done by Ceja-Medina *et al.* (2020 and 2021), in which *Aloe vera* mucilage and agave fructans (along with some other biopolymers) were used to successfully encapsulate *Lb. plantarum* with a survival rate of above 70 % for the best mixes of polymers (gum Arabic and whey protein concentrate). Homayouni-Rad *et al.* (2021) using *Alyssum homolocarpum* seed mucilage and inulin in spray drying encapsulation to encapsulate *Lb. casei* obtaining a survival rate of around 67 % after gastric simulation as well as showing a good capsule morphology with absent cracks in their walls. Bustamante *et al.* (2020) encapsulating *Lb. plantarum*, *Bifidobacterium longum*, and *B. infantis* using chia and flaxseed mucilages as well as inulin, which exhibited high viability after spray drying with around 98 % of viability and high survivability after storage incorporated with an instant powder juice 10.5-11 log CFU/g for *B. infantis* and between 7.3-8.9 log CFU/g for *Lb. plantarum*.

#### 4.3.8 Prebiotics as encapsulating agents

Prebiotics are substances, typically carbohydrates, which when ingested promote the growth of desirable bacteria groups within the gut they are often classified as dietary fiber. To be considered a prebiotic a polysaccharide must meet certain criteria which include: 1) high resistance to orogastric digestion which includes resistance to both the enzymes found in the mouth and stomach as well as a low pH, 2) it is fermentable by gut bacteria, 3) provides a health benefit to the consumer, 4) selectively stimulates the growth of certain bacteria, 5) stability in food systems. Some of the ways a prebiotic might be incorporated into new products are, emulsifying agents, foam stabilizers, fat or sugar substitutes, fiber supplements, and encapsulating agents (Behare *et al.*, 2021; López-Castejón *et al.*, 2021). The use of prebiotics as an ingredient in products with probiotics has been of interest in recent times, naming such products as *synbiotics*. The importance of research in the realm of symbiotics lies in the synergic effect that the prebiotic has on the probiotic, while not enhancing the growth of other (potentially pathogenic) bacteria. *Synbiotic* show promise as effective tools in managing health outcomes (Maftei, 2019). Typical prebiotics includes fructooligosaccharides (FOS),

galacto-oligosaccharides (GOS), and trans-galacto-oligosaccharides (TOS) (Davani-Davari *et al.*, 2019) although some other substances such as xylooligosaccharides, pectic oligosaccharides, resistant starch, and polyphenols are considered in some instances as such (do Nascimento and Marostica Junior, 2021). Previously in this review, some of such materials have been mentioned as being under study by different research groups as new sources of materials for the encapsulation of probiotics, such as fructooligosaccharides and other fructans by Ceja-Medina *et al.* (2020, 2021), Alvarado-Reveles *et al.* (2019); and resistant starches by Ashwar *et al.* (2018, 2021). Some kinds of resistant starches have shown potential as prebiotics, by enabling the growth of lactobacilli and bifidobacteria (Bojarczuk *et al.*, 2022). Also, pectins have shown promising activity as probiotics such as reported by Singh *et al.*, (2020) and potential as new encapsulating materials such as reported by Motalebi Moghanjoughi *et al.* (2021). *Aloe vera* has shown to be a new possible source of prebiotics as shown by the works of Tornero-Martinez *et al.* (2019) and Quezada *et al.* (2017) which show the potential of *Aloe vera*'s polysaccharides as a possible substrate for probiotics to ferment, fermentation that produces short chain fatty acids. Nopal (*Opuntia ficus-indica*) which has been used as an encapsulating agent for other kind of bioactive materials has also shown potential as a prebiotic, functioning as a substrate for lactobacilli and bifidobacteria (Cruz-Rubio *et al.*, 2020).

Regarding new materials that are being studied as encapsulating agents with the potential of being prebiotic components, materials such as gums, pectin, mucilages, and other biomaterials are a promising frontier and an interesting alternative for new developments and satisfy the current demand in the food industry.

## Conclusions

Although the encapsulation of probiotics is not a new concept there is still much in the way of developing better encapsulating materials. While some materials that are now commonplace in the food and pharmaceutical industries, such as: starches, maltodextrins, and other polysaccharides, which have already been extensively studied; there are still gaps in our knowledge of possible new wall materials. One of such gaps is in the use of new refined proteins obtained from vegetable sources such as soy, peas, and other plants. Another blind spot is the utilization of some gums and mucilages such as those from tree sap (acacia and mesquite gums), seeds (flaxseed, and chia seeds mucilages), and particularly some cactus and other succulents (dragon fruit, prickly pear cladodes, and aloe).

## Acknowledgments

Partial financial support from CONACYT is recognized (Fortalecimiento de Infraestructura-CONACyT 2021, grant No. 317235)

## Conflict of interests

All authors declare that they have no conflicts of interest.

## References

- Albadran, H. A., A. Monteagudo-Mera, V. V. Khutoryanskiy & D. Charalampopoulos. 2020. Development of chitosan-coated agar-gelatin particles for probiotic delivery and targeted release in the gastrointestinal tract. *Applied Microbiology and Biotechnology* 104: 5749–5757. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10632-w>
- Alpizar-Reyes, E., V. Varela-Guerrero, J. Cruz-Olivares, H. Carrillo-Navas, J. Alvarez-Ramirez, & C. Pérez-Alonso. 2020. Microencapsulation of sesame seed oil by tamarind seed mucilage. *International Journal of Biological Macromolecules* 145: 207–215. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.162>
- Alvarado-Reveles, O., S. Fernández-Michel, R. Jiménez-Flores, C. Cueto-Wong, L. Vázquez-Moreno & G. Ramos-Clamont Montfort. 2019. Survival and Goat Milk Acidifying Activity of *Lactobacillus rhamnosus* GG Encapsulated with Agave Fructans in a Buttermilk Protein Matrix. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 11: 1340–1347. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9475-y>
- Amiri, M. S., V. Mohammadzadeh, M.E.T. Yazdi, M. Barani, A. Rahdar & G.Z. Kyzas . 2021. Plant-Based Gums and Mucilages Applications in Pharmacology and Nanomedicine: A Review. *Molecules* 26(6):1770. <https://doi.org/10.3390/molecules26061770>
- Arepally, D., R. S. Reddy & T. K. Goswami. 2020. Studies on survivability, storage stability of encapsulated spray dried probiotic powder. *Current Research in Food Science* 3: 235-242. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2020.09.001>
- Ashwar, B. A., A. Gani, A. Gani, M. Ahmad & A. Shah. 2021. Encapsulating probiotics in novel resistant starch wall material for production of rice flour extrudates. *LWT* 140: 110839. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110839>
- Ashwar, B. A., A. Gani, A. Gani, A. Shah & F. A. Masoodi. 2018. Production of RS4 from rice starch and its utilization as an encapsulating agent for targeted delivery of probiotics. *Food Chemistry* 239: 287–294. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.110>
- Avila-Reyes, S. V., F. J. Garcia-Suarez, M.T. Jiménez, M. F. San Martín-Gonzalez & L. A. Bello-Perez. 2014. Protection of *L. rhamnosus* by spray-drying using two prebiotics colloids to enhance the viability. *Carbohydrate Polymers* 102: 423–430. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.11.033>
- Behare, P., S. A. Hussain, D. R. Naranjo, P. Sharma & O. McAuliffe. 2021. Chapter 12 Prebiotic and Probiotic Food Formulations. In Shivani Pathania, Brijesh K. Tiwari (Editors), *Food Formulation: Novel Ingredients and Processing Techniques* (pp. 237–263). Wiley-Blackwell <https://doi.org/10.1002/9781119614760.ch12>
- Bermudez-Brito, M., J. Plaza-Díaz, S. Muñoz-Quezada, C. Gómez-Llorente & A. Gil. 2012. Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism* 61: 160–174. <https://doi.org/10.1159/000342079>

- Bhagwat, A., P. Bhushette & U. S. Annapure. 2020. Spray drying studies of probiotic Enterococcus strains encapsulated with whey protein and maltodextrin. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences 9:33. <https://doi.org/10.1186/s43088-020-00061-z>
- Bojarczuk, A., S. Skąpska, A. M. Khaneghah & K. Marszałek. 2022. Health benefits of resistant starch: A review of the literature. Journal of Functional Foods 93: 105094. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105094>
- Bustamante, M., L. Laurie-Martínez, D. Vergara, R. Campos-Vega, M. Rubilar & C. Shene. 2020. Effect of three polysaccharides (inulin, and mucilage from chia and flax seeds) on the survival of probiotic bacteria encapsulated by spray drying. Applied Sciences 10(13): 4623. <https://doi.org/10.3390/app10134623>
- Călinoiu, L. F., B. E. Ștefănescu, I. D. Pop, L. Muntean & D. C. Vodnar. 2019. Chitosan coating applications in probiotic microencapsulation. Coatings 9(3): 194. <https://doi.org/10.3390/coatings9030194>
- Ceja-Medina, L. I., L. Medina-Torres, M. González-Ávila, J.C. Martínez-Rodríguez, I. Andrade-González, M. Calderón Santoyo, J.A. Ragazzo-Sánchez & R.I. Ortiz-Basurto. 2021. In vitro synbiotic activity of *Lactobacillus plantarum* encapsulated with mixtures of *Aloe vera* mucilage, agave fructans and food additives as wall materials. Revista Mexicana de Ingeniería Química 20(2): 711–723. <http://rmiq.org/iqfvp/Numbers/V20/No2/Bio2234.html>
- Ceja-Medina, L. I., R. I. Ortiz-Basurto, L. Medina-Torres, F. Calderas, M. J. Bernad-Bernad, R. F. González-Laredo, J. A. Ragazzo-Sánchez, M. Calderón-Santoyo, M. González-Ávila, I. Andrade-González & O. Manero. 2020. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* by spray drying with mixtures of Aloe vera mucilage and agave fructans as wall materials. Journal of Food Process Engineering, 43(8): e13436. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13436>
- Choudhury, N., M. Meghwal & K. Das. 2021. Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. Food Frontiers 2(4): 426–442. <https://doi.org/10.1002/fft2.94>
- Cortés-Camargo, S., J. Cruz-Olivares, B. E. Barragán-Huerta, O. Dublán-García, A. Román-Guerrero & C. Pérez-Alonso. 2017. Microencapsulation by spray drying of lemon essential oil: Evaluation of mixtures of mesquite gum–nopál mucilage as new wall materials. Journal of Microencapsulation 34(4), 395–407. <https://doi.org/10.1080/02652048.2017.1338772>
- Crook, N., A. Ferreira, A. J. Gasparrini, M. W. Pesesky, M. K. Gibson, B. Wang, X. Sun, Z. Condiotte, S. Dobrowolski, D. Peterson & G. Dantas. 2019. Adaptive Strategies of the Candidate Probiotic *E. coli* Nissle in the Mammalian Gut. Cell Host and Microbe 25(4): 499–512.e8. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.02.005>
- Cruz-Rubio, J. M., M. Mueller, R. Loeppert, H. Viernstein & W. Praznik. 2020. The Effect of Cladode drying techniques on the prebiotic potential and molecular characteristics of the mucilage extracted from *Opuntia ficus-indica* and *Opuntia joconostle*. Scientia Pharmaceutica 88(4): 43. <https://doi.org/10.3390/scipharm88040043>

- Dafe, A., H. Etemadi, H. Zarredar & G. Reza-Mahdavinia. 2017. Development of novel carboxymethyl cellulose/k-carrageenan blends as an enteric delivery vehicle for probiotic bacteria. *International Journal of Biological Macromolecules* 97: 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.016>
- Davani-Davari, D., M. Negahdaripour, I. Karimzadeh, M. Seifan, M. Mohkam, S. J. Masoumi, A. Berenjian & Y. Ghasemi. 2019. Prebiotics: Definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *MDPI Foods* 8(3): 92. <https://doi.org/10.3390/foods8030092>
- Dhakal, S. P. & J. He. 2020. Microencapsulation of Vitamins in Food Applications to Prevent Losses in Processing and Storage: A Review. *Food Research International* 137:109326. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109326>
- do Nascimento, R. de P. & M. R. Marostica Junior. 2021. Emerging Prebiotics: Nutritional and Technological Considerations. In A. Gomes da Cruz, C. Senaka Ranadheera, F. Nazzaro, & N. Amir Mortazavian (Editors), *Probiotics and Prebiotics in Foods: Challenges, Innovations, and Advances* (pp. 13–46). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819662-5.00016-1>
- FAO/WHO. (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. <http://fanus.com.ar/posgrado/10-09-25/fao%20probiotics.pdf>
- FAO/WHO. (2006). Probiotics in Food Health and nutritional Properties and guidelines for the Evaluation.
- George Kerry, R., J. K Patra, S. Gouda, Y. Park, H. S. Shin & G. Das. 2018. Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis* 26(3): 927–939. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002>
- González-Ferrero, C., J. M. I rache, B. Marín-Calvo, L. Ortiz-Romero, R. Virto-Resano & C. J. González-Navarro. 2020. Encapsulation of probiotics in soybean protein-based microparticles preserves viable cell concentration in foods all along the production and storage processes. *Journal of Microencapsulation* 37(3): 242–253. <https://doi.org/10.1080/02652048.2020.1724203>
- Guo, P., K. Zhang, X. Ma & P. He. 2020. Clostridium species as probiotics: Potentials and challenges. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 11:24. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0402-1>
- Gut, A. M., T. Vasiljevic, T., Yeager & O. N. Donkor. 2018. Salmonella infection – Prevention and treatment by antibiotics and probiotic yeasts: A review. *Microbiology* 164(11): 1327–1344. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000709>
- Homayouni-Rad, A., A. M. Mortazavian, M. G. Mashkani, N. Hajipour, & H. Pourjafar. 2021. Effect of *Alyssum homolocarpum* mucilage and inulin microencapsulation on the survivability of *Lactobacillus casei* in simulated gastrointestinal and high-temperature conditions. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 35: 102075. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102075>
- Hu, M., J. Guo, Y. Yu, L. Cao & Y. Xu. 2017. Research advances of microencapsulation and its prospects in the petroleum industry. *Materials*, 10(4): 369. <https://doi.org/10.3390/ma10040369>

- Jannasari, N., M. Fathi, S. J. Moshtaghian & A. Abbaspourrad. 2019. Microencapsulation of vitamin D using gelatin and cress seed mucilage: Production, characterization and in vivo study. *International Journal of Biological Macromolecules* 129: 972–979. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.096>
- Jiang, N., G. Dev Kumar, J. Chen, A. Mishra & K. Mis Solval. 2020. Comparison of concurrent and mixed-flow spray drying on viability, growth kinetics and biofilm formation of *Lactobacillus rhamnosus* GG microencapsulated with fish gelatin and maltodextrin. *LWT* 124: 109200. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109200>
- Kandasamy, S. & R. Naveen. 2022. A review on the encapsulation of bioactive components using spray-drying and freeze-drying techniques. *Journal of Food Process Engineering* 45(8): e14059. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14059>
- Kim, W., Y Wang & C. Selomulya. 2020. Dairy and plant proteins as natural food emulsifiers. *Trends in Food Science and Technology* 105: 261-272. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.012>
- Lai, K., Y. How & L. Pui. 2021. Microencapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* GG with flaxseed mucilage using co-extrusion technique. *Journal of Microencapsulation* 38(2):134-148. <https://doi.org/10.1080/02652048.2020.1863490>
- Lai, K. W., Y. H. How & L. P. Pui. 2020. Storage stability of microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in hawthorn berry tea with flaxseed mucilage. *Journal of Food Processing and Preservation* 44(12): e14965. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14965>
- Lee, Y., Y. R. Ji, S. Lee, M. J. Choi & Y. Cho. 2019. Microencapsulation of probiotic *Lactobacillus acidophilus* kbl409 by extrusion technology to enhance survival under simulated intestinal and freeze-drying conditions. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 29(5): 721–730. <https://doi.org/10.4014/jmb.1903.03018>
- López-Castejón, M. L., C. Bengoechea, J. M. Alguacil & C. Carrera. 2021. Prebiotic food foams stabilized by inulin and  $\beta$ -lactoglobulin. *Food Hydrocolloids* 119: 106829. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106829>
- Macías-Cortes, E., J.A. Gallegos-Infante, N.E. Rocha-Guzmán, M.R. Moreno-Jiménez, L. Medina-Torres, R. F. González-Laredo. 2020. Microencapsulation of phenolic compounds: Technologies and novel polymers Phenolic compounds. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 19(2): 491–521. <https://bit.ly/3oxjyRd>
- Maftei, N. M. 2019. Probiotic, prebiotic and synbiotic products in human health. In *Frontiers and new trends in the science of fermented food and beverages*. In R. L. Solís-Oviedo & A. de la Cruz (Editors). *Frontiers and new trends in the science of fermented food and beverages*. IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.81553>
- Mehta, N., P. Kumar, A. K. Verma, P. Umaraw, Y. Kumar, O. P. Malav, A. Q. Sazili, R. Domínguez, J. M. Lorenzo. 2022. Microencapsulation as a Noble Technique for the Application of Bioactive Compounds in the Food Industry: A Comprehensive Review. *Applied Sciences* 12(3): 1424. <https://doi.org/10.3390/app12031424>

- Motalebi Moghanjoughi, Z., M. Rezazadeh Bari, M. Alizadeh Khaledabad, S. Amiri & H. Almasi. 2021. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium animalis* BB-12 in pectin and sodium alginate: A comparative study on viability, stability, and structure. *Food Science & Nutrition* 9(9): 5103-5111. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2470>
- Mudgil, D. & S. Barak. 2020. Mesquite gum (*Prosopis* gum): Structure, properties & applications - A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 159: 1094–1102. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.153>
- Obradović, N., M. Volić, V. Nedović, M. Rakin & B. Bugarski. 2022. Microencapsulation of probiotic starter culture in protein–carbohydrate carriers using spray and freeze-drying processes: Implementation in whey-based beverages. *Journal of Food Engineering* 321: 110948. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.110948>
- Paula, D. de A., E. M. Furtado-Martins, N. de Almeida-Costa, P. Martins de Oliveira, E. Basílio de Oliveira & A. Mota-Ramos. 2019. Use of gelatin and gum arabic for microencapsulation of probiotic cells from *Lactobacillus plantarum* by a dual process combining double emulsification followed by complex coacervation. *International Journal of Biological Macromolecules* 133: 722–731. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.110>
- Pech-Canul, A. D. L. C., D. Ortega, A. García-Triana, N. González-Silva & R. L. Solis-Oviedo. 2020. A brief review of edible coating materials for the microencapsulation of probiotics. *Coatings* 10(3): 197. <https://www.mdpi.com/2079-6412/10/3/197#>
- Poltronieri, P., G. Battelli & N. P. Mangia. 2017. Metabolism and biochemistry of LAB and dairy-associated species. In Palmiro Poltronieri (Editor) *Microbiological Opportunities and Challenges in the Dairy Industry*, 97–122. Wiley online library. <https://doi.org/10.1002/9781119115007.ch6>
- Qi, X., Y. Lan, J. B. Ohm, B. Chen & J. Rao. 2021. The viability of complex coacervate encapsulated probiotics during simulated sequential gastrointestinal digestion affected by wall materials and drying methods. *Food & Function* 12(19): 8907-8919. <https://doi.org/10.1039/D1FO01533H>
- Quezada, M. P., C. Salinas, M. Gotteland & L. Cardemil. 2017. Acemannan and fructans from *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) plants as novel prebiotics. *Journal of agricultural and food chemistry* 65(46): 10029-10039. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04100>
- Rodríguez-Huezo, M. E., A. G. Estrada-Fernández, B. E. García-Almendárez, F. Ludeña-Urquizo, R. G. Campos-Montiel & D. J. Pimentel-González. 2014. Viability of *Lactobacillus plantarum* entrapped in double emulsion during Oaxaca cheese manufacture, melting and simulated intestinal conditions. *LWT - Food Science and Technology* 59(2P1): 768–773. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.004>
- Singh, R. P., S. Prakash, R. Bhatia, M. Negi, J. Singh, M. Bishnoi & K. K. Kondepudi. 2020. Generation of structurally diverse pectin oligosaccharides having prebiotic attributes. *Food Hydrocolloids* 108: 105988. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105988>
- Staniszewski, A. & M. Kordowska-Wiater. 2021. Probiotic and potentially probiotic yeasts—characteristics and food application. *Foods* 10(6): 1306. <https://doi.org/10.3390/foods10061306>

- Ushiyama, T. & N. Shimizu. 2018. Microencapsulation using spray-drying: The use of fine starch solution for the wall material. *Food Science and Technology Research* 24(4): 653–659. <https://doi.org/10.3136/fstr.24.653>
- Vanden Braber, N. L., L. I. Díaz Vergara, Y. E. Rossi, C. A. Aminahuel, A. N. Mauri, L. R. Cavaglieri, & M. A. Montenegro. 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* 118: 108844. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108844>
- Vinderola, G., A. Ouwehand, S. Salminen & A. von Wright. (Eds.). 2019. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. 5th ed. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429057465>
- Wang, M. & K. L. Cheong. 2023. Preparation, structural characterisation, and bioactivities of fructans: A review. *Molecules* 28(4): 1613. <https://doi.org/10.3390/molecules28041613>
- Wang, K., J. Ni, H. Li, X. Tian, M. Tan & W. Su. 2022. Survivability of probiotics encapsulated in kelp nanocellulose/alginate microcapsules on microfluidic device. *Food Research International* 160: 111723. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111723>
- Yoha, K. S., J. A. Moses & C. Anandharamakrishnan. 2020. Effect of encapsulation methods on the physicochemical properties and the stability of *Lactobacillus plantarum* (NCIM 2083) in synbiotic powders and in-vitro digestion conditions. *Journal of Food Engineering* 283: 110033. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110033>
- Yang, M., Z. Liang, L. Wang, M. Qi, Z. Luo & L. Li. 2020. Microencapsulation delivery system in food industry—Challenge and the way forward. *Advances in Polymer Technology*. Special Issue (Article ID 7531810) <https://doi.org/10.1155/2020/7531810>

2023 TECNOCENCIA CHIHUAHUA

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



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



Artículo Científico

# Aplicación en campo de la biorremediación mejorada a cortes de perforación contaminados con diésel

Field application of enhanced bioremediation to drilling cuttings contaminated with diesel

Yuletsis Díaz Rodríguez<sup>1\*</sup>, Roberto Romero Silva<sup>1</sup>, Danai Hernández Hernández<sup>1</sup>, Claudia Chao Reyes<sup>1</sup>, Carlos C. Cañete Pérez<sup>1</sup> y Silvia Acosta Díaz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación del Petróleo. Churruca #481, Cerro, La Habana, Cuba

\*Correspondencia: [yuletsis@ceinpet.cupet.cu](mailto:yuletsis@ceinpet.cupet.cu) (Yuletsis Díaz Rodríguez)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v17i1.1146>

Recibido: 20 de enero de 2023; Aceptado: 18 de abril de 2023

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

## Resumen

El manejo inadecuado de residuos peligrosos generados por la industria petrolera constituye mundialmente un problema de contaminación de suelos. Las estrategias cubanas actuales para incrementar la producción de hidrocarburos, introducen residuos como cortes de perforación contaminados con diésel, lo que requiere nuevas medidas para una adecuada gestión ambiental, no disponible hasta el momento. Basado en experiencias existentes sobre biorremediación en Cuba, se pretende reducir la carga contaminante de estos cortes. Como propósito se tiene, evaluar un proceso de biorremediación mejorada, con acondicionadores orgánicos, a cortes de perforación contaminados con diésel para su manejo y disposición final. El proceso se desarrolló a escala de campo empleando el método de bioestimulación. El seguimiento analítico se realizó mediante la medición de grasas y aceites, hidrocarburos totales según normas establecidas. La actividad microbiana se evaluó mediante la respirometría en suelos, con crecimiento exponencial entre 90 y 150 días. En la aplicación se logró una remoción superior al 70 % de los contaminantes y disminución del contenido de aromáticos en un 61 %. Además, no hubo toxicidad para la biota terrestre en el suelo tratado. El tratamiento por biorremediación mejorada de estos residuos es beneficiosa para su manejo y puede disminuir el impacto al medio ambiente.

**Palabras clave:** residuos peligrosos, bioestimulación, landfarming, toxicidad de suelos.

## Abstract

Inadequate management of hazardous waste generated by the oil industry is a worldwide problem of soil contamination. The current Cuban strategies to increase the production of hydrocarbons introduce residues such as drilling cuttings contaminated with diesel, which requires new measures

for adequate environmental management, not available up to now. Based on existing experiences on bioremediation in Cuba, it's intended to reduce the polluting load of these cuts. The purpose is to evaluate an improved bioremediation process, with organic conditioners, to drilling cuts contaminated with diesel for its handling and final disposal. The process was developed on a field scale using the biostimulation method. Analytical monitoring was carried out by measuring fats and oils, total hydrocarbons according to established standards. Microbial activity was evaluated by respirometry in soils, with exponential growth between 90 and 150 days. In the application, a removal of more than 70 % of the contaminants was achieved and a reduction of the aromatic content by 61 %. Furthermore, there was no toxicity to terrestrial biota in the treated soil. The improved bioremediation treatment of these residues is beneficial for their management and can reduce the impact on the environment.

**Keywords:** hazardous waste, bioestimulation, landfarming, soil toxicity.

## 1. Introducción

Los cortes de perforación petrolera son aquellos fragmentos de rocas que se obtienen de dicho proceso y están constituidos por minerales de las formaciones perforadas y otros compuestos, además están impregnados con fluidos o lodos de perforación. Dichos fluidos se clasifican teniendo en cuenta la composición del lodo lo que define la función y rendimiento del mismo (Fink, 2021). En particular los lodos base aceite presentan como base continua o externa el petróleo crudo o derivados, lo que resulta de gran utilidad en casos de zonas productoras con problemas de estabilidad de pozos por arcillas sensibles y perforación de pozos profundos a altas temperaturas (Ramírez, 2014). Ante estas ventajas funcionales y otras, hay varias operadoras que prefieren utilizar los lodos base aceite, aunque su utilización implique un alto costo económico (Oseh *et al.*, 2019). En adición a esto, el aceite diésel que se utiliza presenta un contenido de hidrocarburos aromáticos de un 30 %, lo que resulta peligroso para la salud humana y el medio ambiente. De ahí que en la actualidad muchas compañías optan por el uso de aceite mineral, que tiene menos afectaciones (contiene menos del 10 % en contenido de compuestos aromáticos) aunque costos más elevados para llegar a un equilibrio entre la operación, costos y protección del medio ambiente (Davarpanah *et al.*, 2018).

Actualmente en Cuba se aplican nuevos métodos no explorados como es la perforación con fluidos base aceite diésel debido a la complejidad tecnológica que presentaron los últimos pozos perforados en el área de Varadero Oeste. Al respecto el país se ubica en la élite mundial en los pozos horizontales de largo alcance con el pozo más extenso perforado en Cuba bajo estas condiciones, con una longitud de más de ocho kilómetros (de Jesús, 2017). Todo ello en función de extender los horizontes petroleros mediante la perforación direccional pero limitado al uso de fluidos base aceite diésel de más fácil adquisición que los ecológicos.

Por otro lado, estas nuevas estrategias para incrementar la producción de hidrocarburos, introducen residuos sólidos como los cortes de perforación base aceite diésel, lo que requiere nuevas medidas para su manejo y disposición adecuado, no disponibles hasta el momento. Así mismo la acumulación de grandes volúmenes de estos residuos peligrosos en Cuba pudiera constituir un problema de contaminación de suelos y agua.

Actualmente existen diversas tecnologías enfocadas en el tratamiento de cortes de perforación, las cuales se clasifican en procesos físico, químicos, térmicos (Davaranah *et al.*, 2018; Fink, 2021) y biológicos (Brutti *et al.*, 2018; Rivera-Ortiz *et al.*, 2018; Kebede *et al.*, 2021). Los últimos son recomendados con frecuencia y se informa que la biorremediación permite reducir la carga contaminante de los residuos a partir de la capacidad degradadora de los microorganismos endógenos. Este proceso usualmente requiere el empleo de varias especies de microorganismos, de modo que se favorezca la metabolización simultánea de los diversos compuestos que forman el petróleo y no a un limitado intervalo de hidrocarburos que puede metabolizar una sola especie (Brutti *et al.*, 2018).

En Cuba existe experiencia práctica acerca del manejo de suelos contaminados con hidrocarburos, destacándose acciones de biorremediación para el manejo de los residuos sólidos petrolizados generados por la limpieza de tanques de almacenamiento (Romero *et al.*, 2016), con resultados prometedores en el desarrollo de la técnica de landfarming. En este sentido se aplica fundamentalmente la bioestimulación para mejorar las cargas de nitrógeno y fósforo necesarias para el proceso.

En el caso de residuos más recalcitrantes como los cortes de perforación contaminados con lodo base diésel, para el tratamiento y disposición final en el medio ambiente, resulta necesario partir de las experiencias en la realización de ensayos de tratabilidad a escala de laboratorio (Romero *et al.*, 2019a; Romero *et al.*, 2019b). Sobre la base de lo expuesto se requiere una posterior aplicación a escala de campo de esta tecnología. De ahí que, si se logra disminuir la concentración de hidrocarburos de este residuo hasta 1 % mediante la aplicación del proceso de biorremediación, es posible el manejo y disposición final de los mismos en las empresas de perforación y extracción de petróleo pertenecientes a la Unión Cuba Petróleo. Por tal motivo la presente investigación se propone aplicar el proceso de biorremediación mejorada en campo a cortes de perforación contaminados con lodos base diésel.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1 Montaje del proceso

El proceso de biorremediación se aplicó según la técnica de landfarming y el método de bioestimulación. Para llevar a cabo la aplicación se utilizó un área aledaña al pozo en explotación (ex situ), ubicado en la zona de Varadero Oeste, de la provincia Matanzas, Cuba. El área, con dimensiones de 33 x 33 m, se compactó en el fondo con serpentinita azul rocosa para evitar la lixiviación del residuo a tratar. Posteriormente se añadió el suelo capa vegetal hasta una altura de 0,5 m.

Los residuos tratados fueron cortes de perforación impregnados con lodo base combustible diésel provenientes de la piscina de almacenamiento temporal, ubicada en el mismo pozo. Se tomaron 50 m<sup>3</sup> de cortes de perforación y se mezclaron con tierra capa vegetal en una relación 1:2, para un total de 150 m<sup>3</sup> de suelo contaminado. Posteriormente se agregaron 24 m<sup>3</sup> de lodo activo, 9 m<sup>3</sup> de paja de arroz seca como acondicionador orgánico y 0,3 m<sup>3</sup> de urea realizando una fertilización al boleto. El lodo proviene de la Estación de Depuración de Aguas Residuales (EDAR) "La Concha y Chapelín",

pertenecientes a la sucursal Aguas Varadero. La paja de arroz seca fue suministrada por un productor agrícola no estatal, de la provincia Mayabeque.



**Figura 1.** Ejecución del proceso. De izquierda a derecha: Adición de los cortes, lodo activo, urea y mezclado del suelo

**Figure 1.** Process execution: from left to right: Addition of the cuts, active sludge, urea and soil mixing

En el caso de la paja de arroz se distribuyó manualmente para mejorar la homogenización posterior, con el equipo de movimiento de tierra. El proceso se desarrolló a temperatura ambiente dada las condiciones climáticas de Cuba en los meses de primavera, donde se garantiza la temperatura entre 10 y 47°C según se recomienda para estos procesos (Instituto Nacional de Normalización, NC-819, 2017).

## 2.2 Caracterización y seguimiento analítico del proceso

El suelo capa vegetal, lodo activo y el corte de perforación contaminado con diésel se caracterizaron previamente como línea base y para conocer su aporte al proceso. Para el seguimiento analítico del tratamiento se tomaron muestras compósito, mediante el sistema de las circunferencias concéntricas según establece la norma cubana NC-37 (Instituto Nacional de Normalización, 1999); en tiempos de 0, 45, 90, 150, 200 y 250 días. A dichas muestras se le realizó una homogenización previa y se tomó una muestra representativa para su análisis fisicoquímico y microbiológico, según los métodos que se muestran en la tabla 1.

La evaluación de la actividad microbiana en el suelo se determinó mediante la respiración aeróbica de los microorganismos en el mismo, según el método de respirometría en campo descrito por Salazar, (2009). Dicho método determina el oxígeno consumido y la liberación de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). La medición se llevó a cabo por 18 horas con el uso de un recipiente que contiene una solución de hidróxido de potasio 0,1 N cubierto por otro de mayor tamaño, que presionado hacia el fondo del suelo evita el contacto con el medio exterior. El CO<sub>2</sub> liberado por la actividad biológica queda adsorbido en la solución y posteriormente se determinó por método volumétrico con ácido clorhídrico 0,1 N. El ensayo respirométrico se ejecutó al inicio del proceso de biorremediación y en los muestreos correspondientes a los tiempos 150, 200 y 250 días del tratamiento. La producción de CO<sub>2</sub> en el tiempo se evaluó estadísticamente mediante el análisis de varianza (ANOVA) y las pruebas de múltiples rangos por el método de Duncan, con el programa estadístico Statgraphics Centurion XV. versión 15.2.05 de uso libre (StatPoint Inc. 2007).

**Tabla 1.** Métodos de ensayos**Table 1.** Test methods

Ensayo	Métodos y Normas
Grasas Y Aceites (G y A)	
Hidrocarburos Totales (HCT)	Gravimétrico, APHA-5520 (American Public Health Association, 2017)
Saturados, Aromáticos, Resinas y Asfaltenos (SARA)	EPA-3540 C (Environmental Protection Agency, 1996)
pH	NC-32 (Instituto Nacional de Normalización, 2009)
Conductividad eléctrica (CE)	
Conteo de microorganismos totales (CMOT)	Conteo en placa, ISO IS-5188 (International Organization for Standardization, 2012)
Microorganismos Degradadores de Hidrocarburos (CMDH)*	*MBH Medium ( <i>Modified Bushnell and Hass Salt solution</i> ), (Wyndham et al., 1981)
Nitrógeno Total (N <sub>T</sub> )	ISO-11261 (International Organization for Standardization, 2017)
Fósforo Total (P <sub>T</sub> )	ISO-11263: (International Organization for Standardization, 1994)

Además, se calcularon las tasas de biodegradación según la siguiente expresión:

$$TB = \frac{C_i - C_f}{C_i} \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde:

*TB*: tasa de biodegradación (%)

*C<sub>i</sub>*: Concentración inicial de G y A e HCT (mg kg<sup>-1</sup>).

*C<sub>f</sub>*: Concentración final de G y A e HCT (mg kg<sup>-1</sup>).

La ecotoxicidad del suelo tratado se evaluó una vez que el contenido de HCT, G y A fue igual al 1 %, lo que se especifica en la normativa cubana de referencia NC-819 (Instituto Nacional de Normalización, 2017), en función de su disposición final al medio ambiente. Los bioensayos se realizaron según los protocolos establecidos en el CEINPET (Acosta y Romero, 2014). En tal caso se utilizaron como bioindicadores las semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*), con un 90 % de probabilidad de germinación y certificación aprobada para su uso; y lombrices de tierra de la especie *Eisenia andrei*. El bioensayo con semillas de tomate se realizó en placas Petri empleando 50 g de suelo tratado. En cada placa Petri se colocaron 10 semillas, asegurando espacio suficiente para permitir la elongación de las raíces. Las placas se cubrieron con bolsas plásticas negras para evitar la pérdida de humedad y la entrada de luz e incubaron a 35°C durante un período de 120 horas. En el ensayo con la lombriz de tierra se utilizaron 10 organismos en 200 g de suelo tratado y se incubaron a temperatura ambiente por 14 días. En cada prueba se incluyó un control con suelo limpio y dos réplicas para cada caso. Para determinar el efecto tóxico del suelo tratado se calculó la concentración letal media (CL<sub>50</sub>), que se refiere a la concentración estimada que produce una mortalidad (o no

germinación) del 50 % del bioindicador expuesto durante la experimentación. En caso de existir una mortalidad superior al 50 % se considera que el suelo tratado es tóxico.

### 3. Resultados y discusión

En la caracterización inicial del residuo se evidencian niveles de concentración de G y A (8,4 %) e HCT (3,9 %) significativos lo que es consecuente con la procedencia y características del mismo (tabla 2). Dichos valores sobrepasan la concentración máxima admisible para disposición final de residuos petrolizados según la normativa vigente NC-819 (Instituto Nacional de Normalización, 2017). El suelo y lodo activo presentaron concentraciones muy bajas de estos compuestos lo que puede estar asociado a otros componentes orgánicos aportados por la materia orgánica y trazas de otros residuos presentes en cada material. Esto último puede ser beneficioso para el proceso ya que influye favorablemente en la biota exhibida en los mismos, pues utilizan esta fuente de carbono y se encuentran adaptadas a dichos sustratos (Koshlaf and Ball, 2017). Tal situación se confirmó por el contenido de microorganismos degradadores de hidrocarburos y totales presentes en cada una de las muestras estudiadas. Las concentraciones se consideran propicias para la aplicación de biotratamientos, según la normativa cubana NC-819 (Instituto Nacional de Normalización, 2017). La relación C/N no se encontró acorde a lo recomendado en la literatura de ahí el suplemento del proceso con la paja de arroz y la urea.

**Tabla 2.** Características físico-químicas y microbiológicas

**Table 2.** Physico-chemical and microbiological characteristics

Muestra	G y A	HCT	pH	CE <sup>(a)</sup>	N <sub>T</sub>	P <sub>T</sub>	CMDH <sup>(b)</sup>	CMOT <sup>(c)</sup>
	(mg.kg <sup>-1</sup> )			mScm <sup>-1</sup>	%		UFC.g <sup>-1</sup> (d)	
Suelo capa vegetal	1170 (0,1 %)	350 (0,03 %)	8,13	0,3	4,28	8,52	2,6·10 <sup>8</sup>	2,9·10 <sup>10</sup>
Lodo activo de EDAR <sup>(e)</sup>	3630 (0,4 %)	740 (0,07 %)	6,95	3,17	7,92	3,16	3,7·10 <sup>9</sup>	2,4·10 <sup>10</sup>
Corte de perforación contaminado con diésel	83710 (8,4 %)	38930 (3,9 %)	8,11	0,6	38,18	24,33	7,5·10 <sup>7</sup>	2,5·10 <sup>9</sup>
NC-819, 2017 <sup>(f)</sup>	10 000 mg kg <sup>-1</sup> (1 %)		6-8	-	-	-	10 <sup>3</sup> -10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>

(a) Conductividad Eléctrica

(b) Conteo de Microorganismos Degradadores de Hidrocarburos

(c) Conteo de Microorganismos Totales

(d) Unidades formadoras de colonias por g de suelo o residuo

(e) Estación de Depuración de Aguas Residuales

(f) Concentración máxima admisible para disposición final de desechos en el manejo de fondaje de tanques de almacenamiento de petróleo y sus derivados

- No se especifica en la norma

En el seguimiento analítico del proceso se obtuvieron resultados que permitieron evaluar la efectividad del proceso de biodegradación en el tiempo con una disminución sostenida de la concentración de grasas, aceites e hidrocarburos totales (G y A e HCT) (Fig. 2). Los datos se asociaron a la actividad de aireación realizada solamente en los tiempos de 0, 90 y 200 días, debido a dificultades logísticas con el equipamiento.

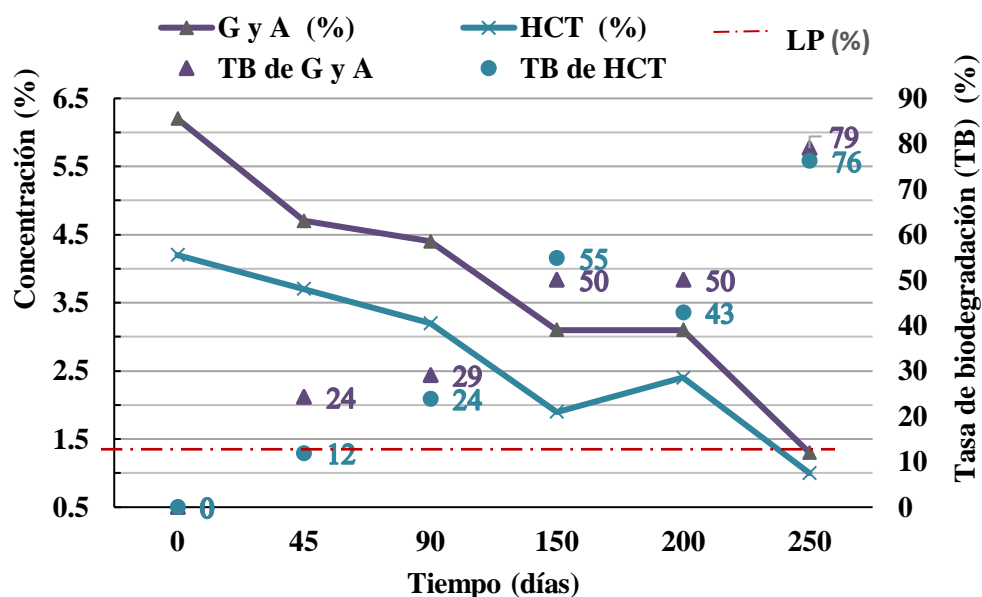


Figura. 2. Degradación de los índices de contaminación del suelo.

Figure. 2. Degradation of soil contamination indices.

Donde: límite permisible (LP)

Los efectos sugieren la ocurrencia del proceso de biodegradación, lo que se refleja en una tasa de degradación del 50 % para G y A y 55 % para HCT, en 150 días. Así mismo se observa una pendiente de la curva superior en los 90 y 200 días que coincide con las aireaciones mecánicas realizadas lo que indica una biodegradación mayor bajo estas condiciones. Tal situación corresponde con lo que se informa en la literatura sobre el carácter indispensable de la aireación o disponibilidad de oxígeno para estimular a los microorganismos en el proceso de degradación (Kebede *et al.*, 2021). No obstante, dichos resultados difieren de los alcanzados a escala de banco con la utilización de acondicionadores orgánicos (bagazo de caña y paja de arroz), donde se obtuvieron tasas de remoción de G y A similares (54 %) pero en un tiempo de 90 días (Romero-Silva *et al.*, 2019a), inferior al evaluado en campo.

En los 250 días se alcanzaron disminuciones del contenido de G y A e HCT hasta valores de 1,3 % y 1 %, respectivamente. En particular las G y A no alcanzaron el límite permisible (LP) para la disposición final del suelo tratado según la normativa de referencia utilizada (Instituto Nacional de Normalización, 2017), aunque se encontró bastante cercano. De cualquier modo, se obtuvieron tasas de biodegradación final de 72 % para G y A y 73 % para HCT, en los 250 días evaluados.

Por otro lado, Rivera *et al.*, (2018) obtuvieron una remoción de HCT del 58 % en la biorremediación de suelos contaminados con cortes de perforación por un período de 180 días sin adición de nutrientes a escala de banco. Sin embargo, en las pruebas realizadas con adición de nutrientes se mostraron mejores resultados alcanzando un 85 % de remoción correspondiente a la disminución de la concentración de HC desde 25000 hasta 3586 mg kg<sup>-1</sup>. Tales resultados difieren de los obtenidos en este estudio donde la concentración inicial de HCT en la mezcla de suelo y corte de perforación contaminado con diésel fue superior; y aunque solo se alcanzó una remoción del 55 % de HCT la concentración disminuyó de 42194 hasta 18649 mg kg<sup>-1</sup> en 150 días, que es un tiempo similar al realizado por esos autores.

El crecimiento microbiano durante todo el proceso fue superior a 10<sup>7</sup> lo que se manifiesta en un nivel favorable para llevar a cabo estos procesos según recomienda la normativa de referencia NC 819 (Instituto Nacional de Normalización, 2017) (Fig. 3.), aunque se potencia con la aireación realizada después de los 90 días, fundamentalmente para los microorganismos degradadores de hidrocarburos. En la literatura se informa que la degradación de hidrocarburos por bacterias aerobias requiere inicialmente la introducción de oxígeno en la molécula para la oxidación del mismo, lo que permite una mayor disponibilidad de los productos de las reacciones de oxigenación y que sean más solubles en agua para ser atacados en reacciones posteriores de deshidratación e hidroxilación (Kebede *et al.*, 2021). Dicha biodegradación estará influenciada por la versatilidad metabólica que posean las bacterias presentes y la acción cooperativa de la población mixta (Brutti *et al.*, 2018). El análisis respirométrico se corresponde con lo dicho anteriormente y manifiesta que aun con la disminución del desarrollo de los microorganismos, estos se mantienen degradando los compuestos hidrocarbonados. El análisis de varianza demostró que existe una diferencia estadísticamente significativa de la media de producción de CO<sub>2</sub> entre un nivel de tiempo y otro con un nivel de confianza del 95 %. Según la prueba de múltiples rangos las diferencias marcadas se encontraron entre los tiempos 0-150 y 150-250 días. Tal situación sugiere que entre los 90 y 150 días los microorganismos demandaron una mayor cantidad de oxígeno para realizar sus procesos metabólicos y consecuentemente alcanzar su fase de crecimiento exponencial.

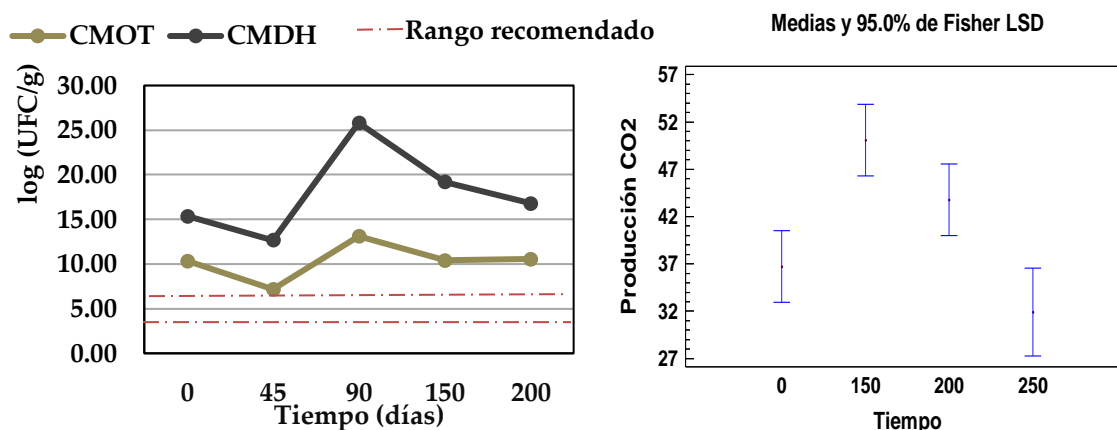


Fig. 3. Seguimiento del desarrollo microbiano en el proceso.

Fig. 3. Monitoring of microbial development in the process.



La disminución acontecida después de los 150 días pudo estar influenciada en mayor medida por la humedad relativa del suelo contaminado ya que se encontró en entre 11 y 17 %, cuando el requerimiento se encuentra en el rango de 60-80% de la capacidad del campo (Instituto Nacional de Normalización, 2017). De cualquier modo, queda demostrada la viabilidad de los microorganismos degradadores de hidrocarburos por la biodegradación de los contaminantes verificada.

La cuantificación individual al inicio del proceso de los compuestos del petróleo (SARA) muestra las elevadas concentraciones de hidrocarburos saturados (S) y aromáticos (A), así como de resinas (R) y asfaltenos (A); siendo estas últimas las fracciones que constituyen los compuestos más difíciles de degradar por los microorganismos (Fernández *et al.*, 2008). Los resultados obtenidos (Fig. 4) permiten afirmar que existe la biodegradación de la fracción de hidrocarburos con marcada disminución del contenido de aromáticos para una tasa de biodegradación del 61 % en los primeros 150 días.

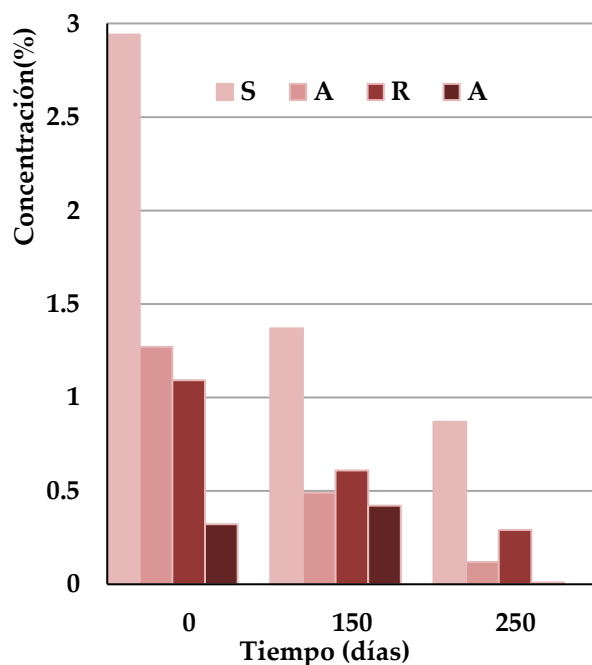


Fig. 4. Cuantificación de las fracciones de hidrocarburo.

Fig. 4. Quantification of hydrocarbon fractions.

Igualmente se degradan las resinas, asfaltenos y saturados en orden decreciente lo que corresponde con la complejidad de cada compuesto. En el caso de los asfaltenos por ser más recalcitrantes se mantienen sin indicios de degradación hasta los 150 días, aunque al término del tratamiento se alcanzó una notable disminución de los mismos a 84 mg kg<sup>-1</sup> de los 3250 mg kg<sup>-1</sup> que se cuantificaron inicialmente.

Así mismo, según las condiciones en el proceso, referidas a las dificultades de aireación, sugieren que además del desarrollo de bacterias aerobias pueden existir zonas donde se presente el crecimiento de bacterias del tipo anaerobias facultativas. Estas están acondicionadas para atacar

moléculas más grandes, como las resinas y los asfaltenos, ya que su metabolismo les permite soportar este tipo de gasto energético (Fernández *et al.*, 2008).

En el ensayo de toxicidad aguda con lombrices de tierra para el suelo tratado no se obtuvo mortalidad para un total de 30 organismos expuestos (Fig. 5). Este resultado indica que el suelo tratado no presenta toxicidad y puede disponerse finalmente, pues no representa ningún riesgo para el eslabón de la cadena alimenticia de invertebrados, los cuales resultan un componente imprescindible de la biodiversidad y la transformación de la materia orgánica del suelo (FAO, 1996).



**Fig. 5.** Bioensayo con lombrices: de izquierda a derecha; control del ensayo y suelo tratado.

**Fig. 5.** Bioassay with earthworms: from left to right; test control and treated soil

Los resultados del ensayo de toxicidad aguda realizado con semillas de tomate fueron válidos para una mortalidad en el control menor del 10 % (Tabla 3).

**Tabla 3.** Ensayo de toxicidad con semillas de tomate

**Table 3.** Toxicity test with tomato seeds

<b>Muestra</b>	<b>Concentración HCT (%)</b>	<b>Semillas expuestas (unidad)</b>	<b>Semillas no germinadas</b>	<b>Mortalidad (%)</b>
Control	0	30	2	7
Suelo tratado	1	30	4	14

La toxicidad aguda o letal se estima a través de la concentración media a la cual se produce más del 50 % de inhibición de la germinación de las semillas (CL50) debido al efecto tóxico en la muestra evaluada. Bajo este criterio no fue posible determinar la CL50 ya que no se registró inhibición de la germinación en un porcentaje superior al 50 % pues no tiene una relación estadísticamente significativa en un nivel de confianza del 95 % o mayor (Fig. 6), con la concentración de grasas, aceites

e hidrocarburos totales en el suelo tratado, por lo que se considera no existe toxicidad alguna. En la literatura se informa que los suelos con mayor capacidad de intercambio, materia orgánica o contenido de arcilla, exhiben mayor adsorción del hidrocarburo, y consecuentemente menor efecto tóxico sobre el ecosistema (Infante y Morales, 2012). Tal es el caso del suelo utilizado en el proceso, procedente de la llanura de Matanzas, los cuales se clasifican como arcillosos y húmicos (Hernández-Jiménez *et al.*, 2019); además de las características de los cortes de perforación.

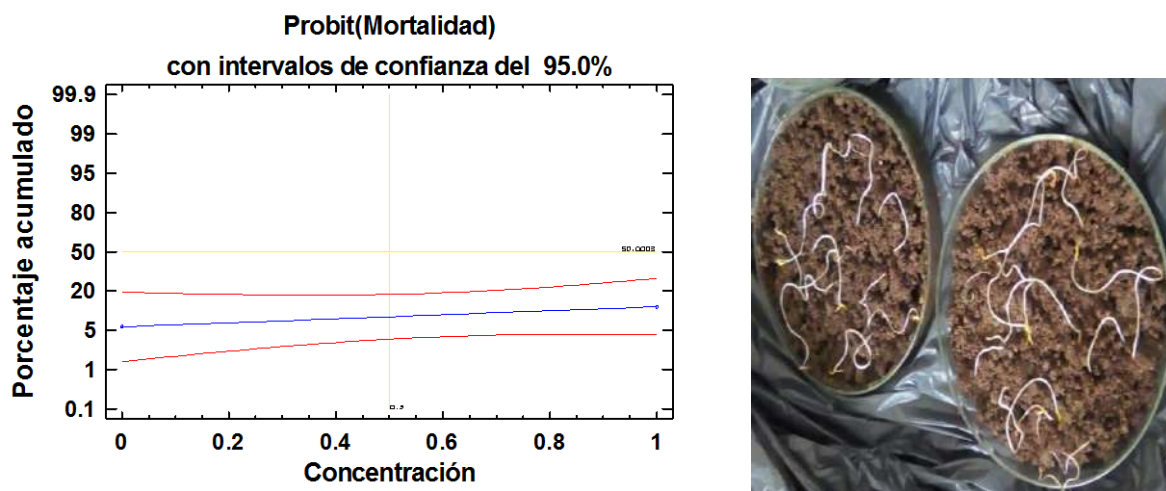


Fig. 6. Modelo ajustado del análisis Probit para bioensayo con semillas de tomate: de izquierda a derecha; control del ensayo y suelo tratado

Fig. 6. Probit analysis fitted model for bioassay with tomato seeds: from left to right; test control and treated soil

Infante y Morales, (2012) también informan que una gran cantidad de muestras de ripios de perforación contaminados con crudo presentan contenidos de aceites y grasas superior al 1 % que regula la norma, alcanzando hasta valores de 8,7 % (m/m) inclusive, sin que se observe toxicidad alguna con el tipo de bioensayo empleado. Por el contrario, el grado de contaminación y toxicidad del corte de perforación tratado en la aplicación actual es superior, lo que quedó demostrado en estudios anteriores donde se evaluó su toxicidad con valores de  $CL_{50}$  de 1 % de corte húmedo para una no germinación del 57 % de las semillas y mortalidad del 100 % de las semillas en todas las concentraciones de corte seco (Romero *et al.*, 2017). Posterior al tratamiento en cuestión es posible cumplir con la regulación para disposición final del residuo y además eliminar los efectos tóxicos debido a la presencia del contaminante.

Los resultados de la investigación responden a las necesidades actuales de la industria petrolera de manejar y disponer, de forma segura y amigable con el medio ambiente, desechos peligrosos de este tipo según la Resolución 253, (CITMA, 2022). Además, se corresponde con el cierre del ciclo productivo sobre el trabajo actual, en Cuba, acerca de la extensión de los horizontes petroleros mediante la perforación de pozos de terminación horizontal o direccionales, de extrema complejidad tecnológica donde se aplican métodos no explorados como es la utilización de este tipo de fluido. De este modo se mitigan los impactos negativos medioambientales y a la salud humana de estos

residuos generados por las empresas perforadoras de la Unión CubaPetróleo (CUPET). Así mismo, el hecho de que pueda llevarse a cabo en el lugar cercano a donde se genera el residuo, favorece la eliminación de los costos de transporte y formación de pasivos ambientales. De este modo se mantiene activo el proceso industrial mientras el proceso de biorremediación se está aplicando.

Todas las acciones que se ejecuten a favor de la preservación del medio ambiente tienen un impacto a largo plazo en la sociedad. En este sentido resulta imprescindible mejorar la eficiencia del proceso garantizando una humedad del suelo y aireación periódica que estimule los procesos de biodegradación de los contaminantes.

## 4. Conclusiones

Los cortes de perforación contaminados con lodo base combustible diésel presentaron una concentración de hidrocarburos de 3,9 % que no permite su disposición final segura, pero presenta una biota favorable para la aplicación de biotratamientos en su manejo.

El proceso de biorremediación mejorada aplicado a escala de campo evidenció una remoción de hidrocarburos totales en el orden de los 10 000 mg kg<sup>-1</sup> (1 %) que cumple con lo regulado para una disposición segura en el medio ambiente; no siendo así para las grasas y aceites (1,3 %) que se encontraron en valores cercanos al 1 % reglamentado.

El análisis toxicológico del suelo tratado demostró que los niveles de contaminación presentes no son tóxicos para la biota terrestre.

Con tales resultados se corrobora que el tratamiento por biorremediación mejorada de este tipo de residuos puede ser una alternativa beneficiosa para su manejo en las inmediaciones de las áreas donde se generan y minimiza la potencialidad del impacto al medio ambiente.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de interés, en la publicación de estos resultados.

## 5. Referencias

- Acosta S. & R. Romero. 2014. Ensayos toxicológicos para productos y desechos peligrosos tratados de la industria petrolera: Elaboración de procedimientos de trabajo para la realización de los bioensayos con Larvas de Camarones, Algas Marinas, Semillas de Lechugas y Lombrices de Tierra, a productos y desechos peligrosos tratados, de la industria petrolera Reporte técnico RT: Proyecto 9010, Ed. Centro de Investigación del Petróleo (CEINPET), La Habana, Cuba.
- American Public Health Association (APHA). (2017). APHA 5520-G. "Standard Methods for the examination of water and wastewater." 21 ed. American Public Health Association (APHA). Washington DC, USA. 2005. 5-42 pp.

- Brutti, L., M. Beltrán & I. García. 2018. Biorremediación de recursos naturales. Ministerio de Agroindustria, Presidencia de la Nación. (pp. 137-171). INTA/Eds. ISBN 978-987-521-911-3 <https://inta.gob.ar/documentos/biorremediacion-de-los-recursos-naturales>
- CITMA/Ed. 2022. Resolución 253- Reglamento para el manejo de los productos químicos peligrosos de uso industrial, de consumo de la población y de los desechos peligrosos. Ed. Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente (CITMA), Gaceta Oficial de la República de Cuba, GOC-2022-17-02, 1289-1303pp.
- Davarpanah, A., A. Razmjoo & B. Mirshekari. 2018. An overview of management, recycling and wasting disposal in the drilling operation of oil and gas wells in Iran. Cogent Environmental Science 4(1):1537066. <https://doi.org/10.1080/23311843.2018.1537066>
- De Jesús, V. 2017 La pauta de los pozos horizontales. <http://www.granma.cu/cuba/2017-02-09/la-pauta-de-los-pozos-horizontales-09-02-2017-19-02-12>
- Environmental Protection Agency (E.P.A.) EPA-3540C. Soxhlet Extraction, in Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods. 1996: United States.
- FAO. 1996. Ecología y enseñanza rural. Nociones ambientales básicas para profesores rurales y extensionistas Tema 6: Los animales. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). <https://www.fao.org/3/w1309s/w1309s00.htm>
- Fernández, C., M. Llobregat, B. Jiménez, V. Altomare & H. Labrador. 2008. Biodegradación de asfaltos y resinas por microorganismos presentes en suelo contaminado con hidrocarburo. Rev. Fac. Ing. Universidad Central de Venezuela. 23(4): 7-15. <https://bit.ly/3otOodv>
- Fink, J. (Ed.) 2021. Petroleum engineer's guide to oil field chemicals and fluids. (Third Ed.). Gulf Professional Publishing, Elsevier. 1061 p. ISBN: 9780323854382
- Hernández-Jiménez, A., J. Pérez-Jiménez, D. Bosch-Infante & N. Castro-Speck. 2019. La clasificación de suelos de Cuba: énfasis en la versión de 2015. Cultivos Tropicales 40(1). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362019000100015](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362019000100015)
- Infante, C. & F. Morales. 2012. Evaluación de la toxicidad en desechos y suelos petrolizados empleando semillas de *Lactuca sativa* L. Interciencia, 37(10): 782-788. <https://bit.ly/3mT1alk>
- Instituto Nacional de Normalización. 1999. Norma Cubana NC-37 Calidad del Suelo. Requisitos Generales para la toma de muestras, Cuban National Bureau of Standards, Cuba.
- Instituto Nacional de Normalización. 2009. Norma Cubana NC-32 Calidad del suelo. Determinación del pH y la conductividad eléctrica en el extracto de saturación, Cuban National Bureau of Standards, Cuba.
- Instituto Nacional de Normalización. 2017. Norma Cubana NC-819 Manejo de fondaje de tanques de almacenamiento de petróleo y sus derivados. Oficina Nacional de Normalización (NC), Cuban National Bureau of Standards La Habana, Cuba.

- International Organization for Standardization (ISO). 2012. International Standard ISO IS-15188 Water Quality-General guidance on the enumeration of microorganisms by culture. Adopted by Bureau Indian Standards, New Delhi, India.
- International Organization for Standardization. 1994. International Standard ISO-11263 Soil quality - Determination of phosphorus -- Spectrometric determination of phosphorus soluble in sodium hydrogen carbonate solution. Geneva, Switzerland.
- International Organization for Standardization. 2017. International Standard ISO-11261 Soil quality - Determination of total nitrogen - Modified Kjeldahl method. Geneva, Switzerland.
- Kebede, G., T. Tafese, E.M. Abda, M. Kamaraj & F. Assefa. 2021. Factors Influencing the Bacterial Biorremediation of hidrocarbons contaminants in the soil: mechanisms and impacts. Hindawi Journal of Chemistry 2021: 9823362. <https://doi.org/10.1155/2021/9823362>
- Koshlaf, E. & A. S. Ball. 2017. Soil bioremediation approaches for petroleum hydrocarbon polluted environments. AIMS Microbiol. 3(1):25-49. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.1.25>
- Oseh, J., M.N.A. Mohd Norddin, I. Ismail, A. R. Ismail, A. O. Gbadamosi, A. Agi. & S. O. Ogiriki, 2019. Investigating almond seed oil as potential biodiesel-based drilling mud. Journal of Petroleum Science and Engineering, 181. 106201. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2019.106201>
- Ramírez, O. 2014. Manejo, clasificación y disposición de residuos peligrosos (cortes de perforación base aceite) en plataformas petroleras. (Tesis de Licenciatura) Universidad Nacional Autónoma de México. <https://repositorio.unam.mx/contenidos/145402>
- Rivera-Ortiz, P., J. E. Rivera-Lárraga, E. Andrade-Limas, L. Heyer-Rodríguez, F. R. De la Garza-Requena & B. I. Castro-Meza. 2018. Bioestimulación y biorremediación de recortes de perforación contaminados con hidrocarburos. Revista Internacional de Contaminación Ambiental (RICA). 34(2): 249-262. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.02.06>
- Romero, R., Sánchez, C. y D. Rangel. 2016. Biorremediación a lodos petrolizados generados de la limpieza de tanques. Cub@: Medio Ambiente y Desarrollo. Agencia de Medio Ambiente. 16(30): 1-8. <http://cmad.ama.cu/index.php/cmاد/article/view/226>
- Romero, R., S. Acosta, F. González, L. González & R.M. García. 2017. Evaluación de tratamientos como alternativas de manejo y disposición final de residuos sólidos de lodo base aceite: en Evaluación eco-toxicológica de fluidos y ripios de perforación, base aceite (combustible diésel). Centro de Investigación del Petróleo (CEINPET): Proyecto 9018, Etapa 3. La Habana, Cuba.
- Romero, R., D. Salazar, F. González, C. C. Cañete, Y. Navarro, L. Rivas, Y. Díaz & Z. Marquetti. 2019a. Tratamiento a cortes de perforación contaminados con diésel utilizando un producto natural. Infomin 11:1-8. <https://www.infomin.co.cu/index.php/i/article/view/118/pdf>
- Romero, R., A. Sánchez, Y. Díaz, R.A. Batista, D. Hernández & J. Tabullo. 2019b. Bioremediation of soils contaminated with petroleum solid wastes and drill cuttings by *Pleurotus* sp. under different treatment scales. SN Appl. Sci. 1:1209. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1236-3>
- Salazar, J. E. 2009. La respirometría de suelos. <http://www.arkeaslab.com/articulos/respirometria.html>

StatPoint Inc. 2007. Statgraphics Centurion XV. versión 15.2.05, Ed. Multilingue. USA.  
[www.statgraphics.com](http://www.statgraphics.com)

Wyndham, R. C. & J. W. Costerton. 1981. Heterotrophic Potentials and Hydrocarbon, Biodegradation Potentials of Sediment Microorganisms Within the Athabasca Oil Sands Deposit. *Appl. Environ. Microbiol.* 41(3): 783-790. <https://doi.org/10.1128/aem.41.3.783-790.1981>

2023 TECNOCENCIA CHIHUAHUA

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

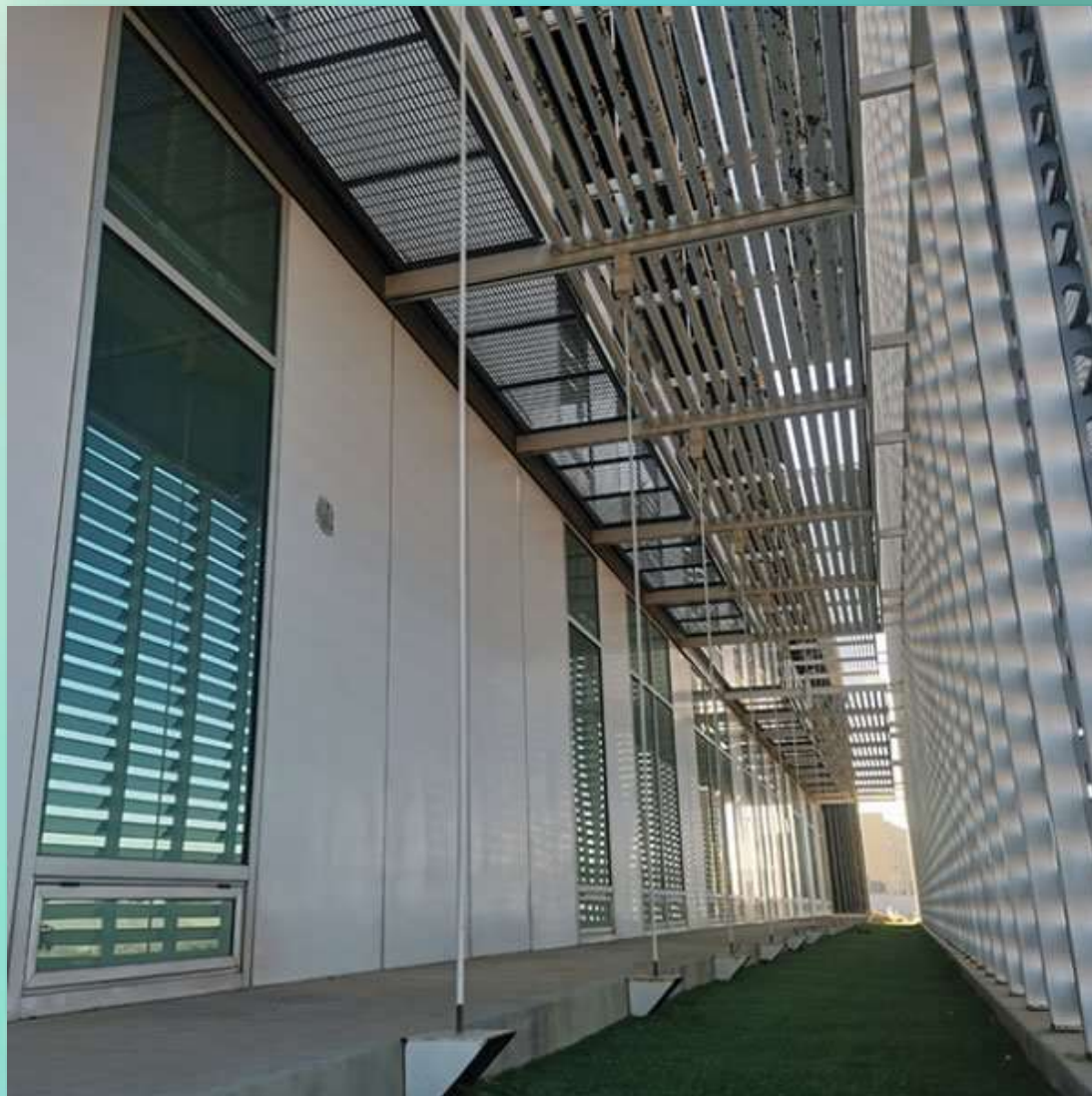


<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



**UACH**  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA

Dirección de  
Investigación y Posgrado



**FACULTAD DE ECONOMÍA INTERNACIONAL. UACH  
CAMPUS PARRAL, CHIHUAHUA, MX**



Facultad de  
Economía  
Internacional

**TECNOCENCIA CHIHUAHUA**  
Revista de ciencia y tecnología





**UACH**  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA

Dirección de  
Investigación y Posgrado



**FACULTAD DE ECONOMÍA INTERNACIONAL. UACH  
FACHADA PRINCIPAL  
CAMPUS PARRAL, CHIHUAHUA, MX**



**Facultad de  
Economía  
Internacional**

**TECNOCIENCIA CHIHUAHUA**  
Revista de ciencia y tecnología