



Los Compuestos Bioactivos y Tecnologías de Extracción

Editores:

H. Espinosa Andrews.

E. García Marquez

E. Gastélum Martínez.



Primera Edición, 2016

ISBN 978-607-97421-5-7

CONTENIDO

Contenido

1. LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS	1
Introducción.....	1
Conclusión.....	6
Referencias	6
2. ÁCIDOS GRASOS: CLASIFICACIÓN E IMPORTANCIA EN LA SALUD HUMANA	9
Introducción.....	9
Estructura química y clasificación	9
Propiedades físicas.....	14
Estabilidad química.....	15
Fuentes de ácidos grasos	16
1. <i>Aguacate</i>	16
2. <i>Coco</i>	16
3. <i>Linaza</i>	17
4. <i>Nuez</i>	17
Extracción de ácidos grasos.....	18
Mecanismo de absorción	20
Nutrición.....	21
Uso como ingrediente funcional	23
Referencias	26
3. ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS TERPENOS EN EL ÁREA AGROALIMENTARIA .	33
Introducción.....	33
Clasificación de los terpenos	34
Actividad biológica de los terpenos en el área agroalimentaria.....	35
El “axihuitl” como extracto con actividad biológica basada en terpenos.....	39
Uso del axihuitl en la biotecnología para el control de bacterias patógenas de plantas	42
Conclusiones.....	44
Perspectivas	44
Referencias	45
4. CAROTENOIDES: OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIONES	50
Introducción.....	50
Obtención	51

CONTENIDO

Caracterización	54
Aplicaciones	57
Conclusión.....	57
Referencias	58
5. FENOLES Y POLIFENOLES.....	59
Introducción.....	59
Fenoles simples.....	60
1. Ácidos fenólicos.....	60
2. Cumarinas	61
3. Flavonoides.....	62
4. Taninos	65
5. Lignanós y ligninas	65
6. Estilbenos	66
Bibliografía.....	67
6. PREBIÓTICOS.....	73
Introducción.....	73
Prebióticos	74
Efectos fisiológicos de los fructanos	76
Prebióticos en la liberación de bioactivos	77
Bibliografía.....	78
7. CAVITACIÓN.....	82
Introducción.....	82
Frecuencia e Intensidad de la radiación.....	87
Tiempo de sonicación	88
Temperatura.....	88
Tipo de disolvente y relación soluto-disolvente	88
Referencias	90
8. DESTILACIÓN MOLECULAR	94
Introducción.....	94
Funcionamiento	94
Ventajas y desventajas	97
Aplicaciones en la industria de aceites y grasas	98
Aplicaciones en la industria de los aceites esenciales	99

CONTENIDO

Ejemplo de separación de compuestos terpénicos del aceite esencial de naranja (<i>Citrus sinensis</i>)	101
1. Destilación fraccionada con evaporador de película agitada (DFEPA)	101
2. Destilación molecular	102
3. Resultados comparativos de los dos métodos	103
Conclusión	104
Referencias	104
9. EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS	108
Introducción	108
Propiedades de los fluidos supercríticos	109
Dióxido de carbono como solvente supercrítico	112
Proceso de extracción supercrítica	113
Bibliografía	116
10. LA ENERGÍA DE MICROONDAS Y LIXIVIACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS 119	
Introducción	119
Transmisión energía	120
Adsorción Energía	121
Microondas y extracción de bioactivos	121
Aplicación microondas y perspectivas	124
Referencias	127
11. LA TECNOLOGÍA DE PULSOS ELÉCTRICOS	129
Introducción	129
La aplicación de pulsos eléctricos	131
Efecto de pulsos eléctricos	133
Aplicación tecnológica de pulsos eléctricos en alimentos	134
Referencias	137

EDITORES

Dr. Hugo Espinosa Andrews.

El Dr. Espinosa obtuvo el título de Doctor en Ciencias (Ingeniería Química) en la Universidad Autónoma Metropolitana en la Ciudad de México. Actualmente es investigador titular “C” del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C., Unidad Zapopan. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores nivel I.



Sus intereses de investigación se centran en la estabilización y diseño de sistemas de liberación controlada de compuestos bioactivos. Ha publicado doce artículos científicos en revistas internacionales. Cuenta con tres solicitudes de patentes con registro en PCT y dos solicitudes de patente registradas en el IMPI.

Dr. Eristeo García Márquez

El Dr. García Márquez obtuvo el título de Doctor en Biotecnología en la Universidad Autónoma Metropolitana en la Ciudad de México. Actualmente es investigador titular “A” del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C., Unidad Noreste. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores nivel Candidato.



Sus intereses de investigación se centran en el desarrollo de sistemas micro y nano-ensamble intermolecular. Principalmente, en estabilizar sustancias antioxidantes, y minerales catiónicos de interés biológico. Ha publicado ocho artículos científicos en revistas internacionales. Cuenta con una solicitud de patente registrada en PCT.

EDITORES

Dra. Elida Gastéllum Martínez.

La Dra. Gastéllum obtuvo el título de Doctora en Ingeniería de Procesos y Ambiental por el Institute National Polytechnique de Toulouse (INPT), Ecole National Supérieure Agronomique de Toulouse (ENSAT), Ecole National Supérieure des Ingénieurs en Arts Chimiques et Technologiques (ENSIACET), France. Actualmente es investigadora asociada “C” del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C., Unidad Sureste. Pertenece al Sistema Nacional de Investigadores nivel Candidato.



Sus intereses de investigación se centran en la obtención y estudio de metabolitos especializados de interés industrial mediante el aprovechamiento de residuos agroindustriales y procesos fermentativos (batch, fed-batch) con microorganismos silvestres puros o en consorcios. Ha publicado tres artículos científicos en revistas internacionales, cuenta con dos solicitudes patente registrada en el IMPI.

Primera Edición, 2016

ISBN 978-607-97421-5-7

CIATEJ, A.C. Tecnología Alimentaria. Unidad Zapopan. Camino Arenero 1227, el Bajío del Arenal, 45019 Zapopan, Jalisco, México.

<Se prohíbe la reproducción total o parcial de este documento por cualquier medio sin el previo y expreso consentimiento por escrito del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. a cualquier persona y actividad que sean ajenas al mismo>

LISTA DE AUTORES

LISTA DE AUTORES.

Unidad Central. CIATEJ, A.C.

M en C. Rogelio Rodríguez-Rodríguez. Posgrado en Innovación Biotecnológica.
Biotecnología Médica y Farmacéutica.

Unidad Noreste, CIATEJ, A.C.

Dr. Eristeo García Márquez.
Dr. Jorge Alberto García-Fajardo.
M en C. Lilia Guadalupe Torres Martínez.

Unidad Sureste. CIATEJ, A.C.

Dra. Elida Gastélum Martínez.
Dra. Ma. De los Ángeles Sánchez Contreras.
Dra. Neith Aracely Pacheco López.
Dra. Teresa del Rosario Ayora Talavera.

Unidad Zapopan, CIATEJ, A.C.

C. Ángela Michelle González-López. Biotecnología Vegetal.
Dr. Gustavo Adolfo Castillo Herrera. Tecnología Alimentaria.
Dr. Hugo Espinosa-Andrews. Tecnología alimentaria.
Dra. Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar. Biotecnología Vegetal
Dra. Gabriel Rincón Enríquez. Biotecnología Vegetal
Dra. Judith Esmeralda Urias Silvas. Tecnología Alimentaria.

1. LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS

Elida Gastélum Martínez

egastelum@ciatej.mx

Unidad Sureste. CIATEJ, A.C.

Introducción

En la naturaleza existe una gran cantidad de compuestos que dependiendo de la estructura química pueden presentar características bioactivas de interés para el hombre. En los últimos años el consumo de éstos compuestos se ha elevado gracias al creciente interés de la población por integrarlos a su dieta. Con evidencia científica, diversas investigaciones han reportado que estos compuestos tienen diversos efectos benéficos para la salud, los cuales se mencionan en cada uno de los apartados correspondientes.

En este capítulo se describirán con mayor detalle algunos de los compuestos bioactivos de mayor interés en la industria de los alimentos y farmacéutica como los ácidos grasos, compuestos fenólicos, terpenos, péptidos, proteínas y prebióticos. También se dará una visión global de las tecnologías actuales y emergentes por medio de las cuales se está realizando la obtención de los compuestos bioactivos, como la cavitación, destilación, microondas y pulsos eléctricos, por mencionar alguno. Finalmente, se abordarán también los factores que afectan la estabilidad de los compuestos activos durante el proceso de obtención, desde la extracción hasta llegar a su destino final, el sitio activo de interés.

Los ácidos grasos son de gran interés en la industria de los alimentos ya que generan un ingreso económico importante en el mundo, tan solo en Estados Unidos en el 2014 se reportó un consumo de ácidos grasos omega-3 de 84,785 toneladas de las cuales más del 77% estaba directamente relacionado como consumidos en forma de suplementos alimenticios (1). Estos ácidos grasos de cadena larga son obtenidos principalmente a partir

de aceite de pescados, mariscos y sus residuos. Debido a la creciente demanda del mercado, la obtención de éstos ha desviado la atención hacia otras fuentes como las semillas de chía (2), quinua (3), algas (4), entre otros de modo que se pueda cubrir la demanda en cantidad y sobre todo en calidad del compuesto de interés.

Los compuestos fenólicos o polifenoles son compuestos activos que se han asociado principalmente con el término “antioxidantes” gracias a esta característica que presentan. De la misma manera que los ácidos grasos, estos compuestos y toda la gama de derivados que los constituyen son el foco de atención de los consumidores gracias al interés por mejorar su salud, así como la marcada tendencia del mercado por ofrecer productos con un valor nutricional agregado. En el año 2011, el mercado global de polifenoles se valuó en \$580,000,000 de dólares que se traduce en un consumo global de 12, 214.4 toneladas (5). Esto sólo muestra no solo una pequeña parte de la demanda, sino que también evidencia el potencial de aplicación que tiene éste tipo de compuestos. La incorporación de éstos en diversos alimentos como barras (6), complementos alimenticios, bebidas y demás (7), así como en productos farmacéuticos y de belleza es sólo el inicio del gran potencial de aplicación que se tiene y pronostica para los compuestos polifenólicos.

Otro de los compuestos bioactivos de gran importancia económica son los terpenos, los cuales pueden tener diferentes funciones dependiendo de la estructura química y se les clasifica en función a ella. Entre los compuestos de mayor demanda se encuentran el licopeno, que se encuentra principalmente en tomate y éste presenta una actividad biológica antioxidante y se le relaciona con el control del crecimiento celular (8); el alfa-pineno el cual es un terpeno común en las plantas, este compuesto tiene un efecto broncodilatador que ha sido estudiado ampliamente (9-10); el mircenolol es conocido por tener efecto relajante muscular y analgésico (11); el limoneno es un terpeno presente en los cítricos y se ha empleado para disolver cálculos biliares, acidez gastrointestinal y presenta una actividad antibacteriana importante (12-14); el linalol es un terpeno presente en la flor de lavanda tiene efectos anticonvulsivos y antidepresivo (15-16); el beta-cariofileno es un terpeno que se

encuentra en la pimienta negra, el orégano y otras hierbas de consumo, éste tiene efectos antiinflamatorios, por mencionar algunos (17).

Los carotenoides son terpenos que se tienen una importancia particular como compuesto bioactivo debido a sus propiedades antioxidantes y su poder como colorante, además presenten efectos contra enfermedades como cáncer (18), enfermedades cardiovasculares (19) y degenerativas de la vista (20), entre otras. Los compuestos extraídos de manera natural tienen una estructura molecular similar a los obtenidos de forma sintética, sin embargo, los naturales presentan mejores beneficios a la salud, por esta razón de manera industrial su obtención se realiza mediante diferentes métodos como los procesos biotecnológicos empleando hongos filamentosos, levaduras, bacterias y algas o por extracción sólido-líquida de plantas. Este mercado representó en 2014 un total de \$1.5 billones de dólares, en específico la astaxantina en representó un valor de \$369 millones. Para el 2019 se espera que el mercado global se incremente a \$1.8 billones (21).

Además de los ácidos grasos, compuestos fenólicos y terpenos, los péptidos y proteínas forman parte de los compuestos bioactivos de interés. Si bien se tiene conciencia desde hace mucho tiempo de la importancia de los péptidos y su efecto benéfico en la salud humana como es el caso de los presentes en la leche materna que contribuyen a la maduración del sistema inmune de los recién nacidos (22), en las últimas décadas han sido el foco de atención gracias a otros beneficios y aportes que se han encontrado por su consumo. Los péptidos son compuestos activos definidos por una secuencia de aminoácidos específica y que ejercen una actividad biológica después de ser liberados durante el procesado de los alimentos o durante la digestión gastrointestinal. Su importancia ha ido en aumento de debido a sus efectos inmunomoduladores, anticoagulante, hipercolesterolemicos, antimicrobianos, antioxidantes, mejora en la digestión y absorción de nutrientes, entre otros (23). Su presencia se ha encontrado en fuentes como soya, pescado, carne, leche, huevo, trigo, brócoli, arroz, por mencionar algunos (24).

Los prebióticos son compuestos o sustancias activas que se les considera responsable de estimular el crecimiento de la flora bacteriana del tracto digestivo y de esta manera se

obtiene un beneficio a la salud del huésped, en este caso el hombre. La popularidad de éstos compuestos se ha disparado gracias a la gran cantidad de aplicaciones que tienen en diferentes productos alimenticios como lácteos, bebidas energéticas, barras nutricionales, cereales, bebidas en general, panadería, suplementos minerales, productos para pérdida y control de peso, alimentos verdes, alimentos para bebés e incluso para alimentos de mascotas. El mercado europeo y estadounidense para prebióticos proyecta alcanzar \$1.17 billones y \$225.31 mil millones de dólares respectivamente para finales del 2015 (25). Este crecimiento en demanda está dirigido principalmente por la búsqueda y generación de alimentos en pro de la salud para el mercado europeo, mientras que para el estadounidense se enfoca en satisfacer la demanda de fructanos.

Si bien los compuestos activos son el producto final de interés, el proceso de obtención de éstos es un tema de interés y constante innovación. Diferentes técnicas emergentes son empleadas con el objetivo de mejorar no solo la extracción sino también reducir los costos de operación y la generación de desechos químicos con alto impacto ambiental. De tal manera que, tecnologías como la cavitación, destilación, microondas y uso de pulsos eléctricos son algunos de los procesos innovadores que se describen en éste capítulo para la obtención de estos.

La cavitación es una tecnología verde (*green technology*) o limpia que se ha estudiado en años recientes para extraer diversos compuestos activos. El interés de emplear este tipo de tecnología se debe principalmente a la necesidad de mejorar los rendimientos de extracción afectando en menor grado la actividad del compuesto de interés, evitando altas generaciones de emisiones contaminantes al ambiente. Esta tecnología se caracteriza por el empleo de diferentes frecuencias de ondas de sonido para facilitar la interacción del solvente con el compuesto de interés y así mejorar la extracción de éste. Diversos compuestos como polifenoles, compuestos aromáticos, pigmentos, entre otros han sido extraídos por éste método. Los resultados hasta el momento son satisfactorios en muchos de los casos, sin embargo, como tecnología emergente es necesario continuar evaluando los parámetros que afectan el proceso para obtener mejor resultados.

Otra de las metodologías que se describirá con detalle es el empleo de microondas y pulsos eléctricos, estas de igual manera se consideran tecnologías verdes alternativas para la obtención de compuestos bioactivos. El uso de microondas emplea radiación para acelerar la extracción de los compuestos de interés y reducir el empleo de solventes, mientras que los pulsos eléctricos emplean pulsos de voltajes elevados con el mismo fin.

Además de enfocar esfuerzos para optimizar los procesos de obtención y extracción de los compuestos activos, así como evaluar el potencial benéfico en la salud humana, los estudios relacionados con los compuestos bioactivos han también centrado su atención en conocer y controlar la estabilidad durante y después de su obtención. Gracias a la compleja estructura molecular de estas sustancias se tiene una gran diversidad de compuestos y aplicaciones en pro de la salud humana, sin embargo, esta misma complejidad se convierte en un problema. El gran número de grupos hidroxilo, el grado de metilación de éstos grupos, la naturaleza de los azúcares u otros grupos unidos a la molécula principal, los tipos y posiciones de enlaces, presencia o no de grupos alifáticos o aromáticos, entre otros son algunos de los factores que en conjunto favorecen la inestabilidad de los compuestos bioactivos. Durante los procesos de extracción, sin importar la metodología empleada, es necesario controlar las condiciones medio ambientales en las cuales se realiza la extracción como el pH de la solución, la temperatura, la presencia de luz, la polaridad de los solventes empleados e incluso la presencia y generación de otros compuestos que puedan interferir con la estructura molecular afectando la actividad biológica del compuesto de interés. Posterior a la extracción del compuesto activo, es de interés además que dicha actividad permanezca hasta que el compuesto llegue al destino final donde será empleado por el organismo. Esto implica por ejemplo considerar las condiciones de procesamiento en el caso que el compuesto activo sea incorporado a una matriz alimentaria para la generación de un producto alimenticio, así mismo es necesario asegurar que una vez incorporado, su estabilidad y actividad soporte las condiciones de acidez del tracto digestivo o la acción de enzimas durante el trayecto a su destino de absorción. Como es de entenderse tanto la obtención de compuestos bioactivos como su procesamiento implica el entendimiento y control de

variables internas y externas de modo que el efecto de interés proporcionado por el compuesto no se vea afectado.

Conclusión

Los compuestos activos se han convertido en sustancias de alta demanda por el mercado internacional gracias no solo a los múltiples beneficios a la salud encontrados en cada uno de los diferentes compuestos bioactivos que existen en la naturaleza, sino también a la creciente conciencia colectiva de los consumidores por su salud y preocupación por su consumo. Evidentemente ambos son efectos directamente relacionados, a mayor conciencia se genera una mayor demanda lo que implica un incremento en la búsqueda día a día por nuevos compuestos, mejores procesos de extracción y obtención y mejores métodos para asegurar su estabilidad y actividad. En el presente capítulo se abordarán con mayor detalle y profundidad las funciones y actividades de algunos de los compuestos bioactivos de mayor interés, así como aquellos estudios recientes que han revelado avances tanto en sus efectos en pro de la salud como en los métodos de obtención evaluados.

Referencias

- (1) http://www.nutraceuticalsworld.com/issues/2015-10/view_features/omega-3-ingredient-market-overview-for-2014/
- (2) da Silva Marineli, R., Lenquiste, S. A., Moraes, É. A., y Maróstica, M. R. (2015). Antioxidant potential of dietary chia seed and oil (*Salvia hispanica L.*) in diet-induced obese rats. *Food Research International*, 76, 666-674.
- (3) Tang, Y., Li, X., Chen, P. X., Zhang, B., Hernandez, M., Zhang, H., y Tsao, R. (2015). Characterisation of fatty acid, carotenoid, tocopherol/tocotrienol compositions and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. genotypes. *Food chemistry*, 174, 502-508.
- (4) Tsai, H. P. (2015). Production of long chain omega-3 fatty acids and carotenoids in tropical areas by a new heat-tolerant microalga *Tetraselmis* sp. DS3.
- (5) <http://www.prnewswire.com/news-releases/global-polyphenols-market-is-expected-to-reach-usd-8737-million-in-2018-transparency-market-research-213831041.html>

- (6) Vinson, J. A., y Motisi, M. J. (2015). Polyphenol antioxidants in commercial chocolate bars: Is the label accurate?. *Journal of Functional Foods*, 12, 526-529.
- (7) Cilla, A., González-Sarrías, A., Tomás-Barberán, F. A., Espín, J. C., y Barberá, R. (2009). Availability of polyphenols in fruit beverages subjected to in vitro gastrointestinal digestion and their effects on proliferation, cell-cycle and apoptosis in human colon cancer Caco-2 cells. *Food Chemistry*, 114(3), 813-820.
- (8) Stahl, W. y Sies, H. (1996). Lycopene: A biologically important carotenoid for humans? *Arch. Biochem. Biophys.* 336:1-9.
- (9) Khan, A. U., y Gilani, A. H. (2009). Antispasmodic and bronchodilator activities of *Artemisia vulgaris* are mediated through dual blockade of muscarinic receptors and calcium influx. *Journal of ethnopharmacology*, 126(3), 480-486
- (10) Lima, F. J., Brito, T. S., Freire, W. B., Costa, R. C., Linhares, M. I., Sousa, F. C., y Magalhães, P. J. (2010). The essential oil of *Eucalyptus tereticornis*, and its constituents α -and β -pinene, potentiate acetylcholine-induced contractions in isolated rat trachea. *Fitoterapia*, 81(6), 649-655
- (11) Lorenzetti, B. B., Souza, G. E., Sarti, S. J., Santos Filho, D., y Ferreira, S. H. (1991). Myrcene mimics the peripheral analgesic activity of lemongrass tea. *Journal of Ethnopharmacology*, 34(1), 43-48.
- (12) Sun, J. (2007). D-Limonene: safety and clinical applications. *Alternative Medicine Review*, 12(3), 259.
- (13) Singh, P., Shukla, R., Prakash, B., Kumar, A., Singh, S., Mishra, P. K., y Dubey, N. K. (2010). Chemical profile, antifungal, antiaflatoxigenic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.)
- (14) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1734-1740
- (15) Elisabetsky, E., Brum, L. S., y Souza, D. O. (1999). Anticonvulsant properties of linalool in glutamate-related seizure models. *Phytomedicine*, 6(2), 107-113.
- (16) Guzmán-Gutiérrez, S. L., Bonilla-Jaime, H., Gómez-Cansino, R., y Reyes-Chilpa, R. (2015). Linalool and β -pinene exert their antidepressant-like activity through the monoaminergic pathway. *Life sciences*, 128, 24-29.

- (17) Accame, M. E. C. Clavo de especia María Emilia Carretero Accame.
- (18) Lim, J. Y., Kim, Y. S., Kim, K. M., Min, S. J., y Kim, Y. (2014). β -Carotene inhibits neuroblastoma tumorigenesis by regulating cell differentiation and cancer cell stemness. *Biochemical and biophysical research communications*, 450 (4), 1475-1480.
- (19) Kasperczyk, S., Dobrakowski, M., Kasperczyk, J., Ostalowska, A., Zalejska-Fiolka, J., y Birkner, E. (2014). Beta-carotene reduces oxidative stress, improves glutathione metabolism and modifies antioxidant defense systems in lead-exposed workers. *Toxicology and applied pharmacology*, 280(1), 36-41.
- (20) Bernstein, P. S., Li, B., Vachali, P. P., Gorusupudi, A., Shyam, R., Henriksen, B. S., y Nolan, J. M. (2015). Lutein, Zeaxanthin, and meso-Zeaxanthin: The Basic and Clinical Science Underlying Carotenoid-based Nutritional Interventions against Ocular Disease. *Progress in retinal and eye research*.
- (21) <http://www.prnewswire.com/news-releases/the-global-market-for-carotenoids-300127696.html>
- (22) Field CJ. The immunological components of human milk and their effect on immune development of infants. *J Nutr.* 2005; 135:1-4.
- (23) Iwaniak, A., y Minkiewicz, P. (2007). Proteins as the source of physiologically and functionally active peptides. *Acta Scientiarum. Polonorum Technologia Alimentaria*, 6(3), 5-15.
- (24) Hartman, R., y Meisel, H. (2007). Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 18, 163-169.
- (25) http://www.nutraceuticalsworld.com/issues/2014-04/view_features/flourishing-flora-probiotics-prebiotics-market-update/#sthash.9rXbja6Z.dpuf

2. ÁCIDOS GRASOS: CLASIFICACIÓN E IMPORTANCIA EN LA SALUD HUMANA

Rogelio Rodríguez-Rodríguez

Biotecnología Médica y Farmacéutica. CIATEJ, A.C.

Jorge Alberto García-Fajardo

Unidad Noreste. CIATEJ, A.C. jgarcia@ciatej.mx

Hugo Espinosa-Andrews

Tecnología alimentaria. CIATEJ, A.C. hespinosa@ciatej.mx

Introducción

Los lípidos constituyen un gran grupo de compuestos, generalmente solubles en solventes orgánicos. Componen la mayor parte del tejido adiposo, y en conjunto con las proteínas y carbohidratos, conforman los principales componentes de las células (Zamora y Hidalgo, 2004). Su consumo es vital importancia como fuentes de energía, aproximadamente 9.5 Kcal/g de lípido, 5.6 Kcal/g de proteína y 4.1 Kcal/g de carbohidrato.

Estructura química y clasificación

Uno de los lípidos más simples son los ácidos grasos. Al mismo tiempo, los ácidos grasos forman parte de lípidos complejos, como los triglicéridos y fosfolípidos (Lawrence, 2010). Su estructura química se compone de una cadena lineal de átomos de carbono, donde en sus extremos, se localizan un grupo metilo y un grupo carboxilo (Figura 1). El carbono situado al lado del grupo carboxilo se le denomina carbono α , al subsecuente carbono β , y así hasta llegar al último átomo de carbono, denominado omega (ω) (Rustan y Drevon, 2005).

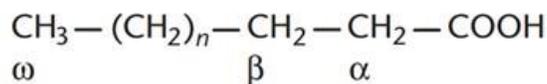


Figura 1. Estructura química de los ácidos grasos.

De acuerdo a la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés), los ácidos grasos se clasifican con base al número de átomos de carbono y al número y posición de dobles enlaces (Tabla 1). Los ácidos grasos saturados no poseen dobles enlaces en su estructura; estos son descritos químicamente por la fórmula general R-COOH (FAO, 2008):

Tabla 1. Clasificación de ácidos grasos saturados de acuerdo al tamaño de la cadena.

Tamaño de cadena del ácido graso	Número de átomos
Corta	3-7
Mediana	8-13
Larga	14-20
Muy larga	21 o más

(FAO, 2008).

Los ácidos grasos saturados se encuentran presentes en grasas animales y algunas grasas vegetales, como el aceite de palma y coco (Zamora y Hidalgo, 2004). La principal fuente de ácidos grasos de cadena corta volátiles son aquellos derivados de la fermentación de carbohidratos no digeribles por la microbiota del colon. Los más abundantes son el ácido acético, propiónico y butírico (90-95%) (den Besten *et al.*, 2013, Rios-Covian *et al.*, 2016, Al-Lahham *et al.*, 2010, Ochiai y Kurita-Ochiai, 2009). Algunos ejemplos de ácidos grasos saturados son mostrados en la tabla 2.

Tabla 2. Ácidos grasos saturados.

Nombre	Abreviación	Fuente de origen
Ácido fórmico	C1:0 (AF)	Fermentación de carbohidratos no digeribles por la microbiota del colon
Ácido acético	C2:0 (AA ₂)	
Ácido propiónico	C3:0 (AP ₃)	Leche, productos lácteos fermentados
Ácido butírico	C4:0 (AB)	Grasa de leche
Ácido caproico	C6:0 (AC ₆)	Grasa de leche de cabra
Ácido caprílico	C8:0 (AC ₈)	Grasa de leche, aceite de coco y almendra de palma
Ácido cáprico	C10:0 (AC ₁₀)	
Ácido láurico	C12:0 (AL ₁₂)	Aceite de coco y almendra de palma
Ácido mirístico	C14:0 (AM)	Grasa de leche, aceite de coco y almendra de palma
Ácido palmítico	C16:0 (AP ₁₆)	Aceite de pescado
Ácido esteárico	C18:0 (AE)	Grasas vegetales
Ácido araquídico	C20:0 (AA ₂₀)	Aceite de cacahuete
Ácido behénico	C22:0 (AB)	
Ácido lignocérico	C24:0 (AL ₂₄)	

(FAO, 2008, Lobb y Chow, 2008, Al-Lahham *et al.*, 2010).

Los ácidos grasos insaturados contienen uno o más dobles enlaces entre los átomos de carbono. La presencia de dobles enlaces ocasiona restricciones en la movilidad de la cadena (Rustan y Drevon, 2005). Los ácidos grasos poliinsaturados se clasifican de acuerdo a la posición del doble enlace partiendo del carbono extremo al grupo funcional carboxílico; ácidos grasos omega-9 (primer doble enlace en el carbono 9; ω -9), ácidos grasos omega-6 (primer doble enlace en el carbono 6; ω -6) y ácidos grasos omega-3 (primer doble enlace en el carbono 3; ω -3) (Castro-González, 2002, Rustan y Drevon, 2005). Otra clasificación es de acuerdo a su cadena de carbonos: cadena corta, mediana y larga (Tabla 3).

Tabla 3. Clasificación de ácidos grasos insaturados de acuerdo al tamaño de la cadena.

Ácido graso	Número de átomos
Cadena corta	<19
Cadena mediana	20-24
Cadena larga	>25

(FAO, 2008).

El doble enlace puede tener dos tipos de configuraciones, *cis* y *trans*, dependiendo de la posición del grupo metilo (Figura 2).



Figura 2. Configuración del doble enlace; X y Y es el grupo metilo.

La configuración *cis* proporciona un pliegue en la forma molecular, una menor estabilidad termodinámica y un menor punto de fusión, en comparación con la configuración *trans* (Rustan y Drevon, 2005). Los dobles enlaces en configuración *trans*, conforman una estructura más rígida, que requiere menos espacio intermolecular que la configuración *cis*, lo que ocasiona un punto de fusión cercano a la temperatura ambiente, deseable en la fabricación de alimentos (Ballesteros-Vásquez *et al.*, 2012). Sin embargo, tienen efectos adversos en la salud humana, relacionados con el incremento de las enfermedades cardiovasculares (Valenzuela, 2008). De acuerdo al número de insaturaciones se clasifican en: monoinsaturados (solo un doble enlace) (Tabla 4) y poliinsaturados (más de un doble enlace) (Tabla 5).

Tabla 4. Aceites grasos monoinsaturados.

Nombre	Abreviatura	Fuente de origen
Ácido palmitoleico	16:1Δ9c (AP)	Aceites marinos, animales y vegetales, nuez de macadamia
Ácido oleico	18:1Δ9c (AO)	Aceite de oliva, canola, girasol y cártamo
Ácido <i>cis</i> -vaccénico	18:1Δ11c (AV)	Aceites vegetales
Ácido gadoleico	20:1Δ9c (AG ₉) 20:1Δ11c (AG ₁₁)	Aceites marinos
Ácido erúxico	22:1Δ13c (AE)	Semilla de mostaza y de colza
Ácido nervónico	24:1Δ15c (AN)	Aceites marinos

(FAO, 2008).

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS, por sus siglas en inglés) son producidos únicamente por plantas y fitoplancton. Los PUFAS son esenciales para todos los organismos incluyendo mamíferos y peces (Rustan y Drevon, 2005). Los ácidos grasos ω -3 y ω -6 son las familias más importantes en consumo y en beneficio a la salud humana.

Tabla 5. Aceites poliinsaturados omega 3 (ω -3) y omega 6 (ω -6).

Nombre	Abreviatura	Fuente de origen
Ácido α -linolénico	18:3n-3 (ALA)	Linaza, perilla, canola y soya
Ácido estearidónico	18:4n-3 (SDA)	Pescado, soya, semilla de grosella negra y cáñamo
Ácido linoleico	18:2n-6 (LA)	Vegetales
Ácido γ -linolénico	18:3n-6 (GLA)	Semilla de grosella, onagra y borraja.
Ácido eicosapentaenoico	20:5n-3 (EPA)	Salmón, arenque, anchoa y caballa
Ácido araquidónico	20:4n-6 (AA)	Hígado, pescado, huevo y grasas animales.
Ácido docosapentaenoico	22:5n-3 (DPA ₃)	Salmón, arenque, anchoa y caballa
Ácido docosahexaenoico	22:6n-3 (DHA)	
Ácido docosatetraenoico	22:4n-6 (DTA)	Menor composición en tejidos animales
Ácido docosapentaenoico	22:5n-6 (DPA ₆)	Menor composición en tejidos animales

(FAO, 2008).

A temperatura ambiente, los lípidos que contienen un mayor número de ácidos grasos saturados son sólidos (grasas); mientras que, cuando contienen un mayor número de ácidos grasos insaturados usualmente son líquidos (aceites) (Semma, 2002).

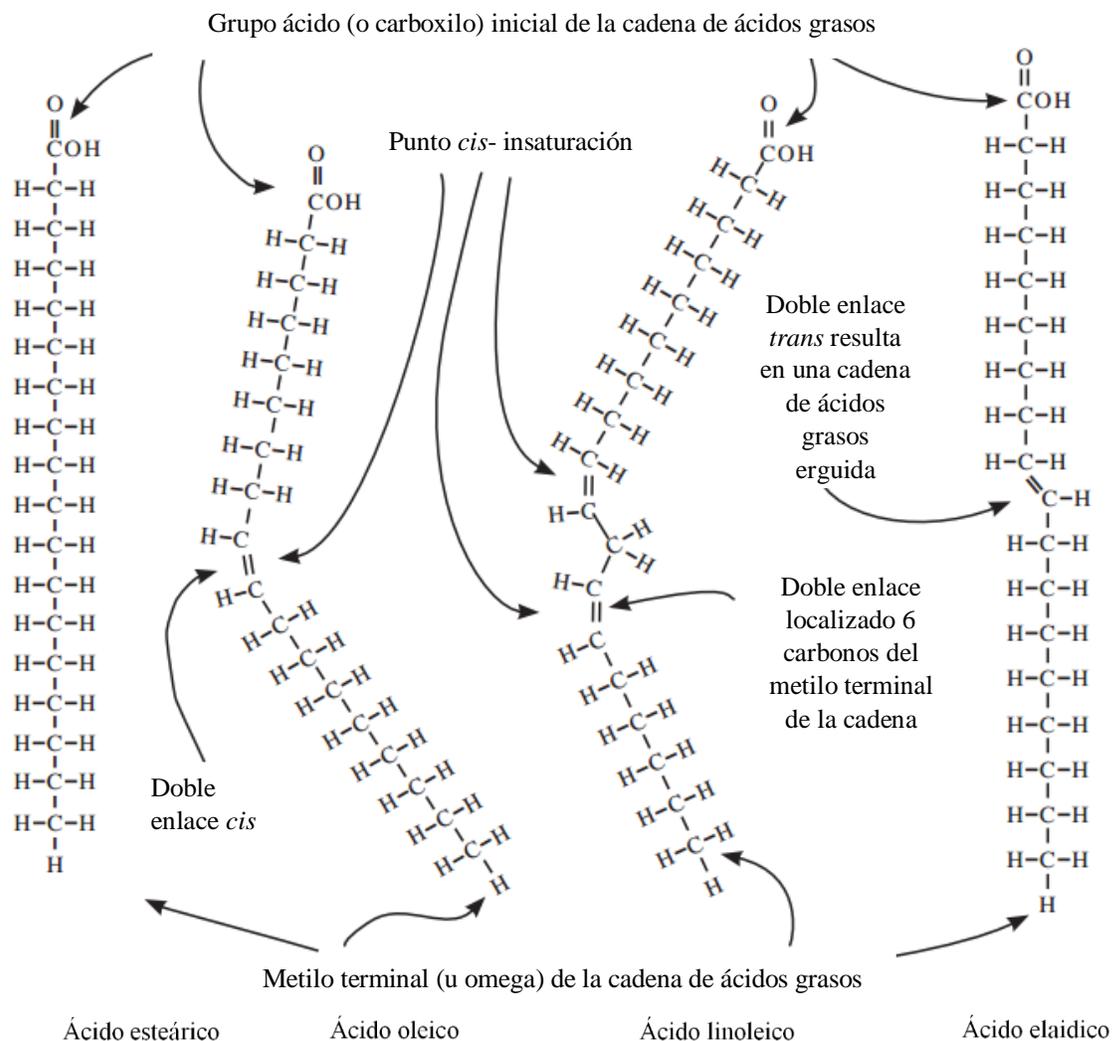


Figura 3. Estructura química de los ácidos grasos (Lawrence, 2010).

Propiedades físicas

La estructura de los lípidos puede ser clasificada dependiendo de sus características físicas a temperatura ambiente (los aceites son líquidos y las grasas son sólidas), por su polaridad (lípidos neutros y polares) o por su estructura (lípidos simples o complejos) (O'Keefe, 2002). Entre las características físicas más importantes podemos mencionar: i) solubilidad; ii) punto de fusión, iii) punto de ebullición, iv) polimorfismo, v) densidad, vi) viscosidad, vii) índice de refracción, viii) tensión superficial y ix) constante dieléctrica (Zamora y Hidalgo, 2004).

Tabla 6. Propiedades físicas de algunos ácidos grasos.

Nombre	Log P	pK _a	T _{fus} (°C)	Viscosidad
Palmítico	7.17	4.75	62.5	7.80 cP (70°C)
Estearico	8.23	4.75	69.3	9.87 cP (70°C)
Mirístico	6.11	4.90	53.9	5.83 cP (70°C)
Oleico	7.64	5.02	16.3	25.6 cP (30°C)
Linoleico	7.05	4.77	-11.0	
Linolénico	6.46		-16.5	

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Estabilidad química

Los ácidos grasos insaturados y poliinsaturados son sustancias altamente inestables durante su procesamiento y almacenamiento, lo que limita su uso como ingrediente funcional (McClements *et al.*, 2007). La oxidación lipídica es una secuencia compleja de interacciones químicas entre los grupos acilo de los ácidos grasos con especies reactivas de oxígeno, dando origen a una reacción en cadena de tres etapas: iniciación, propagación y terminación (Figura 4) (Chaiyasit *et al.*, 2007).

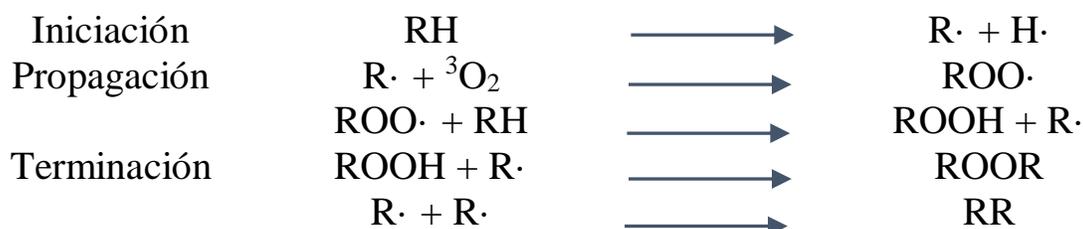


Figura 4. Mecanismo de oxidación de los lípidos (Choe y Min, 2006).

En la etapa de iniciación, el radical alquilo (R·) es formado por la sustracción de un átomo de hidrógeno (H·) de un ácido graso en presencia de un iniciador. Los iniciadores que están involucrados son la temperatura, la luz, otros radicales o metales (hierro, cobre o níquel). En la etapa de propagación el radical alquilo reacciona con el oxígeno resultando en la formación de un radical peroxilo (ROO·). Este radical peroxilo puede extraer un átomo de hidrógeno de otro ácido graso insaturado y producir un hidroperóxido lipídico (ROOH) y un nuevo radical alquilo. La terminación es el resultado de la interacción de dos radicales libres (peroxilo, alcoxilo, acilo, hidroxilo e hidrógeno), formando un producto final estable. El

hidroperóxido lipídico producido sufre una reducción a un ácido graso hidroxilo o se cicla para producir endoperóxidos cíclicos estables que terminan el proceso de oxidación. Los hidroperóxidos pueden descomponerse rápidamente en sustancias volátiles de bajo peso molecular. La velocidad de reacción es dependiente de la temperatura, oxígeno, inhibidores de la oxidación y naturaleza de los sustratos (Chaiyasit *et al.*, 2007). Los compuestos fenólicos y tocoferoles reaccionan con los radicales lipídicos formando radicales no reactivos que detienen la reacción de propagación. Los productos de la oxidación incluyen hidroperóxidos y compuestos de bajo peso molecular (Choe y Min, 2006).

Fuentes de ácidos grasos

En México, podemos encontrar una variedad de alimentos ricos en ácidos grasos saturados, mono y poliinsaturados entre los que se encuentran: aguacate, coco, linaza y nueces.

1. Aguacate

El aguacate (*Persea americana*) es una fruta de tamaño mediano y una semilla muy grande. La pulpa del aguacate, posee una consistencia agradable y cremosa, con un alto contenido nutrimental de vitaminas, minerales, fitoquímicos y lípidos. Los lípidos son el segundo componente mayoritario (~15.4%), de los cuales los ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico) se encuentran en mayor concentración (~71%), seguido de ácidos grasos saturados (ácido palmítico ~16%) y ácidos grasos poliinsaturados (ácido linoleico y ácido γ -linolénico ~13%) (Dreher y Davenport, 2013, Fulgoni III *et al.*, 2013). El aceite de aguacate promueve un perfil de lípidos en sangre saludable, potencia la biodisponibilidad de vitaminas liposolubles, fitoquímicos del aguacate y otras frutas y vegetales, promueve la salud cardiovascular y un control del peso corporal (Dreher y Davenport, 2013).

2. Coco

El coco (*Cocos nucifera* L.) es el cultivo más importante y extensivamente cultivado alrededor del mundo. Cada parte de la planta es útil y en muchos casos, la vida humana no hubiera subsistido en su ausencia (Prades *et al.*, 2012). El aceite de coco es obtenido comercialmente de la copra (centro deshidratado o “carne” del coco) mediante secado en

humo y secado al sol (aceite sin refinar) o por un proceso en húmedo (aceite virgen) (Marina *et al.*, 2009). El aceite de coco contiene altas concentraciones de ácidos grasos saturados de bajo peso molecular, siendo el ácido láurico el más importante. La composición química del aceite de coco le proporciona una serie de características únicas, como un sabor suave, alta resistencia a la ranciedad, un estrecho rango de temperaturas de fusión, fácil digestión y absorción, entre otros (Marina *et al.*, 2009). El aceite virgen de coco reduce el colesterol total, triglicéridos, fosfolípidos, colesterol de alta y muy baja densidad (LDL y VLDL, respectivamente) en suero y tejidos (Nevin y Rajamohan, 2008).

3. *Linaza*

El aceite de linaza es derivado de las semillas de linaza (*Linum usitatissimum*), un cultivo ancestral ampliamente cultivado en Europa, utilizado como alimento y fibra. La semilla de linaza contiene 38.0-45.0% de aceite, del cual entre 50.0-62.0% lo compone el ácido α -linolénico (ALA), lo que lo constituye como una fuente importante de ácidos grasos omega-3 (Bayrak *et al.*, 2014, Hall *et al.*, 2006, Shim *et al.*, 2014). Entre las propiedades biológicas atribuidas al consumo de linaza están: disminución de triglicéridos y colesterol LDL, beneficios a la función renal, reducción del cáncer relacionado con hormonas, protector contra enfermedades coronarias, antiinflamatorio, entre otros (Oomah, 2001).

4. *Nuez*

La nuez es una semilla única dura y seca, parcial o totalmente contenida en una cáscara que permanece en el fruto hasta su maduración (<http://foodscience.wikispaces.com/Nuts>). A lo largo del tiempo, las nueces han sido catalogadas como un alimento no saludable, debido a su alto contenido de lípidos. Sin embargo, en países del Mediterráneo, han sido reconocidas como saludables, siendo un alimento importante de su dieta (Hu y Stampfer, 1999).

En la actualidad, las nueces son consideradas como uno de los alimentos más nutritivos debido a su alto contenido de proteínas, carbohidratos, vitaminas, minerales y ácidos grasos saturados e insaturados (Kırbaşlar *et al.*, 2012). Entre las nueces más importantes se encuentran: almendra, nuez de Brasil, anacardo, avellana, macadamia, cacahuete, pecana, pistache, nogal, nuez de la India, entre otras (Hu y Stampfer, 1999). Con excepción de la

nuez de castaña, la cual contiene bajas concentraciones de lípidos, las nueces son catalogadas como alimentos grasos (Ros y Mataix, 2007). Su contenido de grasa varía entre un 46% (pistaches y anacardos) a un 76% (nuez de macadamia).

Un aspecto interesante de los nueces es su alto contenido de ácidos grasos insaturados (50% del contenido total de grasas), de los cuales el ácido oleico, ácido linoleico y ácido α -linolénico son los más predominantes (Ros y Mataix, 2007). El consumo de nueces tiene beneficios a la salud como una reducción en el riesgo de enfermedades cardiovasculares, reducción de colesterol, entre otros (Hu y Stampfer, 1999, Ros y Mataix, 2007).

Extracción de ácidos grasos

La cantidad de aceite y/o grasa presente en un extracto dependerá de la calidad de la materia prima, proceso de extracción seleccionado y tipo de solvente. Una buena selección es la adecuada combinación de los solventes que serán empleados, con la finalidad de determinar la mezcla específica que mejor sitúe a cada especie. Los disolventes que con mayor frecuencia se emplean según los compuestos que se deseen extraer, son el hexano y éter (separación de componentes de polaridad baja); y el etanol, metanol y agua (separación de componentes más polares) (Estrada-Lugo, 1992).

Algunos de los ácidos grasos mayoritarios en aceites de semillas son palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico (Roy, 1996). De los lípidos, principalmente de ácidos grasos de 14-20 átomos de carbono, se prefiere que sean analizados como metil ésteres, ya sea por metanólisis alcalina, o por saponificación del triglicérido seguido de una metilación de los ácidos grasos en presencia de trifluoruro de boro (BF_3) (Multon, 1997).

La tabla 7 presenta una recopilación bibliográfica de los ácidos grasos detectados en la grasa de almendra de mango.

Tabla7. Ácidos grasos identificados en la grasa de la almendra de mango.

Ácido graso	1	2	3	4	5	6	7
C14:0	-	-	0.2	-	-	tr	-
C16:0	8.4	7.5-7.8	7.6	3-18	5.9-9.1	6.9-8.0	8.6
C16:1	-	-	-	-	-	0.1-0.2	-
C17:0	-	-	-	tr-2	-	tr-0.1	-
C18:0	41.6	38.7-38.9	41.1	24-57	32.4-44	32.7-40.8	42.2
C18:1	41.7	42.6-43.2	42.77	34-56	43.7-54.5	43.7-52.0	45.8
C18:2	7.8	5.7-6.2	7.7	1-13	3.6-6.7	4.9-6.1	3.4
C18:3	0.3	2.9-5.3	0.4	-	0.3-0.7	0.1-0.6	-
C20:0	-	-	-	tr-4	1.1-1.6	1.7-2.4	-
C20:1	-	-	-	-	-	0.1-0.3	-
C22:0	-	-	-	-	-	0.2-0.3	-
C24:0	-	-	-	-	-	0.1-0.2	-

1= (Rao, 1994); 2= (Dhingra y Kapoor, 1985); 3= (Rukmini y Vijayaraghavan, 1984); 4=(Lakshminarayana *et al.*, 1983); 5= (Van Pee *et al.*, 1980); 6= (Tiscornia *et al.*, 1979); 7= (Narasimha-Char *et al.*, 1977), tr = trazas

Entre los ácidos grasos más importantes se encuentran: palmítico, esteárico, oleico, linoleico y araquídico, ya que gracias a ellos, existen semejanzas entre la composición porcentual de los ácidos grasos de las grasas de la almendra del mango con la manteca de cacao (*Theobroma cacao*) y en grasas usadas como sustitutos como “Coberine” preparado a partir del aceite de palma, Borneo tallow, o grasa de illipé (*Shorea stenoptera*), manteca de karité o shea (*Butyrospermum parkii*), grasa de sal (*Shorea robusta*), grasa de dhupa (*Vateria indica*), grasa de kokum (*Garcinia indica*), grasa de mowrah (*Bassia latifolia*) (Tabla 8).

La grasa de almendra de mango es comestible y puede sustituir cualquier grasa sólida sin efectos adversos, por ejemplo, algunos autores (Narasimha-Char *et al.*, 1977, Rukmini y Vijayaraghavan, 1984) encontraron que las papas fritas procesadas en grasa de la almendra de mango presentaron un buen sabor y una vida de anaquel de 7 días; además, puede usarse como materia prima en la preparación de aderezos. También, puede ser un sustituto parcial de la manteca de cacao en el campo de la confitería alimentaria (Ali *et al.*, 1985) y panadería (Rukmini y Vijayaraghavan, 1984). Sin embargo, su uso más común es en la fabricación de jabones (Lakshminarayana *et al.*, 1983).

Tabla 8 Composición porcentual de los ácidos grasos de la manteca de cacao y de algunos de sus sustitutos.

Género y especie	Nombre común	Composición porcentual de ácidos grasos				
		C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C20:0
<i>Theobroma cacao</i> *	Manteca de cacao	25 – 27	32 – 36	33 – 38	2.6 – 4.1	0.5 – 1
<i>Shorea stenoptera</i> *	Grasa de illipé o Borneo tallow	19 – 21	40 – 42	35 – 38	1	-
<i>Butyrospermum parkii</i> *	Manteca de karité o Shea	5 – 9	30 – 41	45 – 50	4 – 5	-
<i>Theobroma cacao</i> #	Manteca de cacao	26.2	34.4	37.3	2.1	-
<i>Shorea robusta</i> #	Grasa de sal	4.6	44.2	42.1	2.8	6.3
<i>Garcinia indica</i> #	Grasa de kokum	3.1	56.1	39.1	1.7	-
<i>Bassia latifolia</i> #	Grasa de mowrah	24.1	19.3	43.4	13.2	-
<i>Mangifera indica</i> #	Grasa de mango	8.4	42.2	42.4	4.7	2.3

*Tiscornia *et al.* (1979); #Baliga y Shitole (1981).

Mecanismo de absorción

La digestión y absorción de los lípidos (triglicéridos, esteroides y fosfolípidos) comienza con la secreción de bilis de la vesícula biliar y las lipasas del páncreas a la luz intestinal. Esta actúa como agente emulsionante, formando pequeñas gotas lipídicas las cuales pueden dispersarse fácilmente en el interior del tracto gastrointestinal. Enseguida, las enzimas lipídicas, lipasas pancreáticas y colesterasas hidrolizan los ácidos grasos en posición sn-1 y sn-3 de los triglicéridos, obteniendo ácidos grasos libres, 2-monoacilglicerol, colesterol, fosfolípidos y glicerol. Finalmente, los productos de digestión son absorbidos por las células de la mucosa intestinal, donde se combinan formando una gotita de grasa llamada quilomicrón (forma de lipoproteína) (Lunn y Theobald, 2006). La lipoproteína es transportada a través del sistema linfático hacia el torrente sanguíneo donde son requeridos en las células tisulares y son hidrolizados en la mitocondria por la β -oxidación (Lunn y Theobald, 2006).

Los triglicéridos de cadena media dan lugar a ácidos grasos de cadenas más cortas (6-12 carbonos), los cuales pueden ser absorbidos directamente en el torrente sanguíneo sin

necesidad de ser transformados en quilomicrones y transportados hacia el hígado (Melvin, 2015).

Nutrición

Hoy en día, los consumidores se enfrentan a dos necesidades simultáneas: i) consumir alimentos que tengan las cualidades necesarias para mantener una dieta balanceada y, ii) preparar dichos alimentos en el menor tiempo posible. Gran parte de la industrialización de los alimentos y el ritmo de vida acelerado han afectado la calidad nutricional de los productos que consumimos. Es alarmante observar que, debido a la mala alimentación, los problemas de salud a nivel mundial han aumentado, entre ellos, las enfermedades cardiovasculares se ubican como la principal causa de muerte en el mundo (OMS, 2012). Desde hace varias décadas, la industrialización de los alimentos incrementó la producción de aceites vegetales parcial o totalmente hidrogenados. Este proceso tecnológico permitió modificar las propiedades físicas y químicas de las grasas, transformando su textura (grasa sólidos o semisólidos) y aumentando su estabilidad (menos susceptibles a la oxidación) (Ballesteros-Vásquez *et al.*, 2012). En los años noventa, Willett *et al.* (1993) reportaron que el consumo de vegetales parcialmente hidrogenados estaba relacionado con la incidencia de altos niveles de colesterol de alta densidad. Actualmente, la Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010 obliga a declarar en el etiquetado de alimentos y bebidas no alcohólicas, la concentración de grasas o lípidos presentes en el producto, especificando las cantidades de ácidos grasos *trans*, ácidos grasos monoinsaturados, ácidos grasos poliinsaturados y colesterol cuando se haga una declaración de propiedades respecto a la cantidad, tipo de ácidos grasos o la cantidad de colesterol.

Para atender a los requerimientos actuales, las empresas agroalimentarias han desarrollado y comercializado alimentos funcionales que sean nutritivos y listos para su consumo (Torres-Giner *et al.*, 2010). La ingesta de alimentos enriquecidos con ácidos grasos parece ser una opción para sustituir a los suplementos alimenticios, sin originar cambios en los hábitos alimenticios del consumidor.

La digestión de los lípidos en quilomicrones es lenta, y la absorción tras una comida alta en grasas puede durar varias horas. En este tiempo, reaccionan con diferentes células del organismo, especialmente las musculares y las del tejido adiposo (Melvin, 2015). Los alimentos animales pertenecientes a los productos cárnicos y productos lácteos son ricos en grasas saturadas. Por ejemplo, la carne de vacuno y cerdo presentan un elevado contenido de ácidos grasos saturados y monoinsaturados que la carne de pollo, destacando en este último en el contenido de grasas polinsaturadas. Por ejemplo, algunos reportes indican que los ácidos grasos mayoritarios en la carne de cerdo son el ácido oleico (38%), palmítico (24%), linoleico (12.5%) y esteárico (12.5%); mientras que la carne de pollo contiene ácido oleico (26.5%), linoleico (22.3%), palmítico (22.6%) y esteárico (8.0%); mientras que la carne de ternera contiene ácido oleico (42.9%), palmítico (25.8%) y esteárico (10.0%). Cabe destacar que el contenido de todos ellos depende de factores como especie del animal, edad, sexo, y cantidad de ácido linolénico aportada en la alimentación (Mañas *et al.*, 2010, Melvin, 2015). La mayoría de los alimentos vegetales suelen contener un bajo aporte graso, de los cuales principalmente son insaturados. No obstante, los cocos y las nueces de palma son extremadamente ricos en grasas saturadas (Melvin, 2015).

En la actualidad, sabemos que es importante consumir proporciones equilibradas de ácidos grasos esenciales y no esenciales para mantener una buena salud (ω -3, ω -6 y ω -9). La OMS recomienda un consumo mínimo diario de 0.3-0.5 g de EPA y DHA en la población general, así como mantener un equilibrio entre ω -3 y ω -6 en una proporción 1:5, respectivamente. El consumo de ω -9 es adecuado cuando existen niveles bajos de ω -3 y ω -6 en nuestra dieta (OMS, 2012). Estudios clínicos en niños bien nutridos de países desarrollados recomiendan una ingesta balanceada de ω -3 DHA en las fórmulas infantiles para favorecer el desarrollo del tejido neural, confirmando la idea de que “un apropiado funcionamiento cerebral, no puede ser construido sin un consumo equilibrado de ω -3 y ω -6”, especialmente AL (Jones *et al.*, 2015). Ramírez-Silva *et al.* (2011) reportaron que solo una tercera parte de la población mexicana encuestada (8,690 niños en edad escolar; 7,731 adolescentes, 16,366 adultos y 3,687 adultos mayores) consume el total de grasas recomendada por la Organización Mundial de la Salud. Las cifras anteriores son sumamente

alarmantes, por lo que es necesario promover un mayor consumo de alimentos ricos en ácidos grasos ω -3 y ω -6.

Bernabe-García (2011) recomienda que la ingesta para prevenir la deficiencia de ácidos grasos debe ser entre 0.6% y 1.2 % de la energía derivada del ácido α -linolénico y hasta un 10% puede provenir del EPA o DHA; mientras que, para reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares recomienda la ingestión de 1 g/d, de preferencia a través del consumo de pescado, es decir, dos porciones de 224 g de pescado graso por semana, como bacalao, salmón, macarela, pescado azul, arenque, pargo, huachinango y rubia (que contienen > 200 mg/DHA por 100 g de filete), o bien abadejo, angelito, atún aleta amarilla o merluza, que contienen alrededor de 100 mg DHA/100 g filete.

Calder (2012) realizó una exhaustiva revisión sobre los aspectos nutricionales o farmacéuticos del consumo de los ácidos grasos. En dicho estudio concluyó que las recomendaciones gubernamentales y científicas de consumir altas cantidades de EPA + DHA en la dieta es fundamentada principalmente en estimular un efecto antiinflamatorio, lo que sugiere una acción farmacológica, más que de nutrir al cuerpo humano.

Uso como ingrediente funcional

La biodisponibilidad se define como la velocidad y duración a la cual un ingrediente activo es absorbido y permanece disponible en el sitio de acción (Lane *et al.*, 2014). Algunos autores concuerdan que, el tipo de grasa provista por la dieta, influye en la incidencia de obesidad y juega un papel importante en la etiología de varios trastornos metabólicos incluyendo la dislipidemia (Assunção *et al.*, 2009). Algunos ácidos grasos son considerados ingredientes funcionales, ya que han demostrado reducir el riesgo de alguna enfermedad y mejoran la calidad de vida (Alabdulkarim *et al.*, 2012). En la tabla 9 se muestra un resumen de las propiedades biológicas más importantes de los ácidos grasos. Los ácidos grasos considerados como funcionales son: ácidos grasos ω -3 (ácido α -linolénico (ALA), ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA)), ω -6 (ácido γ -linoleico (GLA) y ácido linoleico (LA)), ácido linoleico conjugado (CLA), triglicéridos de cadena media y

fitoesteroles (Alabdulkarim *et al.*, 2012). Los ácidos grasos poliinsaturados DHA y EPA son sintetizados a partir del ácido graso ω -3 α -linolénico (ALA; 18:3), mientras que los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga como el ácido araquidónico son sintetizados a partir del ácido linoleico (LA; 18:2). Estos precursores son sintetizados en grandes cantidades en plantas y no pueden sintetizarse por el cuerpo humano y otros mamíferos. Estos deben de consumirse en la dieta, en alimentos ricos en estos compuestos o de alimentos procesados que los contengan dentro de su composición como un ingrediente funcional (Ruxton *et al.*, 2004, Abedi y Sahari, 2014). Darios y Davletov (2006) reportaron que, para mantener las funciones neurológicas de nuestro cerebro, los humanos debemos consumir altas cantidades de ácidos grasos polinsaturados ω -3 y ω -6. Los ácidos grasos juegan un papel crítico en las membranas celulares de nuestro cerebro; por ejemplo, la baja concentración de ciertos ácidos grasos se considera anormal en los cerebros de pacientes con esquizofrenia.

Akter *et al.* (2012) realizaron una investigación bibliográfica sobre la relación entre el consumo de ácidos grasos esenciales, como el ácido docosahexaenoico, ácidos grasos ω -3, el ácido linoleico ω -6 y los ácidos araquidónicos, y su efecto en pacientes con esquizofrenia. Concluyeron que, la evidencia científica recabada aún no es contundente. Los autores sugieren incrementar la duración de las pruebas clínicas y el número de pacientes con la finalidad de recabar mayor información. No obstante, debido al bajo riesgo en su consumo de los ácidos grasos, recomiendan añadir ácidos grasos poliinsaturados ω -3 a los regímenes actuales de medicación con la esperanza de mejorar el control de los síntomas en la esquizofrenia.

La estructura del alimento puede influir en la biodisponibilidad de los lípidos en los alimentos, por ejemplo, el proceso de emulsificación de los aceites es una alternativa tecnológica, la cual podría ayudar a incrementar la absorción de los lípidos de cadena larga (FAO, 2008). Lane *et al.* (2014) realizaron un estudio preliminar sobre la absorción de omega-3 en nanoemulsiones en comparación con el aceite sin emulsionar en una matriz láctea. Los resultados sugieren que las nanoemulsiones pueden incrementar la biodisponibilidad de los lípidos.

Tabla 9. Propiedades biológicas de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados.

	AP ₃	AB	AC ₈	AC ₁₀	AL ₁₂	AM	AP ₁₆	AE	AP	AO	ALA	SDA	LA	EPA	DPA	DHA
Antiagregación plaquetaria												■			■	
Anticancerígeno		■					■		■	■	■			■		■
Anticonvulsionante			■								■					
Antidiabético													■			
Antienvejecimiento														■		■
Antihipertensivo										■			■			
Antiinflamatorio	■	■								■	■	■		■	■	■
Antimicrobiano	■	■	■	■	■											
Antimutagénico														■		
Antiobesidad				■										■		■
Antireumatoide														■		■
Cardioprotector								■			■	■				
Incrementa colesterol LDL				■		■			■							
Neuroprotector			■								■				■	
Potenciador sistema inmune														■		
Reducción de triglicéridos	■				■				■			■				
Saciedad	■															
Sensibilidad a la insulina	■													■		■

(Ochiai y Kurita-Ochiai, 2009, Pituch *et al.*, 2013, Harrison *et al.*, 2013, White y Sherlock, 2005, Fernando *et al.*, 2015, Shilling *et al.*, 2013, Tholstrup *et al.*, 2004, Dayrit, 2014, Mensink *et al.*, 2003, Rioux *et al.*, 2000, Mancini *et al.*, 2015, Cocchi *et al.*, 2009, Bernstein *et al.*, 2014, De Fabiani, 2011, Sales-Campos *et al.*, 2013, Aydin, 2005, Blondeau *et al.*, 2015, Whelan, 2009, Koba y Yanagita, 2014, Siriwardhana *et al.*, 2012, Kaur *et al.*, 2011).

Estudios realizados en CIATEJ, A.C. sugieren una mayor biodisponibilidad en nanoemulsiones de ácidos grasos poliinsaturados provenientes del ojo de atún (Espinosa-Andrews *et al.*, 2012). Las nanoemulsiones de aceite de pescado presentaron un efecto antiinflamatorio *in-vitro* observado a través de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa 2 (COX-2), involucrada en el proceso inflamatorio. Los resultados fueron corroborados en pruebas *in vivo* mediante la disminución del volumen de un edema plantar inducido por carragenina en roedores. Las nanoemulsiones desarrolladas presentaron un potencial uso en la prevención de procesos inflamatorios de tipo agudo.

Referencias

1. ABEDI, E. y SAHARI, M. A. 2014. Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. *Food Science y Nutrition* 2, 443-63.
2. AKTER, K., GALLO, D. A., MARTIN, S. A., MYRONYUK, N., ROBERTS, R. T., STERCULA, K. y RAFFA, R. B. 2012. -A review of the possible role of the essential fatty acids and fish oils in the aetiology, prevention or pharmacotherapy of schizophrenia. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 37, 132-139.
3. AL-LAHHAM, S. H., PEPPELENBOSCH, M. P., ROELOFSEN, H., VONK, R. J. y VENEMA, K. 2010. Biological effects of propionic acid in humans; metabolism, potential applications and underlying mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1801, 1175-83.
4. ALABDULKARIM, B., BAKEET, Z. A. N. y ARZOO, S. 2012. Role of some functional lipids in preventing diseases and promoting health. *Journal of King Saud University - Science*, 24, 319-329.
5. ALI, M. A., GAFUR, M. A., RAHMAN, M. S. y AHMED, G. M. 1985. Variations in fat content and lipid class composition in ten different mango varieties. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 62, 520-523.
6. ASSUNÇÃO, M. L., FERREIRA, H. S., DOS SANTOS, A. F., CABRAL, C. R. y FLORÊNCIO, T. M. M. T. 2009. -Effects of Dietary Coconut Oil on the Biochemical and Anthropometric Profiles of Women Presenting Abdominal Obesity. *Lipids*, 44, 593-601.
7. AYDIN, R. 2005. Conjugated Linoleic Acid: Chemical Structure, Sources and Biological Properties. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29, 189-195.
8. BALIGA, B. P. y SHITOLE, A. D. 1981. Cocoa butter substitutes from mango fat. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 58, 110-114.
9. BALLESTEROS-VÁSQUEZ, M. N., VALENZUELA-CALVILLO, L. S., ARTALEJO-OCHOA, E. y ROBLES-SARDIN, A. E. 2012. Ácidos grasos trans: un análisis del efecto de su consumo en la salud humana,

regulación del contenido en alimentos y alternativas para disminuirlos. *Nutrición Hospitalaria*, 27, 54-64.

10. BAYRAK, A., KIRALAN, M., IPEK, A., ARSLAN, N., COSGE, B. y KHAWAR, K. M. 2014. Fatty Acid Compositions of Linseed (*Linum Usitatissimum*L.) Genotypes of Different Origin Cultivated in Turkey. *Biotechnology y Biotechnological Equipment*, 24, 1836-1842.
11. BERNABE-GARCÍA, M. 2011. Ácidos grasos omega-3 en enfermedades gastrointestinales y metabólicas. *Revista de Gastroenterología de México*, 2, 24-25.
12. BERNSTEIN, A. M., ROIZEN, M. F. y MARTINEZ, L. 2014. Purified palmitoleic acid for the reduction of high-sensitivity C-reactive protein and serum lipids: a double-blinded, randomized, placebo controlled study. *Journal of Clinical Lipidology*, 8, 612-7.
13. BLONDEAU, N., LIPSKY, R. H., BOUROUROU, M., DUNCAN, M. W., GORELICK, P. B. y MARINI, A. M. 2015. Alpha-linolenic acid: an omega-3 fatty acid with neuroprotective properties-ready for use in the stroke clinic? *BioMed Research International* 2015, 519830.
14. CALDER, P. C. 2012. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: Nutrition or pharmacology? *British Journal of Clinical Pharmacology*, n/a-n/a.
15. CASTRO-GONZÁLEZ, M. I. 2002. Ácidos grasos omega 3: Beneficios y fuentes. *Interciencia*, 27, 128-136.
16. COCCHI, M., TONELLO, L. y LERCKER, G. 2009. Platelet Stearic Acid in different population groups: biochemical and functional hypothesis. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*, 29, 34-45.
17. CHAIYASIT, W., ELIAS, R. J., MCCLEMENTS, D. J. y DECKER, E. A. 2007. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47, 299-317.
18. CHOE, E. y MIN, D. B. 2006. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 5, 169-186.
19. DARIOS, F. y DAVLETOV, B. 2006. Omega-3 and omega-6 fatty acids stimulate cell membrane expansion by acting on syntaxin 3. *Nature*, 440, 813-817.
20. DAYRIT, F. M. 2014. The Properties of Lauric Acid and Their Significance in Coconut Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92, 1-15.
21. DE FABIANI, E. 2011. The true story of palmitoleic acid: Between myth and reality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 809-811.
22. DEN BESTEN, G., VAN EUNEN, K., GROEN, A. K., VENEMA, K., REIJNGOUD, D. J. y BAKKER, B. M. 2013. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of Lipid Research*, 54, 2325-40.
23. DHINGRA, S. y KAPOOR, A. C. 1985. Nutritive value of mango seed kernel. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36, 752-756.

24. DREHER, M. L. y DAVENPORT, A. J. 2013. Hass avocado composition and potential health effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 738-50.
25. ESPINOSA-ANDREWS, H., GONZALEZ-AVILA, M., VILLANUEVA, S., PADILLA, E. y CRUZ, A. 2012. *Nutracéutico encapsulado por microfluidización en efecto anti-inflamatorio y probiótico*. MX patent application.
26. ESTRADA-LUGO, E. 1992. *Plantas medicinales de México: introducción a su estudio*, México.
27. FAO 2008. Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation. *FAO Food and Nutrition Paper*.
28. FERNANDO, W. M., MARTINS, I. J., GOOZEE, K. G., BRENNAN, C. S., JAYASENA, V. y MARTINS, R. N. 2015. The role of dietary coconut for the prevention and treatment of Alzheimer's disease: potential mechanisms of action. *British Journal of Nutrition*, 114, 1-14.
29. FULGONI III, V. L., DREHER, M. y DAVENPORT, A. J. 2013. Avocado consumption is associated with better diet quality and nutrient intake, and lower metabolic syndrome risk in US adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001–2008. *Nutrition Journal*, 12, 1-6.
30. HALL, C., TULBEK, M. C. y XU, Y. 2006. Flaxseed. *Advances In Food And Nutrition Research*, 51, 1-97.
31. HARRISON, L. M., BALAN, K. V. y BABU, U. S. 2013. Dietary fatty acids and immune response to food-borne bacterial infections. *Nutrients*, 5, 1801-22.
32. HU, F. B. y STAMPFER, M. J. 1999. Nut Consumption and Risk of Coronary Heart Disease: A Review of Epidemiologic Evidence. *Current Atherosclerosis Reports*, 1, 204-209.
33. JONES, K. D. J., ALI, R., KHASIRA, M. A., ODERA, D., WEST, A. L., KOSTER, G., AKOMO, P., TALBERT, A. W. A., GOSS, V. M., NGARI, M., THITIRI, J., NDORO, S., KNIGHT, M. A. G., OMOLLO, K., NDUNGU, A., MULONGO, M. M., BAHWERE, P., FEGAN, G., WARNER, J. O., POSTLE, A. D., COLLINS, S., CALDER, P. C. y BERKLEY, J. A. 2015. Ready-to-use therapeutic food with elevated n-3 polyunsaturated fatty acid content, with or without fish oil, to treat severe acute malnutrition: a randomized controlled trial. *BMC Medicine*, 13.
34. KAUR, G., CAMERON-SMITH, D., GARG, M. y SINCLAIR, A. J. 2011. Docosapentaenoic acid (22:5n-3): a review of its biological effects. *Progress in Lipid Research*, 50, 28-34.
35. KIRBAŞLAR, F. G., TÜRKER, G., ÖZSOY-GÜNEŞ, Z., ÜNAL, M., DÜLGER, B., ERTAŞ, E. y KIZILKAYA, B. 2012. Evaluation of Fatty Acid Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity, Mineral Composition and Calorie Values of Some Nuts and Seeds from Turke. *Records of Natural Products*, 6, 339-349.
36. KOBAYASHI, K. y YANAGITA, T. 2014. Health benefits of conjugated linoleic acid (CLA). *Obesity Research y Clinical Practice*, 8, e525-32.

37. LAKSHMINARAYANA, G., CHANDRASEKHARA RAO, T. y RAMALINGASWAMY, P. A. 1983. Varietal variations in content, characteristics and composition of mango seeds and fat. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 60, 88–89. .
38. LANE, K. E., LI, W., SMITH, C. y DERBYSHIRE, E. 2014. The bioavailability of an omega-3-rich algal oil is improved by nanoemulsion technology using yogurt as a food vehicle. *International Journal of Food Science y Technology*, 49, 1264-1271.
39. LAWRENCE, G. 2010. Nutritional, Chemical, and Physiological Properties of Dietary Fats. In: LAWRENCE, G. (ed.) *The Fats of Life Essential Fatty Acids in Health and Disease*. Rutgers University Press.
40. LOBB, K. y CHOW, C. K. 2008. Fatty acid classification and nomenclature. In: CHOW, C. K. (ed.) *Fatty acid in foods and their health implications*. Third ed.: CRC Press.
41. LUNN, J. y THEOBALD, H. E. 2006. The health effects of dietary unsaturated fatty acids. *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*, 31, 178-224.
42. MANCINI, A., IMPERLINI, E., NIGRO, E., MONTAGNESE, C., DANIELE, A., ORRU, S. y BUONO, P. 2015. Biological and Nutritional Properties of Palm Oil and Palmitic Acid: Effects on Health. *Molecules*, 20, 17339-61.
43. MAÑAS, M., MARTÍNEZ DE VICTORIA, E. y YAGO, M. D. 2010. *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*, Médica Panamericana S.A.
44. MARINA, A. M., CHE MAN, Y. B., NAZIMAH, S. A. H. y AMIN, I. 2009. Chemical Properties of Virgin Coconut Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86, 301-307.
45. MCCLEMENTS, D. J., DECKER, E. A. y WEISS, J. 2007. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science*, 72, R109-24.
46. MELVIN, W. H. 2015. *Nutrición para la salud, la condición física y el deporte* Paidotribo.
47. MENSINK, R. P., ZOCC, P. L., KESTER, A. D. M. y KATAN, M. B. 2003. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77, 1146–1155.
48. MULTON, J. L. 1997. *Analysis of Food Constituents*, Estados Unidos, Wiley-VCH, Inc.
49. NARASIMHA-CHAR, B. L., REDDY, B. R. y THIRUMALA RAO, S. D. 1977. Processing mango stones for fat. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 54, 494–495.
50. NEVIN, K. G. y RAJAMOHAN, T. 2008. Influence of virgin coconut oil on blood coagulation factors, lipid levels and LDL oxidation in cholesterol fed Sprague–Dawley rats. *e-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism*, 3, e1-e8.
51. O'KEEFE, S. F. 2002. Nomenclature and Classification of Lipids. In: AKOH, C. C. y MIN, D. B. (eds.) *Food Lipids. Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Marcel Dekker, Inc.

52. OCHIAI, K. y KURITA-OCHIAI, T. 2009. Effects of butyric acid on the periodontal tissue. *Japanese Dental Science Review*, 45, 75-82.
53. OMS 2012. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/index.html>. Recuperado el 10 de Octubre de 2012.
54. OOMAH, B. D. 2001. Flaxseed as a functional food source. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81.
55. PITUCH, A., WALKOWIAK, J. y BANASZKIEWICZ, A. 2013. Butyric acid in functional constipation. *Prz Gastroenterol*, 8, 295-8.
56. PRADES, A., DORNIER, M., DIOP, N. y PAIN, J.-P. 2012. Coconut water uses, composition and properties: a review. *Fruits*, 67, 87-107.
57. RAMÍREZ-SILVA, I., VILLALPANDO, S., MORENO-SARACHO, J. E. y BERNAL-MEDINA, D. 2011. Fatty acids intake in the Mexican population. Results of the National Nutrition Survey 2006. *Nutrition y Metabolism*, 8, 33.
58. RAO, P. U. 1994. Nutrient composition of some less-familiar oil seeds. *Food Chemistry*, 50, 379–382.
59. RIOS-COVIAN, D., RUAS-MADIEDO, P., MARGOLLES, A., GUEIMONDE, M., DE LOS REYES-GAVILAN, C. G. y SALAZAR, N. 2016. Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health. *Frontiers in Microbiology*, 7, 185.
60. RIOUX, V., LEMARCHAL, P. y LEGRAND, P. 2000. Myristic acid, unlike palmitic acid, is rapidly metabolized in cultured rat hepatocytes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 11, 198–207.
61. ROS, E. y MATAIX, J. 2007. Fatty acid composition of nuts – implications for cardiovascular health. *British Journal of Nutrition*, 96, S29.
62. ROY, B. C., GOTO, M., y HIROSE, T. (1996). 1996. Temperature and pressure effects on supercritical CO₂ extraction of tomato seed oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 31, 137-141.
63. RUKMINI, C. y VIJAYARAGHAVAN, M. 1984. Nutritional and toxicological evaluation of mango kernel oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61, 789–792.
64. RUSTAN, A. C. y DREVON, C. A. 2005. Fatty Acids: Structures and Properties.
65. RUXTON, C. H. S., REED, S. C., SIMPSON, M. J. A. y MILLINGTON, K. J. 2004. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *Journal of Human Nutrition and Dietetics* 17, 449–459.
66. SALES-CAMPOS, H., REIS DE SOUZA, P., CREMA PEGHINI, B., SANTANA DA SILVA, J. y RIBEIRO CARDOSO, C. 2013. An Overview of the Modulatory Effects of Oleic Acid in Health and Disease. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 13, 201-210.

67. SEMMA, M. 2002. Trans Fatty Acids: Properties, Benefits and Risks. *Journal of Health Science*, 48, 7-13.
68. SHILLING, M., MATT, L., RUBIN, E., VISITACION, M. P., HALLER, N. A., GREY, S. F. y WOOLVERTON, C. J. 2013. Antimicrobial effects of virgin coconut oil and its medium-chain fatty acids on *Clostridium difficile*. *Journal of Medicinal Food*, 16, 1079-85.
69. SHIM, Y. Y., GUI, B., ARNISON, P. G., WANG, Y. y REANEY, M. J. T. 2014. Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) bioactive compounds and peptide nomenclature: A review. *Trends in Food Science y Technology*, 38, 5-20.
70. SIRIWARDHANA, N., KALUPAHANA, N. S. y MOUSTAID-MOUSSA, N. 2012. Health benefits of n-3 polyunsaturated fatty acids: eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. *Advances in Food and Nutrition Research*, 65, 211-22.
71. THOLSTRUP, T., EHNHOLM, C., JAUHAINEN, M., PETERSEN, M., HØY, C. E., LUND, P. y SANDSTRÖM, B. 2004. Effects of medium-chain fatty acids and oleic acid on blood lipids, lipoproteins, glucose, insulin, and lipid transfer protein activitie. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 564–569.
72. TISCORNIA, E., PAGANUZZI, V. y LEONI, E. 1979. Sostanza grassa del seme di mango (*Mangifera indica* L.): caratteristiche analitiche e possibilita di impiego nell'industria dolciaria. 1. Composizione in acidi grassi e struttura gliceridica. . *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 56, 332–338.
73. TORRES-GINER, S., MARTÍNEZ-ABAD, A., OCIO, M. y LAGARON, J. 2010. La estabilización de un nutraceutico omega-3 los ácidos grasos mediante encapsulación en ultra fino electrospray zeína prolamina. *Journal Food*, 1, 69-79.
74. VALENZUELA, A. 2008. Ácidos grasos con isomería trans I. Su origen y los efectos en la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 35.
75. VAN PEE, W., BONI, L., FOMA, M., HOYLAERTS, M. y HENDRIKX, A. 1980. Positional Distribution of the Fatty Acids in the Triglycerides of Mango (*Mangifera indica*) Kernel Fat. . *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 57, 243–245.
76. WHELAN, J. 2009. Dietary stearidonic acid is a long chain (n-3) polyunsaturated fatty acid with potential health benefits. *Journal of Nutrition*, 139, 5-10.
77. WHITE, E. y SHERLOCK, C. 2005. The Effect of Nutritional Therapy for Yeast Infection (Candidiasis) in Cases of Chronic Fatigue Syndrome. *Journal of Orthomolecular Medicine*, 20, 193-209.
78. WILLETT, W. C., STAMPFER, M. J., MANSON, J. E., COLDITZ, G. A., SPEIZER, F. E., ROSNER, B. A., HENNEKENS, C. H., HENNEKENS, C. H., WILLETT, W. C., STAMPFER, M. J., COLDITZ, G. A., WILLETT, W. C., SAMPSON, L. A. y ROSNER, B. A. 1993. Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women. *The Lancet*, 341, 581-585.

79. ZAMORA, R. y HIDALGO, F. J. 2004. Fatty Acids. *In*: NOLLET, L. M. L. (ed.) *Handbook of Food Analysis*. 2da ed. Estados Unidos: CRC Press

3. ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS TERPENOS EN EL ÁREA AGROALIMENTARIA

Ángela Michelle González-López

Evangelina Esmeralda Quiñones-Aguilar

Gabriel Rincón-Enríquez*

Biotecnología Vegetal, CIATEJ, A.C.

*grincon@ciatej.mx

Introducción

Los terpenos, también denominados isoprenoides, constituyen el grupo más abundante de los aceites vegetales; de hecho, son los responsables de los aromas y sabores específicos de las plantas, mientras mayor sea la cantidad de oxígeno en la molécula, mayor será su aroma. Estos compuestos se forman a partir del isopreno (unidad de 5 átomos de carbono); pueden contener desde una hasta ocho unidades. Las unidades pueden arreglarse linealmente (como en el escualeno) o cíclicamente (como en la limonina). A pesar de que los terpenos están presentes en la gran mayoría de formas de vida, las plantas en particular, destacan por albergar una impresionante diversidad de estos compuestos, teniendo además una amplia heterogeneidad en cuanto a función y estructura (Shrader y Bohlman, 2015). Dentro de los terpenos se clasifica a los *carotenoides* que son tetraterpenos muy importantes en los mamíferos, especialmente el β -caroteno que es precursor de la vitamina A (11-cis-retinal). También las vitaminas liposolubles D (colecalciferol) y K son consideradas como terpenos.

Estos compuestos tienen funciones primordiales en las plantas como pigmentos fotosintéticos (carotenoides), acarreadores de electrones (ubiquinona y plastoquinona), reguladores de crecimiento y desarrollo (fitohormonas), en la glicosilación de proteínas (dolicol) o como elementos estructurales y funcionales de la membrana celular

enlace pirofosfato de dimetilalil (DMAPP) (Boronat y Rodríguez-Concepción, 2015).

Los terpenos son clasificados según el número de unidades (isopreno) por el que estén conformados (Tabla 1); pueden arreglarse linealmente o pueden ciclarse (Primo, 1995). El primer grupo se divide en mono-, sesqui-, di- y triterpenos, los cuales contienen de dos a seis unidades de isopreno; este grupo incluye a los carotenoides y sesterterpenoides (Raaman, 2006; Schmidt-Dannert, 2015). El segundo grupo incluye a los meroterpenos, los indol diterpenos y el diverso grupo de los prenilados aromáticos (Schmidt-Dannert, 2015). Los terpenos más simples (mono- y sesquiterpenos) son los principales constituyentes de los aceites esenciales, son ampliamente utilizados en la industria de la perfumería; en general los monoterpenos hidrocarbonados como α - y β -pineno, limoleno, δ -3-careno, α -felandreno y mirceno se encuentran en la mayoría de los aceites esenciales vegetales, particularmente de aquellos extraídos de hojas, semillas y flores (Caputi y Aprea, 2011); mientras que los di- y triterpenos son compuestos menos volátiles que los anteriores y se obtienen de las resinas vegetales. Los carotenos (tetraterpenos) conforman más de 600 estructuras conocidas (Lemos-Bicas *et al.*, 2009).

Tabla 1. Clasificación típica de los terpenos o isoprenos.

Número de unidades de isoprenos	Número de carbonos	Nombre del terpeno
2	10	Monoterpeno
3	15	Sesquiterpeno
4	20	Diterpeno
6	30	Triterpeno
8	40	Tetraterpeno
>8	>40	Politerpeno

Actividad biológica de los terpenos en el área agroalimentaria

Las plantas y algunos microorganismos producen una vasta cantidad de metabolitos secundarios, los cuales han sido utilizados desde tiempos ancestrales por el ser humano para su beneficio. Los terpenos son las moléculas más antiguas conocidas, incluso estas han sido recuperadas de sedimentos de 2.5 mil millones de años de edad (Brocks *et al.*, 1999). Debido a la gran diversidad en estructura y función que albergan los terpenos, estos han sido

explotados por diferentes industrias, entre ellas la farmacéutica, agroalimentaria, cosmética, química, entre otras.

Algunos terpenos son los componentes principales de los aromas volátiles de flores y frutos, adaptaciones que las plantas han implementado con la finalidad de atraer polinizadores, por lo que la presencia o ausencia de estos tienen consecuencias en el rendimiento de cultivos importantes (Caputi y Aprea, 2011). Todos los productos naturales producidos por las plantas tienen un fuerte impacto en la rizosfera (zona de interacción entre las raíces y microorganismos del suelo), estos metabolitos median la interacción de las plantas con otras plantas, animales y microorganismos (Karlovsky, 2008); un ejemplo de estos compuestos es el sesquiterpeno (E)- β -cariofileno, el cual está presente en aromas florales y produce señales de defensa contra patógenos (Huang *et al.*, 2012). El (E)- β -cariofileno es producido por las raíces de maíz contra los ataques de herbivoría de las larvas de *Diabrotica virgifera*, también conocido como gusano de la raíz del maíz (Zhang *et al.*, 2015); este compuesto exudado por las raíces del maíz atrae el enemigo natural de *D. virgifera*, un nematodo entomopatígeno (Rasmann *et al.*, 2005). *D. virgifera* es una amenaza perjudicial para el cultivo del maíz, ocasiona pérdidas económicas, especialmente en países del este de Europa (Breitenbach *et al.*, 2005). Las líneas de maíz americano no producen (E)- β -cariofileno y por lo tanto son susceptibles al patógeno *D. virgifera* (Zhang *et al.*, 2015), en Jalisco se ha reportado a la diabrotica (gusano alfilerillo), como una de las plagas más importantes en el maíz de la Ciénega de Chapala (*Diabrotica virgifera zea*) (Pérez-Domínguez *et al.*, 2006), por lo cual contar con variedades productoras de este sesquiterpeno podrían contribuir a disminuir de manera ecológica esta plaga en esta región eminentemente productora de maíz en México.

Muchos monoterpenos han sido descritos como potentes inhibidores en la germinación y crecimiento de diversas especies vegetales; se ha reportado que los monoterpenos: alcanfor, eucalipto, limoneno y α -pineno afectan el metabolismo mitocondrial de las raíces del maíz, por lo que también se ven afectados procesos fisiológicos y metabólicos asociados al desarrollo y crecimiento de la planta (Abraham *et al.*, 2000). Los monoterpenos α - y β -

pineno, limoneno y citronellol extraídos de las hojas de naranjo amargo (*Citrus aurantium*) se han reportado como inhibidores del crecimiento y germinación de *Amaranthus retroflexus* (Alsaadawi y Alrubeaa, 1985). Monoterpenos como: (\pm) β -citronellool, α -pineno, α -terpineno, γ -terpineno, α -terpineol, 1,8-cineole, citral, timol, carvacrol, α + β -tujona, camfeno, alcanfor, -borneol, *p*-cimeno, mirceno, mentona, -mentol, geraniol, acetato de geranilo, linalool, acetato de linalilo, α -felandreno, estragol, carvona y limoneno han mostrado actividad fitotóxica en el crecimiento de rábano (*Raphanus sativus*) y berro (*Lepidium sativum*) (Martino *et al.*, 2010). En los últimos años el control biológico de factores bióticos que afectan a los cultivos agrícolas ha cobrado gran importancia por razones económicas, ambientales y de salud humana (Rodríguez-del-Bosque y Arredondo-Bernal, 2007). El caso del (E)- β -cariofileno y su acción de defensa contra el patógeno del maíz pone de manifiesto el uso y aprovechamiento de los terpenos como novedosas herramientas biotecnológicas de control para contrarrestar las plagas o enfermedades ocasionadas por organismos patógenos que reducen considerablemente el rendimiento de los cultivos de importancia en la alimentación humana. Los monoterpenos antes mencionados, debido a su actividad fitotóxica, también representan un gran potencial como bioherbicidas, ya que permiten el desarrollo de nuevos pesticidas seguros y ecocompatibles (Martino *et al.*, 2010).

Se conoce que algunos aceites esenciales contienen compuestos con la capacidad de regular el crecimiento y desarrollo vegetal (Jones *et al.*, 2015). Las fitohormonas son sustancias que ocurren naturalmente, son efectivas en pequeñas cantidades, actúan como señales para estimular o inhibir el crecimiento o regular algunos de los programas del desarrollo de las plantas y son consideradas como señales químicas que facilitan la comunicación intracelular (Pimienta-Barrios *et al.*, 2008). Las giberelinas son diterpenos que se sintetizan a partir de unidades de acetato del acetyl coenzima A en la ruta del ácido mevalónico, estas hormonas están involucradas en diferentes respuestas; la elongación del tallo se ve estimulada por las giberelinas, así como también el crecimiento de toda la planta, incluyendo raíces y tallo (Pimienta-Barrios *et al.*, 2008). El ácido abscísico (ABA) es un sesquiterpenoide; aumenta la tolerancia de las plantas a varios tipos de estrés de origen biótico y abiótico como sequía, salinidad, altas temperaturas y ataque de patógenos

(Pimienta-Barrios *et al.*, 2008). Otras fitohormonas de naturaleza isoprenoide son las citocininas (citoquininas), estrigolactonas y brasinoesteroides (Araya, 2012). Desde su descubrimiento, las fitohormonas son aplicadas exógenamente en casi todos los cultivos. Han sido utilizadas desde la década de 1940 para modificar los cultivos agrícolas mediante el control de diferentes procesos de desarrollo como germinación, crecimiento vegetativo (Basra, 2000), para promover el desarrollo radicular de explantes y yemas axilares, como protectores florales (Robles-Bermúdez *et al.*, 2012) y para mejorar la producción de frutos y la duración del periodo de cosecha (Viasus-Quintero *et al.*, 2013).

Los saborizantes y fragancias son ingredientes fundamentales en la preparación y procesamiento de alimentos a nivel industrial y doméstico (Muller y Riel, 1990). El incremento en el consumo de alimentos fortificados y bebidas enriquecidas ha sido un reto para la rama de la tecnología alimentaria; es necesario enmascarar aquellos ingredientes que generan sabores desagradables (vitaminas, minerales, antioxidantes, etc.) (Caputi y Aprea, 2010). En la actualidad los colorantes, saborizantes y fragancias naturales tienen mayor aceptación por parte de los consumidores. Los terpenos han sido extensamente utilizados como agentes saborizantes y odorantes (Muller y Riel, 1990). La producción mundial de aceites vegetales es de miles de toneladas anuales (Ortuño, 2006). El mentol, aislado del aceite esencial de la menta (*Mentha arvensis*) (Caputi y Aprea, 2010), tiene una producción anual que excede las 30000 toneladas (Lange, 2015), este compuesto es un monoterpeno *p*-mentano y ha sido extensamente utilizado en el sector de los saborizantes, esto debido a su característico efecto refrescante, perceptible cuando es ingerido o aplicado en la piel; el mentol se utiliza principalmente en la industria alimenticia, en gomas de mascar, bebidas, dulces, cigarrillos y cosméticos (Lange, 2015). El D-Limoneno es un monoterpeno presente en varias especies cítricas (Caputi y Aprea, 2010), su fuente principal de obtención es a partir del aceite de la cáscara de varias especies del genero *Citrus*, donde forma parte del 70 al 98% (v/v) del aceite esencial (Lange, 2015). El limoneno es de los monoterpenos cíclicos más abundantes en la naturaleza y al ser un subproducto de la obtención del zumo de cítricos su producción es de bajo costo (Lemos *et al.*, 2009); es utilizado como agente saborizante en alimentos, bebidas y gomas de mascar (NTP, 1990). Los monoterpenos son utilizados como fragancias que mejoran el olor de productos industriales, así como también son

precursores de saborizantes importantes tales como borneol, alcanfor, citronelol, geraniol, mentol, verbenol y verbenon; incluso los carotenoides volátiles también son utilizados como saborizantes (Lemos *et al.*, 2009).

Los terpenos al presentar actividad antioxidante, antitumoral, antiinflamatoria, antifúngica y antibacterial (Shrader y Bohlman, 2015) son elementos primordiales de los alimentos funcionales y de los productos nutraceuticos. Los alimentos funcionales son aquellos que se consumen como parte de una dieta normal y que contiene compuestos que son benéficos para la salud (minerales, vitaminas, antioxidantes, etc.), mientras que los nutraceuticos son un suplemento dietético concentrado, hecho a partir de una sustancia natural bioactiva y que proporciona un efecto favorable sobre la salud (Cruzado y Cedrón, 2012).

El carotenoide más abundante en el jitomate es el licopeno, es responsable de proporcionar el color rojo a diversas frutas y vegetales; éste tetraterpeno es uno de los antioxidantes más potentes presentes en la naturaleza, varios estudios confirman que una dieta suplementada con licopeno reduce el riesgo de cáncer, así como también retarda el crecimiento de tumores; además se ha registrado su actividad contra otras enfermedades como las cardiovasculares, osteoporosis e infertilidad masculina (Gajowik y Dobrynska, 2014). Los ginsenósidos son triterpenos glicosilados, son utilizados en la medicina china para tratar afecciones respiratorias, entre ellas el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (Shergis *et al.*, 2014); también se han reportado triterpenos como inductores de la apoptosis de células cancerígenas (Chudzik *et al.*, 2015). Estas propiedades hacen de los triterpenos compuestos que ofrecen alternativas para la prevención y tratamiento del cáncer (Chudzik *et al.*, 2015). Varios monoterpenos se han registrado como agentes antibacteriales, tales como acetato de linalilo, mentol, timol, carvacrol, carvona y trans-cinamaldehído (Bhatti *et al.*, 2014).

El “axihuitl” como extracto con actividad biológica basada en terpenos

El axihuitl (*Eupatorium aschembornianum*) es una hierba endémica perteneciente a la

familia Compositae que se distribuye arriba de los 2000 msnm en el parque nacional del Tepozteco, en el estado de Morelos, México (Madaleno, 2011). Los habitantes de San Juan Tlacotenco, Morelos atribuyen al axihuitl más de 20 usos medicinales, entre los que destacan: gastroprotector, contra úlceras, colitis, lavado de heridas, como cicatrizante en heridas y quemaduras, en dolores musculares y “para la circulación” (Salazar y Salazar, 2010).

Se ha comprobado la actividad antifúngica del extracto hexánico de axihuitl contra hongos patógenos de humanos como es el caso de *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*; especies de hongos que son antropofílicos, los cuales parasitan la piel generando inflamación (Fernández *et al.*, 2002). Incluso se ha demostrado su potencial como tratamiento efectivo para pacientes con onicomicosis media y moderada (Romero-Cerecero *et al.*, 2009). Se han reportado cerca de 149 constituyentes químicos en el género *Eupatorium*, entre ellos están incluidos los monoterpenos, diterpenos y triterpenos (Zhang *et al.*, 2008). Las propiedades antimicrobianas del extracto hexánico de *Eupatorium glutinosum* se atribuyen al triterpeno tetracíclico dammadieniol acetato y al triterpeno pentacíclico friedelina (El-Seedi *et al.*, 2002).

Se cuentan con pocos registros de estudios de la composición química de *E. aschembornianum*, sin embargo, se han caracterizado ciertos compuestos donde se muestra la presencia de dos crómenos en el género *Eupatorium* a los que llaman eupatoriocromenos y dos benzofuranos de *E. aschembornianum*. Ríos y colaboradores (2003) demostraron la presencia de actividad antimicrobiana a partir de dos benzofuranos de un extracto hexánico de *E. aschembornianum* en hongos. García-Sánchez y colaboradores (2011) realizaron un análisis químico preliminar de extractos hexánicos de las flores de nueve especies del género *Eupatorium* spp nativas, lograron determinar las familias químicas principales, las cuales fueron: terpenos y cromenos.

En un estudio realizado por Rincón-Enríquez y colaboradores (2012), se lograron determinar varios compuestos de interés fitoquímico en los extractos metanólicos de *E.*

aschembornianum, entre ellos se localizaron saponinas, flavonoides, triterpenos, fenoles, taninos y cumarinas volátiles (Tabla 2). En este mismo estudio las fracciones obtenidas a través de cromatografía en columna mostraron una moderada actividad protectora contra radicales libres, reportando así que las fracciones y el extracto crudo de axihuitl presentan actividad antioxidante.

Tabla 2. Caracterización fitoquímica de extractos metanólicos liofilizada de axihuitl cultivado (AC), axihuitl silvestre (AS) y axihuitl cultivado sin liofilizar (AC s/L).

Tipo de extracto	Saponinas	Flavonoides	Triterpenos	Fenoles	Taninos	Cumarinas volátiles
AC	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
AS	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
AC s/L	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

(+) o (-) = Presencia o ausencia del compuesto químico en el extracto, respectivamente.

A partir del extracto acetónico de axihuitl se obtuvieron cinco fracciones, de las cuales la fracción 1 (F1) y la fracción 2 (F2) mostraron actividad bactericida. Mediante la técnica de cromatografía de capa fina de alta resolución (por sus siglas en inglés, HPTLC) se lograron identificar fracciones obtenidas del extracto acetónico del axihuitl, observándose un pico perteneciente a la fracción F1 con un Rf aproximado de 0.48 observado a una longitud de onda de 300 nm (Fig. 2) (Rincón-Enríquez *et al.*, 2012). El estudio realizado por Yadav y colaboradores (2011) mostraron la determinación de 3 diterpenos mediante HPTLC con valores de Rf muy cercanos al obtenido por la fracción F1 (Rincón-Enríquez *et al.*, 2012). Rincón-Enríquez *et al.* (2012) proponen a un diterpeno del tipo labdano (ácido 15-hidroxi labdano-7-en-17-oico) como involucrado en la actividad antibacteriana del extracto acetónico y metanólico del axihuitl.

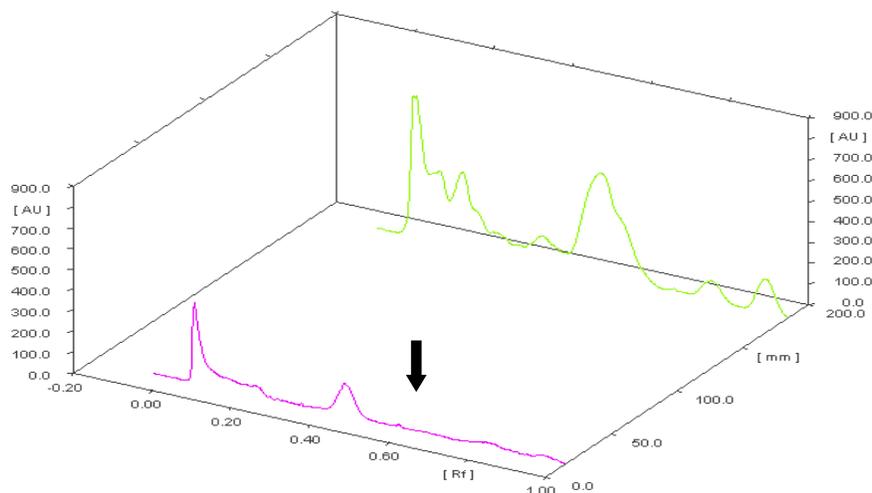


Figura 2. Cromatograma de HPTLC, en color morado se presenta la fracción F1 (se indica con una flecha el pico a un Rf aproximado de 0.48) y en verde el extracto crudo acetónico leído a 300 nm (Rincón *et al.*, 2012).

Uso del axihuitl en la biotecnología para el control de bacterias patógenas de plantas

Se evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos acetónicos de *E. aschembornianum* sobre diez patovares fitopatógenos diferentes de *Pseudomonas syringae*, de las cuales todas mostraron sensibilidad ante el extracto acetónico a una concentración de 80 mg mL⁻¹ (Rincón-Enríquez *et al.*, 2012). El género *Pseudomonas* es uno de los más diversos dentro del grupo de las bacterias; incluye especies que han sido aisladas de todo tipo de ambientes, algunas especies de este género son saprofitas, sin embargo, otras desempeñan un papel importante como patógenas de humanos y plantas (Molina *et al.*, 2013). Las *Pseudomonas* son bacterias Gram negativas que pertenecen a la familia Pseudomonadaceae. Varias son las especies fitopatógenas del género *Pseudomonas* que pertenecen al complejo *P. syringae*, las cuales se encuentran dentro del “Top 10” de bacterias fitopatógenas (Beiki *et al.*, 2016). También se ha reportado el efecto inhibitorio *in vitro* de extractos metanólicos de axihuitl sobre la especie *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (PspH), la cual ocasiona el tizón de halo en el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*); el extracto metanólico de axihuitl presentó una concentración mínima bactericida de 80 mg

mL⁻¹ (Godínez-Vivia, 2012). El extracto metanólico de axihuitl también ha sido evaluado de manera *in vitro* sobre la bacteria *Dickeya dadantii* (antes *Erwinia chrysantemi*), patógeno que provoca la pudrición blanda en varias especies vegetales; degrada órganos suculentos y carnosos como raíces, tubérculos, estacas y hojas gruesas, provoca el pie negro de la planta en climas templados y también es frecuente en cultivos ornamentales protegidos, como en violetas africanas, claveles, crisantemos, filodendro y difembaquia (Prado-Meza, 2012). La concentración mínima bactericida determinada para esta especie bacteriana fue de 160 mg mL⁻¹ (Prado-Meza, 2012).

El extracto acetónico de axihuitl no solo se ha evaluado en condiciones *in vitro*; en el estudio realizado por Zamora-García (2013) se evaluó el extracto acetónico aplicado bajo condiciones de invernadero en bulbos de nardo (*Polianthes tuberosa*) infectados con *Pseudomonas aeruginosa*. Esta especie de *Pseudomonas* ocasiona pudrición del bulbo del nardo, enfermedad caracterizada por la presencia de manchas acuosas y maceración del tejido del bulbo y la cual afecta la producción de flor de nardo (Zamora-García, 2013). Los resultados indicaron que con la aplicación del extracto de axihuitl se logra tener un control sobre el crecimiento de *P. aeruginosa*, se observó una disminución de los síntomas de pudrición del bulbo de nardo en comparación con los bulbos enfermos (Figura 3) (Zamora-García, 2013).

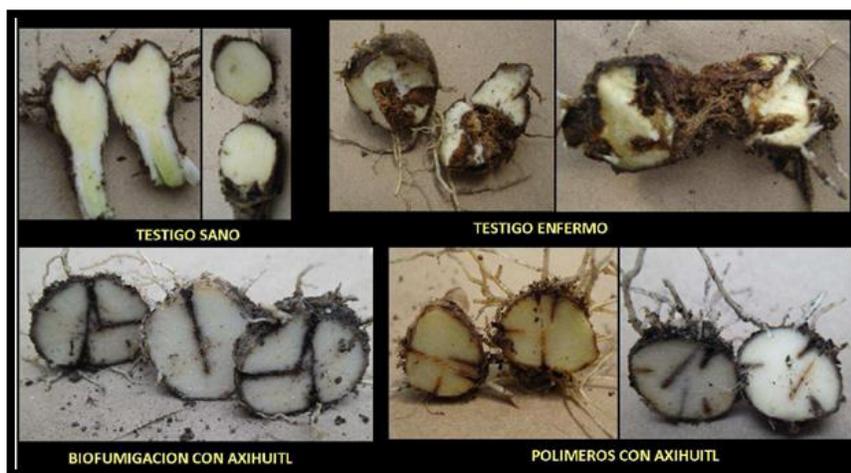


Figura 3. Diferencias en el grado de pudrición en bulbos de nardo (*Polianthes tuberosa*) sin tratamiento (enfermos) y tratados con axihuitl mediante la técnica de biofumigación o con extracto acetónico contenido en un polímero (acrilato de potasio) respecto a los bulbos sanos en los que no se inoculó *Pseudomonas aeruginosa* (Zamora-García, 2013).

Conclusiones

La familia de los isoprenoides representa a un amplio y diverso grupo de compuestos orgánicos; sus numerosas conformaciones estructurales les permiten poseer una vasta cantidad de diferentes actividades biológicas, por lo que no resulta sorprendente el hecho de que, desde las civilizaciones antiguas hasta la actualidad, estos se sigan empleando en numerosos procesos biotecnológicos. Los terpenos tienen un gran potencial en diferentes sectores de la industria; especialmente en la industria agroalimentaria ya que, además de ser un pilar fundamental en el procesamiento de los productos alimenticios (saborizantes, colorantes y odorantes), su aprovechamiento como herramienta biotecnológica en el campo es indudablemente evidente. En el presente capítulo se resaltó el potencial uso de los terpenos derivados de extractos vegetales como agentes de control biológico de patógenos que generan pérdidas cuantiosas en los cultivos vegetales de mayor importancia a nivel mundial; el empleo de estas novedosas biotecnologías podría mitigar los efectos causados por el empleo de agroquímicos que han sido utilizados desmedida y extensamente en las últimas décadas en la producción de alimentos.

Perspectivas

A pesar de que los terpenos son los metabolitos secundarios de las plantas más abundantes, muchos de ellos aún no han sido descubiertos; para el desarrollo de nuevas estrategias biotecnológicas basadas en la actividad de los terpenos. Por lo cual es necesaria la comprensión a nivel molecular de cuáles son los genes involucrados en la síntesis de los terpenos, así como del entendimiento de las rutas metabólicas de su síntesis.

En la actual era agrobiotecnológica, los compuestos isoprenoides parecen ser soluciones prometedoras a los problemas que aquejan a la industria agroalimentaria. Se requiere de una mayor investigación en esta área, para potencializar y explorar aún más las aplicaciones de este grupo de compuestos.

Referencias

- Abraham, D.; Wellington, L.; Kelmer-Bracht, A.; Ishii-Iwamoto, E. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. *J. Chem. Ecol.* 2000, 26, 3, 611-624.
- Alsaadawi, I.; Alrubeaa, J. Allelopathic effects of *Citrus aurantium* L. I. Vegetational Patterning. *J. Chem. Ecol.* 1985, 11, 1515-1525.
- Araya, J. Búsqueda, clonación y expresión de genes de carotenogénesis. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. 2012. 167 pp.
- Basra, A. Plant Growth Regulators in Agriculture and Horticulture: Their role and commercial uses, Haworth Press: London, 2000; pp 268.
- Beiki, F.; Busquets, A.; Gomila, M.; Rahimian, H.; Lalucat, J.; García-Valdés. New *Pseudomonas* spp. Are Pathogenic to *Citrus*. *Plos One.* 2016, 11, 1-16.
- Bhatti, N.; Khan, S.; Khan, A.; Rani, M.; Ahmad, V.; Choudhary, I. Biotransformation of monoterpenoids and their antimicrobial activities. *Phytomedicine.* 2014, 21, 1597-1626.
- Boronat, A.; Rodríguez-Concepción, M. Terpenoid Biosynthesis in Prokaryotes. In *Biotechnology of Isoprenoids*; Shrader, J., Bohlmann, J., Eds.; Springer: Sitzerland, 2015, pp 4-15.
- Breitenbach, S.; Heimbach, U.; Karl-Fritz, L. Field tests on the host range of the larvae of the Western Corn Rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* Leconte 1868, Chrysomelidae, Coleoptera). *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 2005, 57, 241-244.
- Brocks, J.; Logan, G.; Buick, R.; Summons, R.; Archean Molecular Fossils and the Early Rise of Eukaryotes. *Science.* 1999, 285, 1033-1036.
- Caputi, L; Aprea, E. Use of Terpenoids as Natural Flavouring Compounds in Food Industry. *Recent Patents on Food, Nutrition and Agriculture.* 2011, 3, 9-16.
- Cruzado, M.; Cedrón, J. Nutracéuticos, alimentos funcionales y su producción. *Revista de Química PUCP.* 2012, 26, 33-36.
- Chudzik, M.; Korzonek-Szlacheta, I.; Krol, W. Triterpenes as Potentially Cytotoxic Compounds. *Molecules,* 2015, 20, 1610-1625.
- El-Seedi H.; Ohara, T.; Sata, N.; Nishiyama, S. Antimicrobial diterpenoids from *Eupatorium glutinosum* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology.* 2002, 81, 293-296.

- Fernández, R.; Segundo, C.; Arenas, R.; Diamante, S.; Guzmán, A. Determinación de las variedades de *Trichophyton mentagrophytes* en 10 casos de dermatofitosis de Paraguay. *Bioquímica*. 2002, 27, 41-45.
- Gajowik, A.; Dobrynska, M. Lycopene-Antioxidant with radioprotective and anticancer properties. A review. *Rocz Panst Zakl Hig*, 2014, 65, 263-271.
- García-Sánchez, E.; Ramírez-López, C.; del Rio-Torres, R.; Martínez-Pacheco, M. A revision of *Eupatorium* (Compositae: Eupatorieae) from Michoacan, *Phyton*, 2011, 80, 139-146.
- Godínez-Vivia, A. Efecto antimicrobiano *in vitro* de extractos de *Eupatorium aschembornianum* sobre *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. Tesis de pregrado. Universidad de Guadalajara. Jalisco, México, 2012.
- Huang, M.; Sánchez-Moreiras, A.; Abel, C.; Sohrabi, R.; Lee, S.; Gershenzon, J.; Tholl, D. The major volatile organic compound emitted from *Aarabidopsis thaliana* flowers, the sesquiterpene (E)- β -caryophyllene, is a defense against a bacterial pathogen. *New Phytol*. 2012, 193, 997-1008.
- Karlovsky, P. Secondary metabolites in soil ecology; Springer; Berlín, 2008.
- Kitaoka, N.; Lu, X.; Yang, B.; Peters, J. The Application of Synthetic Biology to Elucidation of Plant Mono-, Sesqui-, and Diterpenoid Metabolism. *Molecular Plant*. 2015, 8, 6-16.
- Lange, M. Biosynthesis and Biotechnology of High-Value *p*-Menthane Monoterpenes, Including Menthol, Carvone, and Limonene. In *Biotechnology of Isoprenoids*; Shrader, J., Bohlmann, J., Eds.; Springer: Sitzerland, 2015, pp 63-106.
- Lemos-Bicas, J.; Dionisio, A.; Pastore, G. Bio-oxidation of Terpenes: An Aproach for the Flavor Industry. *Chem. Rev.* 2009, 109, 4518-4531.
- Madaleno, I. A comparative study of medicinal plant cultivation and uses in six Latin American Cities. *Advances in Enviromental Biology*. 2011, 5, 307-314.
- Martino, I.; Mancicni, E.; Almeida, L.; Feo, V. The antigerminative activity of twenty-seven monoterpenes. *Molecules*. 2010, 15, 6630-6637.
- Jones, M.; Shukla, M.; Sherif, S.; Brown, P.; Saxena, K. Growth regulating properties of isoprene and isoprenoid-based essential oils. *Plant Cell Rep*. 2016, 35, 91-102.
- Molina, G.; Pimentel, M., Pastore, G. *Pseudomonas*: a promising biocatalyst for the

- bioconversion of terpenes. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2013, 97, 1851-1864.
- Muller, P.; Riel, R. Tecnologías de América del Norte Para el Procesamiento de Alimentos; IICA: Costa Rica, 1990.
- NTP, National Toxicology Program technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of d-limonene (CAS No.5989-27-5) in F344/N Rats and B6C3F1 mice (Gavage Studies), NTP TR 347, NIH Publication No. 90-2802, 1990.
- Ortuño, M. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Aiyana: España. 2006. 271 pp.
- Pérez-Domínguez, J.; Romero-Rosales, F.; Soltero-Díaz, L.; Álvarez-Zagoya, R. Susceptibilidad en híbridos de maíz a diabrotica (*Diabrotica virgifera zea*) en México. *Agric. Téc. Mex.* 2006, 32, 143-151.
- Pimienta-Barrios, E.; Muñoz-Urías, A.; Ramírez-Hernández, B.; Méndez-Morán, L. Desarrollo Vegetal. Universidad de Guadalajara: Guadalajara, 2008, pp 331.
- Prado-Meza, C. Efecto inhibitorio *in vitro* de extractos de *Eupatorium aschbornianum* sobre *Erwinia chrysanthemi*, agente causal de la pudrición blanda en plantas. Tesis de pregrado. Universidad de Guadalajara. Jalisco, México, 2012.
- Raaman, N. Phytochemical Techniques; New India Publishing Agency: New Delhi, 2006, pp 311.
- Rasmann, S.; Koller, T.; Degenhardt, J.; Hiltbold, I.; Toepfer, S.; Kuhlmann, U.; Gershenzon, J.; Turlings, T. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature.* 2005, 434, 732-737.
- Renault, H.; Jean-Etienne, B.; Björn, H. Cytochrome P450-mediated metabolic engineering: current progress and future challenges. *Current Opinion in Plant Biology.* 2014, 19, 27-34.
- Rincón-Enríquez, G.; Quiñones-Aguilar, E.E.; Alcaraz-López, O.A.; Valdés-Estrada, M.E.; Aldana-Llanos, L.; López-Pérez, L.; Martínez-Hernández, J.L.; Rodríguez-Dominguez, J.M.; Fernández-Flores, O.; Ramírez-Cerda, E.L.; Lugo-Cervantes, E.C.; Qui-Zapata, J.A. Uso del Axihuitl o hierba de agua (*Eupatorium* sp) para el control de enfermedades del nardo (*Polianthes tuberosa*) y cultivos ornamentales en agricultura protegida, Reporte de Final de Investigación, CIATEJ. 2012, pp 33.

- Ríos, M.; Aguilar-Guadarrama, A.; Navarro, V. Two new benzofuranes from *Eupatorium aschbornianum* and their antimicrobial activity. *Planta Med.* 2003, 69, 967-970.
- Robles-Bermúdez, A.; Rodríguez-Maciel, C.; Lagunes-Tejeda, A.; Gómez-Aguilar, R.; Gutiérrez-Espinosa, J.; Díaz-Gómez, O.; Martínez-Cárdenas, L. Giberelinas, citocinas y protector floral en la calidad de la flor de rosal (*Rosa x Hybrida*). *Bioagro.* 2012, 24, 45-46.
- Rodríguez-del-Bosque, L.; Arredondo-Bernal, H. *Teoría y Aplicación de Control Biológico*. México: Sociedad Mexicana de Control Biológico. 2007, pp 233.
- Romero-Cerecero, O.; Román-Ramos, R.; Zampila, A.; Jiménez-Ferrer, J.; Rojas-Bribiesca, G; Tortoriello, J. Clinical trial compare the effectiveness of two concentrations of the *Ageratiana pichinchensis* extract in the topical treatment of onychomycosis. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 126, 74-78.
- Salazar, L.; Salazar, F. Propagación y cultivo del axihuitl en San Juan Tlacotenco, Tepoztlán. 5 de agosto del 2016, de La Jornada Sitio web: <http://hool.inah.gob.mx:1127/jspui/bitstream/123456789/445/1/427-1%20ago.pdf>. 2010.
- Schmidt-Dannert, C.; Biosynthesis of Terpenoid Natural Products in Fungi. In *Biotechnology of Isoprenoids*; Shrader, J., Bohlmann, J., Eds.; Springer: Sitzerland, 2015, pp 19-62.
- Shergis, L.; Di, Y.; Zhang, A.; Vlahos, R.; Helliwell, R.; Ye, J.; Xue, C. Therapeutic potential of *Panax ginseng* and ginsenosides in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Complementary Therapies in Medicine*. 2014, 22, 944-953.
- Shrader, J.; Bohlmann, J.; *Biotechnology of Isoprenoids*; Springer: Switzerland, 2015, pp 470.
- Tholl, D.; Biosynthesis and Biological Functions of Terpenoids in Plants. In *Biotechnology of Isoprenoids*; Shrader, J., Bohlmann, J., Eds.; Springer: Sitzerland, 2015, pp 63-106.
- Viasus-Quintero, G.; Álvarez-Herrera, J.; Alvarado-Sanabria, O. Efecto de la aplicación de Giberelinas y 6-bencilaminopurina en la producción y calidad de fresa (*Fragaria x Ananassa Duch.*) *Bioagro.* 2013, 25, 195-200.
- Yadav D.; Tiwar, N.; Gupta, M. Simultaneous quantification of diterpenoids in *Premna integrifolia* using validated HPTLC method. *Journal Seo Sciences*. 2011, 34, 286-291.

- Zamora-García, W. Efectividad biológica del axihuitl (*Eupatorium aschembornianum*) en el control de la pudrición del nardo (*Polianthes tuberosa*) bajo invernadero. Tesis pregrado. Universidad Politécnica de Francisco I. Madero. Hidalgo, México, 2013.
- Zhang, M.; Wu, M.; Zhang, J.; Irwin, D.; Gu, Y.; Shi, Q. Chemical constituents of plants from genus *Eupatorium*. *Chemistry y Biodiversity*. 2008, 5, 40-55.
- Zhang, Y.; Ruyter-Spira, C.; Bouwmeester, H. Engineering the plant rhizosphere. *Current Opinion in Biotechnology*. 2015, 32, 136-142

4. CAROTENOIDES: OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIONES

Neith Aracely Pacheco López

npacheco@ciatej.mx

Unidad Sureste. CIATEJ, A.C.

Introducción

Los carotenoides son pigmentos naturales sintetizados por plantas, algas y algunas bacterias fotosintéticas, responsables de los colores amarillo, naranja y rojo en diversos frutos y vegetales (1). Cuando los carotenoides se encuentran ligados a proteínas, adquieren colores como el verde, púrpura o azul. Estos compuestos se encuentran en una gran variedad de frutas y vegetales, en productos derivados de animales como (huevos, mantequilla y leche), así como en productos provenientes del mar (salmón, camarón, moluscos etc.) (2). Debido a que el ser humano no es capaz de sintetizar a los carotenoides *de novo*, estos necesitan ser adquiridos a través de la dieta, ya que juegan un papel importante al ser precursores de la vitamina A, además de poseer actividades biológicas como la capacidad antioxidante y actividad en el sistema inmune (1,3).

De acuerdo a los grupos funcionales presentes, estos pigmentos se pueden clasificar en: A) carotenos o hidrocarburos de carotenoides, compuestos solo de carbono e hidrógeno sin presencia de grupos funcionales, tales como el licopeno, α -caroteno y β -caroteno, B) Xantofilas o carotenoides oxigenados, que contienen grupos funcionales epoxi- como en el caso de la violaxantina, neoxantina y fucoxantina, grupos funcionales hidroxil- como la zeaxantina y luteína, grupo funcionales keto- entre los que se encuentran la astaxantina y la cantaxantina, y por último los que presentan los grupos metoxil- como en el caso de la

spiriloxantina (1,2,3). Los carotenoides son tetraterpenoides (C₄₀) biosintetizados por la unión de 2 moléculas difosfato geranylgeranyl (C₂₀), las cuales consisten en 8 unidades de isoprenoides unidas de tal manera que la organización de cada unidad se encuentra de forma reversa al centro de la molécula lo que hace que el grupo metilo no terminal se encuentre en posición 1,5, dejando un área de 2 grupos metilos centrales en una relación de posición 1,6. El rasgo más llamativo y característico de la estructura de los carotenoides es su largo sistema de enlaces simples y dobles alternados que forman la parte central de la molécula, lo que le confiere reactividad química y propiedades de absorción de luz (3). En la naturaleza los carotenoides se encuentran en las plantas en su forma libre o pueden estar esterificados con ácidos grasos, a pesar de que la esterificación no altera las propiedades cromóforas de los compuestos, al cambiar inmediatamente su ambiente puede modificar sus propiedades químicas y biológicas, adicionalmente estos compuestos se presentan en su forma isomérica más estable *trans* (1).

Obtención

El tipo y disponibilidad de los carotenoides en frutas y vegetales pueden determinarse en función de los colores del producto, si se presenta un color amarillo-naranja, el fruto o vegetal generalmente es rico en β -caroteno, α -caroteno, α -criptoxantina y zeinoxantina. El licopeno que es el responsable del color rojo brillante. Así mismo la luteína, el β -caroteno, la violaxantina y neoxantina son las formas predominantes de los carotenoides en los vegetales de hojas verdes. Por lo general, el β -caroteno es el componente dominante con respecto al α -caroteno (1). Se han descrito aproximadamente 750 carotenoides en la naturaleza, de los cuales 50 han sido identificados en la dieta de humanos y más de 20 en tejidos y sangre (2).

El contenido de carotenoides en las plantas y frutos depende de diferentes factores como el genotipo, tiempo de cosecha, método de cultivo, así como de las condiciones climáticas y de procesamiento. En el caso de los frutos, la cáscara, la pulpa y semillas pueden presentar diferentes perfiles y concentraciones. Por ejemplo, la cáscara de la mayoría de los frutos es generalmente más rica en carotenoides que la pulpa. Por otra parte, el método de procesamiento para su extracción o aplicación en un producto alimenticio influye en el

contenido de estos compuestos, ya que los procesos térmicos pueden degradar a los compuestos o producir isómeros (1). Dentro de los ejemplos de fuentes de β -caroteno se incluyen alimentos como las espinacas, la lechuga, los mangos, los melones, algunos pimientos, las calabazas, zanahorias y papas. Como fuente de α -caroteno podemos encontrar un amplio número de frutos y vegetales de color naranja como las zanahorias, papas, calabazas y algunos vegetales de color verde oscuro como el brócoli, los frijoles verdes y la espinaca. El licopeno se encuentra principalmente en tomates, melón y guayaba. La β -criptoxantina puede ser encontrada en la mandarina, la naranja, la papaya, el maíz, los chicharos y la yema de huevo (4). Existen estudios de la presencia de carotenoides en frutos exóticos como el marañón, que si bien es común del noreste de Brasil es un fruto que se consigue difícilmente en otras regiones, se encuentra en colores amarillo, naranja y rojo, siendo mayormente comercializados los amarillos y rojos. Diversos estudios se han desarrollado a su alrededor debido a la importancia de sus nutrientes que pueden variar dependiendo de factores climáticos y de región. Assuncao y Mercadante (2003), evaluaron diferentes variedades del pseudo fruto de marañón colectados en Brasil, quienes observaron la presencia de α -caroteno entre 17 y 68 $\mu\text{g}/100\text{g}$, criptoxantina (8-64 $\mu\text{g}/100\text{g}$), β -caroteno (6-52 $\mu\text{g}/100\text{g}$) y 9-cis y 13-cis- α -caroteno (3-16 $\mu\text{g}/100\text{g}$). En general los niveles de carotenos encontrados fueron mayores en los pseudo frutos rojos en comparación de los amarillos (5).

En trabajos realizados por el CIATEJ Unidad sureste se han determinado las concentraciones de carotenoides totales en el pseudo fruto del marañón del estado de Campeche, en donde se identificó en el fruto completo alrededor de $211.9 \pm 13.5 \mu\text{g}/100 \text{ g}$, en la cáscara $939.7 \pm 46.9 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ y en la pulpa de $337.7 \pm 8.5 \mu\text{g}/100 \text{ g}$. El contenido total de carotenoides fue ligeramente mayor al reportado en la literatura (98 – 204 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$), además de presentar contenido de β -caroteno 2 veces mayor al reportado para el mismo. El valor de carotenoides totales obtenidos en la pulpa del marañón fue mayor al reportado en otros frutos como: uvas (110 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$), y similar al encontrado en plátano (350 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$), cerezas (330 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$) y papaya (233 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$) lo que lo hace una fuente importante de estos compuestos (6). En la figura 1 se muestra un espectro de los carotenoides obtenidos a partir

de la pulpa del pseudo fruto del marañón, donde se puede observar 3 picos bien definidos correspondientes a β -criptoxantina, α -caroteno y β -caroteno, picos 3, 4, 5, los picos 1 y 2 no fueron posibles de separar debido a su proximidad y rápida degradación, pero fueron identificados como violaxantina y luteína, este perfil fue muy similar al encontrado en la cáscara y fruto completo (6).

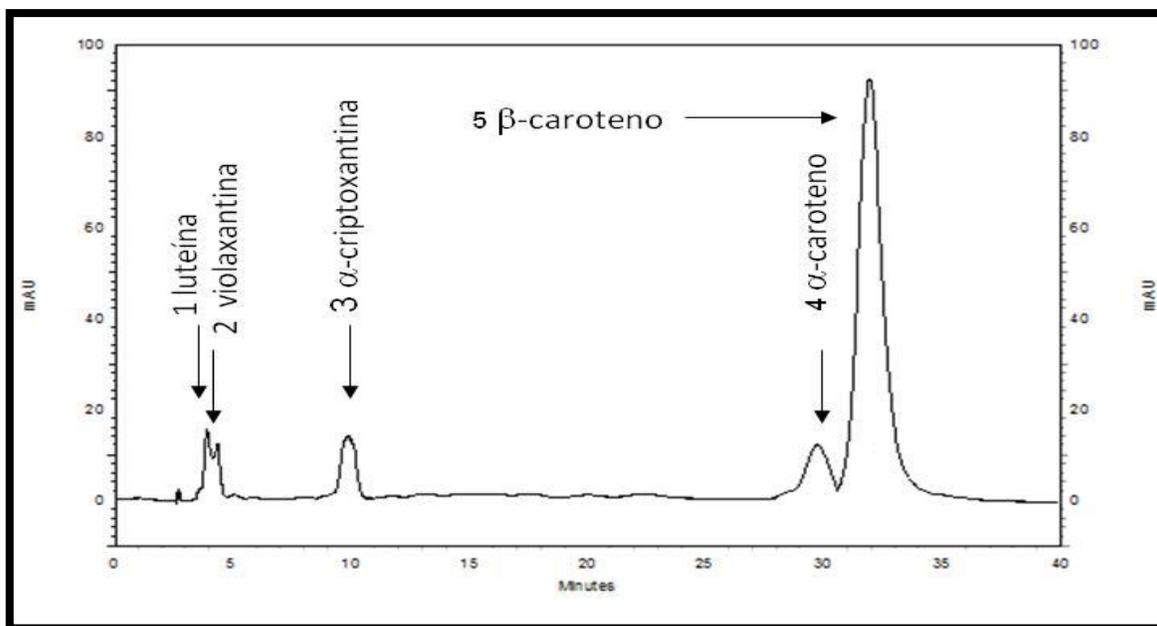


Figura. 1. Cromatograma obtenido mediante HPLC de carotenoides del pseudo fruto de marañón.

En el reino animal los carotenoides pueden ser encontrados en las plumas de algunas aves, en el pescado, crustáceos e insectos. Sin embargo, al no ser sintetizados por ellos, su única fuente es la alimentación (4). Existen trabajos en los que se reporta la extracción de astaxantina en desechos de crustáceos mediante extracción con solventes posterior a fermentación ácido láctica de los desechos. Dentro de los resultados observados, se presenta un mayor rendimiento de recuperación de astaxantina después del proceso de fermentación, ya que, el ácido láctico generado y las proteínas presentes en el sistema facilitan la disponibilidad del compuesto y como consecuencia una mayor recuperación. En el estudio reportado por Pacheco *et al.*, (2009) se analizaron diferentes temperaturas de fermentación ácido láctica y los tipos de isómeros de astaxantina obtenidos, en donde se reportó que a

temperaturas bajas se minimizó el grado de isomeración, presentando mayor concentración del isómero *trans* e incrementando el isómero *cis* conforme la temperatura aumentó presentando concentraciones de alrededor de 300µg de astaxantina total /g de ensilado. La importancia del estudio de los diferentes isómeros se enfoca a la aplicación, ya que se ha reportado mayor capacidad antioxidante con el isómero *cis* además de ser más preferido para aplicaciones en el área farmacéutica y cosmetológica. Adicionalmente algunos autores reportan que el isómero *trans* es preferido como alimento para el salmón ya que incrementa su digestibilidad y pigmentación (7).

Caracterización

Debido a que una diversa variedad de productos alimenticios contiene carotenoides y a concentraciones diferentes, los métodos de extracción son variados sin tener un método estándar para la extracción en laboratorios. Sin embargo, la mayoría de los métodos siguen una metodología en común que involucra la liberación de los compuestos deseados a partir de las matrices específicas mediante el rompimiento de los tejidos, seguido por la remoción de los componentes no deseados mediante una extracción líquido-líquido o líquido-sólido (4).

Para los carotenoides, el procedimiento más común es la aplicación de técnicas de un paso mediante el uso de solventes orgánicos que facilita su recuperación a partir de las matrices alimenticias. La extracción en fase sólida (SPE) ha sido raramente reportada en carotenoides ya que sólo los cartuchos de sílica y grupos diol tienen buena retención para la luteína (4). Diversos solventes orgánicos han sido utilizados en el análisis de carotenoides, sin embargo, la selección del solvente apropiado no es siempre fácil, ya que la diferencia en polaridades de estos compuestos y la estructura de las matrices y sus componentes juegan un papel muy importante. Por lo general, los solventes no polares como el hexano son una buena opción para los compuestos no polares (carotenos) o los carotenoides esterificados, mientras que los solventes polares como el etanol y la acetona son más apropiados para los carotenoides polares como las xantofilas. Adicionalmente, la susceptibilidad de estos compuestos a la oxidación es considerada para el desarrollo de un método de extracción, ya

que las moléculas en las matrices alimenticias son muy estables, sin embargo, en solución son sensibles a la luz, al calor, al ácido y a la exposición del oxígeno (4). Dentro de las técnicas novedosas en la extracción de carotenoides se encuentran la extracción mediante fluidos supercríticos, extracción con líquidos presurizados, la extracción acelerada con solventes, extracción mediante sonicación y extracción asistida por microondas ya que se consideran como técnicas amigables con el medio ambiente (4).

En cuanto a la identificación y cuantificación de carotenoides existen diversas técnicas reportadas que incluyen técnicas colorimétricas, espectrofotométricas, fluorométricas, cromatografía en papel, capa fina y de alta presión, electroforesis capilar, resonancia magnética y espectrometría de masas (3). Dentro de las técnicas clásicas para la separación de carotenoides se encuentra la cromatografía en placa fina (por sus siglas en inglés, TLC), la cual tiene como ventaja ser el método más rápido, simple y de bajo costo.

Sin embargo, la mayor desventaja de este método es la baja resolución, además de que se requieren de altas concentraciones de los compuestos y diferentes relaciones de solventes para obtener una mejor separación y estandarización de los métodos (3). Rutinariamente, la cromatografía de líquidos de alta presión (por sus siglas en inglés, HPLC) ha sido la técnica más utilizada para la identificación y cuantificación de estos compuestos en muestras biológicas y de alimentos. Permite identificar los isómeros *cis* y *trans*, basándose en las propiedades químicas y físicas de los carotenoides. Se han usado diversos detectores de los cuales el principal ha sido UV-vis o arreglo de diodos (DAD). Dentro de los sistemas de HPLC utilizados, se han aplicado fases normales y reversas, en sistemas isocráticos y con gradiente, sin embargo, la mayoría de los reportes encontrados en la literatura utilizan fase reversa y columnas C18 y C30 (3). Avances en la cromatografía líquida mediante el uso de sistemas Ultra (UPLC) han sido de gran interés, así como el acople de detectores de masas a estos sistemas como UPLC-MS que permiten una mejor separación a menores tiempos (3).

Otra técnica prometedora es el uso de cromatografía de gases acoplada a masas, ya que permite la identificación de compuestos volátiles formados a partir de la degradación

oxidativa enzimática y no enzimáticas de los carotenoides, sin embargo, hay muy pocos reportes al respecto (3).

En la tabla 1 se resumen las principales metodologías y columnas usadas para la separación, identificación y cuantificación de carotenoides mediante HPLC.

Tabla 1. Metodologías usadas para la determinación de carotenoides en alimentos.

Tipo de columna	Tamaño de partícula	Condiciones cromatografías	Carotenoides determinados	Referencia
Monomérica C18	5µm	Solvente A: metanol Solvente B: MTBE	Astaxantina, luteína, zeaxantina, cantaxantina, b-criptoxantina, echinenona, a-caroteno, gama-caroteno, licopeno y trans y 9-cis,13-cis y 15-cis caroteno	(3)
Polimérica C18		Solvente C: agua		
Polimérica C30		Gradiente 81%A, 15%B y 4%C		
Monomérica y Polimérica C18	5µm	Solvente A: metanol/agua (92:8, V/V) con 0.05% de acetato de amonio Solvente B: MTBE	Luteína, eaxantina y a- y b-caroteno	(3)
Monomérica y polimérica C30		Gradiente 83%A a 59% A en 29min.		
Monomérica C30	6µm	Solvente A: acetona, solvente B: agua. Isocrático 85%A y 15% B por 30 min flujo de 1 mL/min	Trans-luteína y 13-cis,9-cis, y bi-cis luteína	(3)
Polimérica C18	5µm	Para xantofilas, Solvente A: metanol, isocrático 10min flujo 1.5 mL/min. Para carotenos: solvente A: metanol y solvente B:etil acetato isocrático 90%A y 10% B por 20min a 1.5mL/min	Luteína, zeaxantina α- y β-caroteno y licopeno	(3)
Vydac C18	5µm	Solvente A:100% metanol flujo 1 mL/min	Violaxantina, luteína, zeaxantina, zeinoxantina, β-criptoxantina cis,- β-criptoxantina, a-caroteno, β-caroteno, fitoflueno, 9-cis-β-caroteno, 13-cis-β-caroteno	(5)

Aplicaciones

Los carotenoides han llamado mucho la atención debido a sus diversas funciones y han sido considerados compuestos bioactivos de gran importancia (2). En las plantas sirven como reguladores y pigmentos relacionados a la fotosíntesis, como fotoprotectores, así como precursores del ácido abscísico (ABA). En humanos y animales, son precursores de vitaminas A y de compuestos retinoides requeridos para la morfogénesis, también previenen y protegen contra una serie de problemas de salud como cáncer y enfermedades del corazón. Existen estudios epidemiológicos que han demostrado que el consumo y las dietas ricas en carotenoides están asociadas con una baja incidencia de cáncer, enfermedades cardiovasculares y formación de cataratas (1). La deficiencia de carotenoides se ha asociado a signos clínicos de problemas de conjuntivitis y problemas de la córnea, así como la deficiencia en vitamina A trae consigo debilidades de la visión. También han sido reportados en la prevención de enfermedades crónicas y degenerativas con el Alzheimer (4) Las propiedades y funciones naturales de los carotenoides están determinados por su estructura molecular. El α - y β -caroteno son conocidos por ser precursores de la vitamina A. El licopeno ha ganado especial atención ya que ha sido correlacionado a la reducción de cáncer en próstata. La luteína y la zeaxantina son considerados como pigmentos maculares localizados en las regiones centrales de la retina, que funciona como filtros de alta energía para la luz azul, así como compuestos antioxidantes que se relacionan con la reducción de daño fototóxico en los ojos. La astaxantina, la fucoxantina y la siphonaxantina son otros carotenoides marinos prometedores asociados a beneficios de la salud ya que funcionan como moléculas bioactivas contra la diabetes y obesidad (2). También existen estudios que han resaltado la habilidad de los carotenoides para modular la expresión de genes (4).

Conclusión

Por lo anterior, los carotenoides han sido aplicados en la industria alimentaria, cosmetológica y farmacéutica, han sido utilizados como suplementos alimenticios en la industria alimentaria, en farmacia como compuestos activos, colorantes y fragancias, lo que los ha llevado a que sean estudiados ampliamente además de que se busquen técnicas de

conservación de los mismos tales como la encapsulación para mantener sus características biofuncionales en diversos sistemas.

Referencias

1. Kumar, S. R.; Hariram, N. S.; Won, P. S. *Food Res Int.* 2015. 76:735-750.
2. Arathi, B. P.; Sowmya, P. R-R.; Vijay, K.; Baskaran, V.; Lakshminarayana. *Trens Food Sci Tech* 2015. 45:105-117.
3. Rivera, S.M.; Canela-Garayoa, R. *J. chromatograph A.* 2012. 1224:1-104
4. Amorim-Carrilho, K.T., Cepeda, A., Fente, C., and Regal, P. *Trend Anal Chem* 2014. 56:49-73.
5. Assuncao, R.B. and Mercadante. *Food Chem.* 2003. 81:495-502.
6. Pacheco Neith e Ingrid Rodríguez. Cartel en II congreso internacional de investigación e innovación en ingeniería, ciencia y tecnología de alimentos IICTA. 2014.
7. Pacheco, N.; Gárnica-González, M.; Ramirez-Hernandez, J.; Flores-Albino, B.; Gimeno, M.; Bárzana, E.; Shirai, K. *Bioresour Technol.* 2009. 100: 2849-2854.

5.FENOLES Y POLIFENOLES

Teresa del Rosario Ayora Talavera

Elida Gastélum Martínez

tayora@ciatej.mx

Unidad Sureste. CIATEJ, A.C.

Introducción

Los fenoles y polifenoles se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal y son los metabolitos secundarios más abundantes en la naturaleza. Se han identificado más 8000 (Ignat *et al.* 2011, Pandey y Rizvi, 2009) y se encuentran en frutas y verduras, así como en las hojas por lo que forman parte importante de la alimentación del ser humano; son los responsables de los sabores astringentes y amargos, y tienen gran importancia debido a sus propiedades antibacterianas, anticancerígenas y antiinflamatorias (Shahidi y Ambigaipalan, 2015), así como protección contra el cáncer, la diabetes, la hipertensión asma, envejecimiento, enfermedades cardiovasculares, etc (Pandey y Rizvi, 2009). En las plantas son responsables de la coloración de las flores y participan en los mecanismos de defensa contra los rayos ultravioleta (UV), el ataque de patógenos como bacterias, hongos y virus, así como a los daños físicos, químicos y mecánicos a los que se ven expuestas; funcionan como antibióticos, pesticidas naturales, son los compuestos de la señal para el establecimiento de la simbiosis con rizobios y atrayentes para los polinizadores; son los materiales aislantes para hacer las paredes celulares impermeables al gas y agua, así como la estructura para dar estabilidad a las plantas (Shahidi y Naczka, 2004)

Estas moléculas se derivan del metabolismo del ácido shikímico y/o de los policétidos y terpenos; están formados al menos por un anillo aromático con uno o varios grupos funcionales hidroxilo que les confieren la capacidad de aceptar radicales libres de carga negativa convirtiéndolos en excelentes antioxidantes y antirradicales. Generalmente se encuentran como ésteres o glucosilados y no de forma libre (Vermerris y Nicholson 2006).

Desde el punto de vista estructural se clasifican en fenoles simples, ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, cumarinas, ligninas y taninos por mencionar algunos (Figura 1).

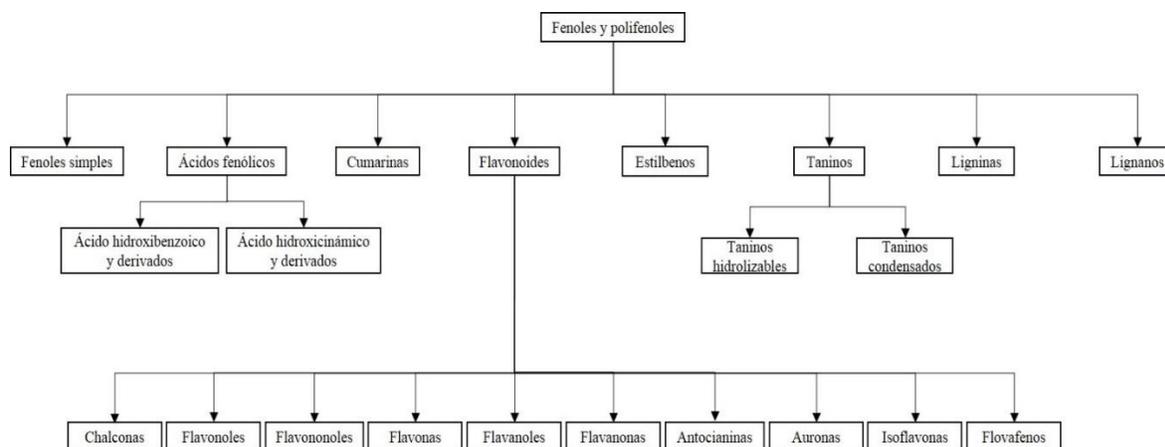


Figura 1. Clasificación de los fenoles y polifenoles. Adaptado de Shahidi y Ambigaipalan, 2015.

Fenoles simples

Dentro de este grupo de fenoles está el resorcinol, compuesto usado como antiséptico y desinfectante principalmente en el tratamiento de afecciones de la piel como acné, psoriasis, hidradenitis supurativa y eczema (Boer y Jemec 2009). Se ha reportado en aceite de argán el cual es utilizado en alimentos y en la medicina tradicional de Marruecos (Charrouf y Guillaume 2007).

1. Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos (Figura 2) constituyen casi un tercio de los fenoles de nuestra dieta y forman parte de las preparaciones medicinales que consumimos en forma de infusiones o tizanas (Ignat *et al.* 2011). En las plantas se encuentran en forma libre o unidos a diferentes compuestos a través de uniones éster, éter o acetal (Zadernowski *et al.* 2009). Varios de los efectos en la salud están conferidos a sus propiedades antioxidantes, antimutagénicas, anticarcinogénicas, antiinflamatorias, antimicrobianas, etc (Birosova *et al.* 2005, Gomes *et al.* 2003, Merkl *et al.* 2010, Piazzon *et al.* 2012). Los ácidos fenólicos están constituidos por dos subgrupos, el ácido hidroxibenzoico y derivados, y el ácido hidroxicinámico y derivados. Los ácidos benzoicos incluyen a los ácidos p-hidroxibenzoico,

protocatecuico, vainillínico, siríngico y gálico. Dentro los ácidos hidroxicinámicos están los ácidos p-cumárico, cafeíco, ferúlico y sináptico. Su mecanismo de acción como antioxidantes se sugiere que es a través de atrapamiento de los radicales libres vía la donación de un átomo de hidrógeno (Shahidi y Ambigaipalan, 2015). Las capas externas de cereales como el trigo, maíz, arroz y cebada son ricos en ácidos fenólicos, en el café abunda el ácido clorogénico (Shahidi y Naczk, 2004).

2. Cumarinas

Las cumarinas (Figura 2) están ampliamente distribuidas en las plantas y juegan un papel muy importante en la resistencia a enfermedades y pesticidas, así como la tolerancia a la luz UV (Vermerris y Nicholson, 2006).

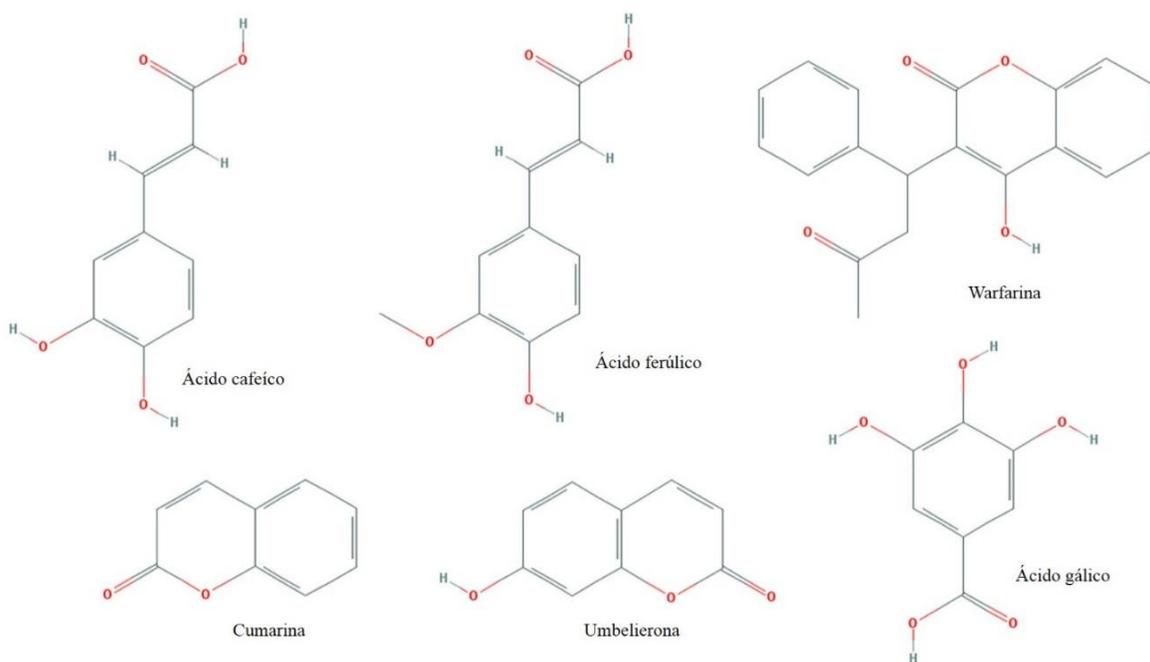


Figura 2. Estructura química de ejemplos de ácidos fenólicos y cumarinas.

Dentro de este grupo están la umbeliferona, cumarina y dicumarol. Este último muy importante ya que evita la coagulación de la sangre, utilizándose la molécula sintética en el tratamiento de la trombosis. La warfarina, potente rodenticida también se encuentra dentro de este grupo (Dewick, 2002). La isocumarina bergenina, posee actividad antiviral sobre el

virus HIV (Piacente *et al.* 1996), se encuentra presente en las hojas de *Ardisia japonica*, planta medicinal utilizada en varias partes del mundo.

3. Flavonoides

Se han identificado más de 4000 flavonoides (Figura 3) y sigue en aumento este número (Ignat *et al.* 2011). Este grupo de polifenoles es el más extenso y diverso de los metabolitos secundarios y son el resultado de la ruta del shikimato y del acetato. Se clasifican de acuerdo a su estructura en chalconas, flavonoles, flavononoles, flavonas, flavanoles, flavanonas, antocianinas, auronas, isoflavonas y flovafenos. La actividad bioquímica de cada uno de ellos y sus metabolitos derivados depende de esta estructura y de la orientación de los grupos funcionales que forman parte de ellos. En general son excelentes antioxidantes debido a tres factores: 1) poder quelante de los metales el cual es muy fuerte dependiendo del arreglo de los grupos hidroxilos y carbonilos alrededor de la molécula; 2) la presencia de sustituyentes donadores de hidrógeno o electrones capaces de reducir los radicales libres; 3) la habilidad de los flavonoides de deslocalizar electrones desapareados para la formación de radicales fenoxilos estables (Shahidi y Ambigaipalan 2015).

Las chalconas e dihidrochalconas están compuestas por dos anillos aromáticos unidos por tres carbonos. Tienen actividad biológica la cual incluye la anticancerígena, antiinflamatoria, antioxidante, antimicrobiana, sobre el virus del SIDA, contra la malaria y antialérgica (Karthikeyan *et al.* 2015, Singh *et al.* 2014). Se conocen como los pigmentos amarillos de las flores y están ampliamente distribuidas en varias partes de las plantas, raíces, rizomas, yemas, hojas, flores y semillas. Se han reportado en especies medicinales de los géneros *Angelica*, *Sophora*, *Glycyrrhiza*, *Humulus*, *Scutellaria*, *Parartocarpus*, *Ficus*, *Dorstenia*, *Morus*, *Artocarpus*, por mencionar algunas; en frutas como los cítricos y manzanas, en vegetales como tomates, chalotes, brotes de frijoles y papas, y en especias como el regaliz (Detsi *et al.* 2009, Orlikova *et al.* 2011, Zhang *et al.* 2013).

Dentro del grupo de los flavonoles se encuentran la quercetina, isoquercetina, el kaemferol, la miricetina, que son algunos de los polifenoles más reconocidos y estudiados por sus propiedades anticancerígenas (Mouat *et al.* 2005), antioxidantes (Gabrielska *et al.* 2005, Gordon y Roeding-Penman 1998), antivirales (Kim *et al.* 2010, Uchide y Toyoda 2011)

y antimicrobianas y por ser los flavonoides más consumidos en la dieta (Bouktaib *et al.* 2002). Su presencia se reporta en plantas medicinales como *Acalypha indica*, *Azadirachta indica*, *Betula pendula*, *Cannabis sativa*, *Moringa oleifera*; en frutas y verduras como cebollas, frutillas, espinacas, coliflores, uva, brócoli, aceitunas, manzanas, tomate, cítricos: y en especias como la pimienta roja (Kumar y Pandey 2013, Shahidi y Ambigaipalan 2015, Sultana y Anwar 2008).

Otro grupo importante dentro de los flavonoides son los flavanoles, que al igual que los flavonoles, son de los más estudiados. Los más representativos son la catequina, epicatequina, gallato, galocatequina, epigallocatequina. Sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antivirales y beneficio en problemas cardiovasculares, son de las más reconocidas (Kumar y Pandey 2013, Mabe *et al.* 1999, Pedrielli *et al.* 2001, Shahidi y Ambigaipalan 2015, Song *et al.* 2005). Abundan en el árbol del té (*Camellia sinensis*) y sus diferentes presentaciones: verde, negro, blanco y el oolong (Shahidi y Naczk 2004, Song *et al.* 2005), así como en el chocolate (Lamuela-Raventós *et al.* 2005).

Las flavononas se encuentran principalmente en las frutas cítricas (Shahidi y Ambigaipalan 2015, Shahidi y Naczk 2004), ejemplo de estas son naringenina, naringina, hesperidina y eriodictiol. Son potentes antioxidantes, evitan la inflamación y tienen efecto neuroprotector (Hajimahmoodi *et al.* 2014, Hwang y Yen 2008, Parhiz *et al.* 2015, Wilmsen *et al.* 2005).

Las antocianinas son pigmentos solubles en agua que dependiendo del pH pueden ser rojas, moradas o azules. Se encuentran en las flores y frutas con estos colores, como las fresas, moras azules, zarzamoras, cerezas, arándanos, frambuesas, grosellas, las uvas, las petunias, *Hibiscus* spp, etc. Poseen actividad antioxidante, antirradical, anticancerígena, y se utilizan para tratar la hipertensión y problemas cardiovasculares (Hou *et al.* 2005, Kong *et al.* 2003, Lila 2004). Las más abundantes son la pelargonina, cianina y delfina, sin embargo, también están presentes, pero en menor cantidad la peonina, malvina y petunina. Sus agliconas o antocianidinas son la pelargonidina, cianidina, delfinidina, peonidina, malvidina y petunidina.

Las isoflavonas también llamados fitoestrógenos, se encuentran principalmente en la soya y en el trébol rojo. Los más importantes son la genisteína, daidzina, daidzeina y se reporta que tienen actividad estrogénica por lo que se utiliza para aliviar los síntomas de la menopausia. Varios estudios reportan que tienen beneficios como quimioprotectores en el tratamiento de cáncer de seno y próstata, así como en enfermedades cardiovasculares y osteoporosis (Vitale *et al.* 2013).

De los flavonoides menos abundantes están las flavonas, las auronas y los flovafenos. Las flavonas como la apigenina, rutina y crisina, se encuentran en el apio, la albaca, la espinaca y la piel de algunas frutas cítricas, y esta reportado que tienen actividad antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena principalmente contra leucemia (Budhrja *et al.* 2012, Chua 2013, Funakoshi-Tago *et al.* 2011). Las auronas son pigmentos amarillos que se encuentran en las flores y los flovafenos son pigmentos azules que se encuentran en los granos del maíz (Ignat *et al.* 2011, Shahidi y Naczki 2004, Winkel-Shirley 2001).

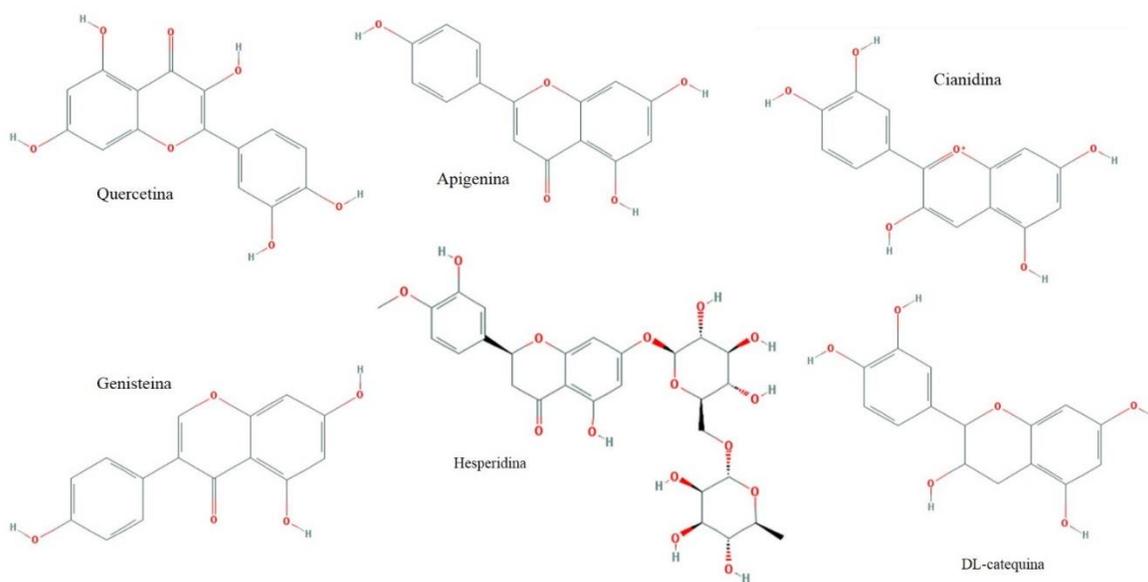


Figura 3. Estructura química de flavonoides.

4. *Taninos*

Los taninos (Figura 4) se encuentran en todas las plantas y en sus diferentes órganos. Este grupo de flavonoides está formado por dos subgrupos, los taninos hidrolizables y los taninos condensados o proantocianidinas. Los taninos hidrolizables son oligómeros y polímeros del ácido gálico glucosilado, mientras que los condensados son de los flavanoles como la catequina, epicatequina, etc. Estos polifenoles son los causantes del sabor amargo y astringente del vino. Se les considera antinutricionales ya que por sus grupos fenilo se unen fuertemente a los –NH de los péptidos y proteínas impidiendo su hidrólisis y digestión en el estómago (Shahidi y Ambigaipalan 2015).

Los reportes de la actividad biológica de estos polifenoles mencionan que afectan el crecimiento bacteriano, tienen efecto insecticida, son atrapadores de radicales libres, así como antioxidantes y cicatrizantes, también inhiben los efectos citopáticos debidos a la presencia del virus del HIV, tienen efecto sobre la proteasa NS3/4A del virus de la hepatitis (Ajala *et al.* 2014, Bueno *et al.* 2015, Figueroa-Espinoza *et al.* 2015, Vargas-Magaña *et al.* 2014). A los taninos los encontramos en frutillas, chocolate, vinos, cerveza, legumbres, vegetales de hoja y té.

5. *Lignanós y ligninas*

Estos polifenoles provienen de la unión de fenilpropanoides como el p-coumaril alcohol, coniferol alcohol y sinapyl alcohol. En el caso de los lignanos, son dímeros y existe una amplia diversidad de estructuras de estos compuestos (Cunha *et al.* 2012). Se encuentran en las plantas en tallos leñosos, granos como el trigo, avena y cebada, leguminosas como frijoles, lentejas y soya, y vegetales como ajos, espárragos, brócoli y zanahorias. Recientemente, han adquirido importancia debido a su posible aplicación en los campos de la farmacia y la nutrición, pues poseen varias propiedades biológicas. Entre estas destacan la actividad antitrombótica, antioxidante, antimicrobiana, antiviral, anticancerígena e inmunosupresora (Cunha *et al.* 2012, Gaafar *et al.* 2013, Shi *et al.* 2015, Yousefzadi *et al.* 2010).

La lignina es el segundo material vegetal más abundante después de la celulosa, y al igual que ésta, su función es estructural ya que da rigidez a las paredes celulares y protege contra el estrés químico, biológico y mecánico. Las características estructurales dependen de una serie de factores que incluyen el origen botánico, las condiciones ambientales de crecimiento y las condiciones de extracción. Reportes indican que tienen actividad antioxidante y antimicrobiana (Dizhbite *et al.* 2013, Kaur y Uppal 2015).

6. Estilbenos

Los estilbenos (Figura 4) son polifenoles que participan en la defensa de las plantas como fitoalexinas, pues poseen actividades contra fitopatógenos, el ozono y el estrés por UV; no son tan abundantes como los flavonoides, lignanos o los ácidos fenólicos. El resveratrol es el principal estilbeno y precursor de estos compuestos, se encuentra en la piel de las uvas, vino rojo, cacahuates, arándanos dulces y agrios, así como en el sorgo (Chong *et al.* 2009).

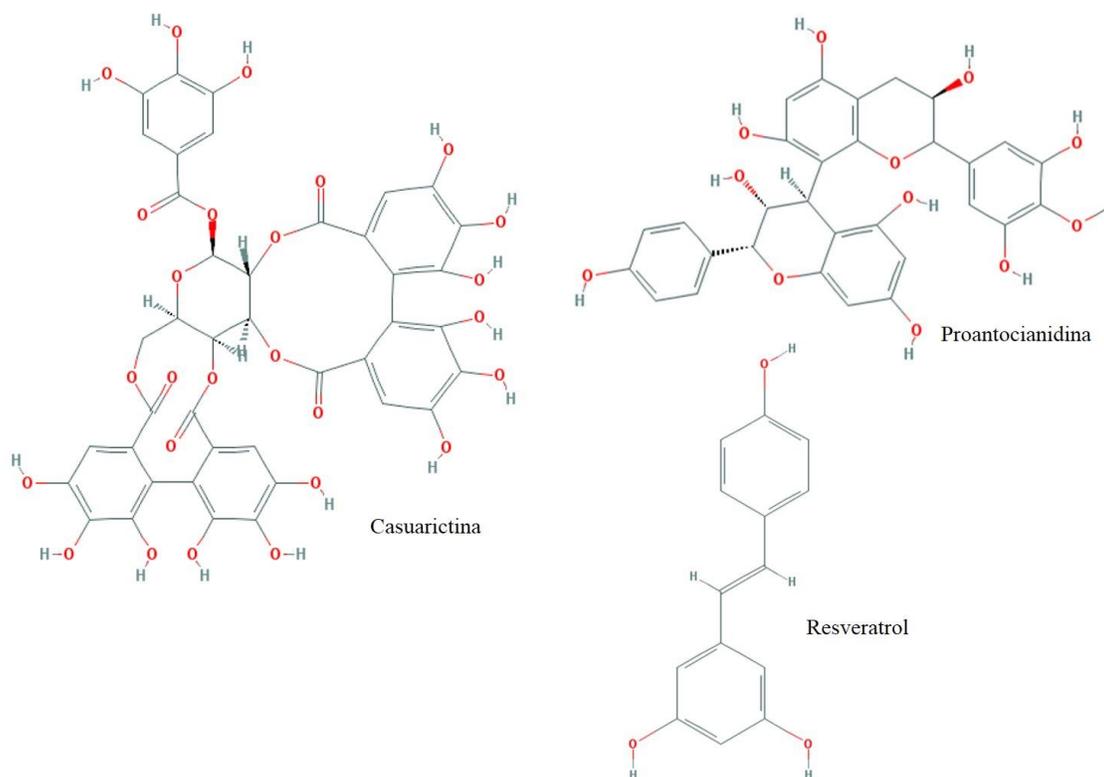


Figura 4. Estructuras químicas de taninos y estilbenos.

En el ser humano el consumo de estilbenos esta reportado que son importantes agentes protectores contra el cáncer, son capaces de inhibir eventos celulares asociados con la carcinogénesis, incluyendo la iniciación, la promoción y la progresión de tumores (Hagiwara *et al.* 2012, Jang *et al.* 1997). El trans-resveratrol y su glucósido tienen propiedades cardioprotectivas y pueden inhibir la oxidación de las LDL y la etapa temprana de la aterosclerosis (Soleas *et al.* 1997). También tienen actividad antimicrobiana, como el piceido-(1-6)- β -D-glucopiranosido que inhibe el crecimiento de *Plasmodium berghei* (Park *et al.* 2008).

Bibliografía

- Ajala OS, Jukov A, Ma CH (2014). Hepatitis C virus inhibitory hydrolysable tannins from the fruits of *Terminalia chebula*. *Fitoterapia*. 99: 117-123.
- Bueno FG, Panizzon GP, Souza de Leite Mello EV, Lechtenberg M, Petereit F, Palazzo de Mello JC, Hensel A (2014). Hydrolyzable tannins from hydroalcoholic extract from *Poincianella pluviosa* stem bark and its wound-healing properties: Phytochemical investigations and influence on in vitro cell physiology of human keratinocytes and dermal fibroblasts. *Futoterapia*. 99: 252-260.
- Birosová L, Mikulášová M, Vaverkova S (2005). *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 149: 489-491.
- Boer J, Jemec GBE (2009). Resorcinol peels as a possible self-treatment of painful nodules in hidradenitis suppurativa. *Clin. Exp. Dermatol.* 35: 36-40.
- Bouktaib, M *et al.* (2002) Regio- and stereoselective synthesis of the major metabolite of quercetin, quercetin-3-O- β -D-glucuronide. *Tetrahedron Lett.* 43: 6263-6266.
- Budhreja A, Gao N, Zhang Z, Son YO, Cheng S, Wang X, Ding S, Hitron A, Chen G, Luo J, Shi X (2012). Apigenin induces apoptosis in human leukemia cells and exhibits anti-leukemic activity in vivo. *Mol Cancer Therap.* 11: 132-142.
- Charrouf Z, Guillaume D (2007). Phenoles and polyphenols from *Argania spinose*. *Ame J Food Technol.* 2 (7): 679-683.
- Chua LS (2013). A review on plant-based rutin extraction methods and its pharmacological activities. *J Ethnopharmacol* 150: 805-817.

- Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN (2006). Phenols, polyphenols and tannins: An overview. En: Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Editores: Crozier A, Clifford MN, Ashihara H. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK. P. 1-24.
- Cunha WR, Andrade e Silva ML, Sola Veneziani RC, Ambrósio SR, Bastos JK (2012). Lignans: Chemical and Biological Properties, Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health, Dr Venketeshwer Rao (Ed.), ISBN: 978-953-51-0296-0, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/phytochemicals-a-global-perspective-of-their-role-in-nutrition-and-health/lignans-chemical-and-biological-properties>
- Detsi A, Majdalani M, Kontogiorgis CA, Hadjipavlou-Litina D, Kefalas P (2009). Natural and synthetic 20-hydroxy-chalcones and aurones: Synthesis, characterization and evaluation of the antioxidant and soybean lipoxygenase inhibitory activity. *Bioorg Med Chem.* 17: 8073-8085.
- Dewick PM (2002). Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach. 2nd ed. John Wiley y Sons, Ltd, West Sussex, England. Pp 515.
- Dizhbite T, Ponomarenko J, Andersone A, Dobele G, Lauberts M, Krasilnikova J, Mironova-Ulmane N, Telysheva G (2012). Role of paramagnetic polyconjugated clusters in lignin antioxidant activity (in vitro). International Conference on Functional Materials and Nanotechnologies. IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering. doi:10.1088/1757-899X/38/1/012033
- Figueroa-Espinoza MC, Zafimahova A, Maldonado Alvarado OG, Dubreucq E, Poncet-Legrand C (2015). Grape seed and apple tannins: Emulsifying and antioxidant properties. *Food Chem.* 178: 38-44.
- Funakoshi-Tago M, Nakamura K, Tago K, Mashino T, Kasahara T (2011). Anti-inflammatory activity of structurally related flavonoids, apigenin, luteolin and fisetin. *Int Immunopharmacol.* 11: 1150-1159.
- Gaafar AA, Salama ZA, Askar MS, El-Hariri D, Bakry BA (2013). In vitro antioxidant and antimicrobial activities of lignan flax seed extract (*Linum usitatissimum*, L). *Int J Pharm Sci Rev Res.* 23: 291-297.

- Gabrielska J, Soczynska-Kordala M, Przystalski S (2005). Antioxidative effect of kaempferol and its equimolar mixture with phenyltin compounds on UV-irradiated liposome membranes. *J Agric Food Chem.* 53: 76-83.
- Gomes CA, Girao da Cruz T, Andrade JL, Milhazes N, Borges F, Marques MPM (2003). Anticancer activity of phenolic acids of natural or synthetic origin: A structure-activity study. *J Med Chem.* 46: 5395-5401.
- Gordon MH, Roeding-Penman A (1998). Antioxidant activity of quercetin and myricetin in liposomes. *Chem Phys Lip.* 97: 79-85.
- Hagiwara K, Kosaka N, Yoshioka Y, Takahashi R, Takeshita F, Ochiya T (2012). Stilbene derivatives promote Ago2-dependent tumour-suppressive microRNA activity. *Sci. Rep.* 2, 314; DOI:10.1038/srep00314.
- Hajimahmoodi M, Moghaddam G, Mousavi SM, Sadeghi N, Oveisi MR, Jannat B (2014). Total antioxidant activity, and hesperidin, diosmin, eriocitrin and quercetin contents of various lemon juices. *Trop J Pharma Res.* 13: 951-956.
- Hou DX, Tong X, Terahara N, Luo D, Fujii M (2005). Delphinidin 3-sambubioside, a Hibiscus anthocyanin, induces apoptosis in human leukemia cells through reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway. *Arch Biochem Bioph.* 440: 101-109.
- Hwang SL, Yen GC (2008). Neuroprotective effects of the citrus flavanones against H₂O₂-induced cytotoxicity in PC12 cells. *J Agric Food Chem.* 56: 859-864
- Ignat I, Volf I, Popa VI (2011). A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.* 126: 1821-1835.
- Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KU, Thomas CF, Beecher CW, Fong HHS, Farnsworth NR, Kinghorn AD, Mehta RG, Moon RC, Pezzuto JM (1997). Cancer chemoprotective activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science* 275: 218-220.
- Kaur R, Uppal SK (2015). Structural characterization and antioxidant activity of lignin from sugarcane bagasse. *Colloid Polym Sci.* 293: 2585-2592.
- Karthikeyan C, Moorthy NSHN, Ramasamy S, Vanam U, Manivannan E, Karunagaran D, Trivedi P (2015). Advances in chalcones with anticancer activities. *Rec Pat Anti-Cancer Drug Disc.* 10: 97-115.

- Kim Y, Narayanan S, Chang KO (2010). Inhibition of influenza virus replication by plant-derived isoquercetin. *Antiviral Res.* 88: 227-235.
- Kong JM, Chia LS, Goh NK, chia TF, Brouillard R (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. 64: 923-933.
- Kumar S, Pandey AK (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *Sci World J.* dx.doi.org/10.1155/2013/162750.
- Lamuela-Raventós RM, Romero-Pérez AI, Andrés-Lacueva C, Tornero A (2005). Review: Health effects of cocoa flavonoids. *Food Sci Tech Int.* 11: 159–176.
- Lila MA (2004). Anthocyanins and human health: An in vitro investigative approach. *J Biomed Biotechnol.* 5: 306-313.
- Mabe K, Yamada M, Oguni I, Takahashi T (1999). In vitro and in vivo activities of tea catechins against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother.* 43: 1788-1791.
- Merkl R, Hradkova I, Filip V, Smidrkal J (2010). Antimicrobial and antioxidant properties of phenolic acids alkyl esters. *Czech J. Food Sci.* 28: 275-279.
- Mouat MF, Kolli K, Orlando R, Hargrove JL, Grider A (2005). The effects of quercetin on SW480 human colon carcinoma cells: a proteomic study. *Nutr J.* 4: 11-18.
- Orlikova B, Tasdemir D, Golais F, Dicato M, Diederich M (2011). Dietary chalcones with chemopreventive and chemotherapeutic potential. *Genes Nutr.* 6: 124-147.
- Pandey KB, Rizvi SI (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Med. Cell. Longevity*, 2 (5): 270-278.
- Parhiz H, Roohbakhsh A, Soltani F, Rezaee R, Iranshahi M (2015). Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: An updated review of their molecular mechanisms and experimental models. *Phyther Res.* 29: 323-331.
- Park WH, Lee SJ, Moon HI (2008). Antiumarial activity of a new stilbene glycoside from *Parthnocissus tricuspidata* in Mice. *Antimicro Agents Chemother.* 52: 3451-3453.
- Pedrielli P, Holkeri LM, Skibsted LH (2001). Antioxidant activity of (+)-catechin. Rate constant for hydrogen-atom transfer to peroxy radicals. *Eur Food Res Technol.* 213: 405-408.

- Piacente S, Pizza C, De Tommasi N (1996). Constituents of *Ardisia japonica* and their in vitro anti-HIV activity. *J Nat Prod.* 59: 565-569.
- Piazzon A, Vrhovsek U, Masuero D, Mattivi F, Mandoj F, Nardini M (2012). Antioxidant activity of phenolic acids and their metabolites: synthesis and antioxidant properties of the sulfate derivatives of ferulic and caffeic acids and the acyl glucuronide of ferulic acid. *J. Agric. Food Chem.* 60: 12312-12323.
- Shahidi F, Ambigaipalan P (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects. A review. *J. Functional Foods. J. Funct. Foods.* 18: 820-897. DOI: 10.1016/j.jff.2015.06.018
- Shahidi F, Naczki M (2004). Phenolics in food and nutraceuticals. CRC Press, Boca Raton, Florida, US, 575 pp.
- Shi YN, Shi YM, Yang L, Li XC, Zhao JH, Qu Y, Zhu HT, Wang D, Cheng RR, Yang CR, Xu M, Zhang YJ (2015). Lignans and aromatic glycosides from *Piper wallichii* and their antithrombotic activities. *J Ethnopharmacol.* 162: 87-96.
- Singh P, Anand A, Kumar V (2014). Recent developments in biological activities of chalcones: A mini review. *European J Med Chem.* 85: 758-777.
- Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM (1997). Resveratrol: a molecule whose time has come and gone? *Clin. Biochem.* 30: 91-113.
- Song JM, Lee KH, Seong BL (2005). Antiviral effect of catechins in green tea on influenza virus. *Anticiral Res.* 68: 66-74.
- Sultana B, Anwar F (2008). Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chem.* 108: 879-884.
- Uchida N, Toyoda H (2011). Antioxidant Therapy as a potential approach to severe influenza-associated complications. *Molecules.* 16: 2032-2052.
- Vargas-Magaña JJ, Torres-Acosta JFJ, Aguilar-Caballero AJ, Sandoval-Castro CA, Hoste A, Chan-Pérez JI (2014). Anthelmintic activity of acetone–water extracts against *Haemonchus contortus* eggs: Interactions between tannins and other plant secondary compounds. *Vet Parasitol.* 206: 322-327.
- Vermerris W, Nicholson R (2006). Phenolic compound biochemistry. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 285 pp.

- Vitale DC, Piazza C, Melilli B, Drago F, Salomone S (2013). Isoflavones: estrogenic activity, biological effect and bioavailability. *Eur J Drug Metab Pharmacok.* 38: 15-25.
- Wilmsen PK, Spada DS, Salvador M (2005). Antioxidant activity of the flavonoid hesperidin in chemical and biological systems. *J Agric Food Chem.* 53: 4757-4761.
- Winkel-Shirley B (2001). Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiol.* 126: 485-493.
- Yousefzadi M, Sharifi M, Behmanesh M, Moyano E, Bonfill M, Cusido RM, Palazon J. (2010). Podophyllotoxin: Current approaches to its biotechnological production and future challenges. *Engineering in Life Sciences*, 10, 281-292.
- Zadernowski R, Czaplicki S, Naczek M (2009). Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). *Food Chem.* 112: 685-689.
- Zhang EH, Wang RF, Guo SZ, Liu B (2013). An update on antitumor activity of naturally occurring chalcones. *Evidence-Based Complem Altern Med.* Vol. 2013, Article ID 815621, 22 pages. [dx.doi.org/10.1155/2013/815621](https://doi.org/10.1155/2013/815621)

6.PREBIÓTICOS

Judith Esmeralda Urias Silvas

Tecnología alimentaria. CIATEJ, A.C.

jurias@ciatej.mx

Introducción

Recientemente, la percepción de la función biológica del colon ha cambiado dramáticamente. La visión tradicional que se tenía del colon era sólo como una parte del intestino para almacenamiento y excreción de materiales de desecho con limitada capacidad de absorción, hoy en día se visualiza como un órgano que además de las funciones tradicionales, se percibe como una cámara metabólica gracias a la presencia de una rica microbiota colónica que alcanza niveles de 10^{12} bacterias por gramo de contenido colónico. Esta actividad metabólica microbiana permite obtener energía y/o bioactivos para el hospedero a partir de los nutrientes que escapan de la digestión y absorción del intestino delgado (Gibson y Roberfroid, 1995), además el tracto gastrointestinal es el sitio preferido para la liberación y absorción de diferentes agentes terapéuticos y/o compuestos bioactivos (Heidarpour y col., 2011).

La obtención de energía colónica puede representar una contribución nutricional significativa en dietas donde los alimentos colónicos representan una importante proporción de la ingesta. Los alimentos colónicos han sido definidos como ingredientes alimenticios que entran al colon y sirven como sustrato para las bacterias endógenas, proporcionando indirectamente energía al hospedero, sustratos metabólicos y micronutrientes esenciales (Gibson y Roberfroid, 1995). Usualmente son polisacáridos y su digestión y absorción dependen de la actividad metabólica bacteriana y mediante el proceso de fermentación se generan ácidos grasos de cadena corta (*SCFA*, por sus siglas en inglés), hidrógeno, dióxido de carbono, lactato, succinato, amonio, entre otros. El perfil de los metabolitos generados en la fermentación colónica dependerá de la calidad de la microflora y de la disponibilidad de

sustratos específicos. Los prebióticos han atraído la atención tanto de la población en general, la industria de los alimentos como de la comunidad científica debido a su potencial para mejorar la fisiología intestinal a través de la modificación de la microflora, además de funcionar como material para la preparación de sistemas micro y nanoacarreadores (Heidarpour y col., 2011).

Prebióticos

Para que un ingrediente alimenticio sea clasificado como prebiótico, debe de reunir los siguientes requisitos: **1)** no ser hidrolizado o absorbido en la parte superior del tracto gastrointestinal, **2)** ser sustrato selectivo para un número limitado de bacterias potencialmente benéficas del colon, por ejemplo, *Bifidobacteria* y *Lactobacilli*, cuyo crecimiento se estimula y **3)** como una consecuencia, ser capaz de alterar la microflora colónica hacia una población o actividad potencialmente más saludable. Por lo tanto, cualquier ingrediente que logre llegar al intestino grueso podría ser un prebiótico. Sin embargo, para que sea efectivo, es crucial la fermentación selectiva por la microbiota colónica (Roberfroid, 2001). Los prebióticos incluyen oligo- y poli-sacáridos de fructosa (Fig. 1) y de galactosa, así como también a la lactulosa, los cuales no son digeribles por las enzimas digestivas humanas, pero pueden ser metabolizados por las bacterias colónicas produciendo SCFA.

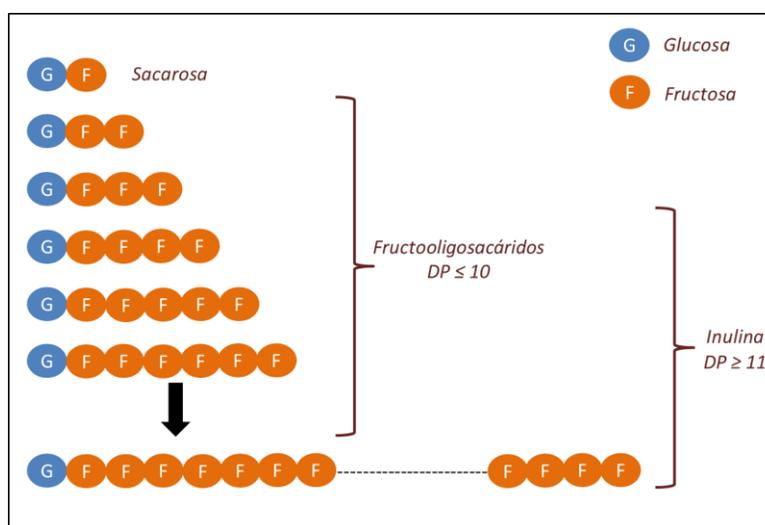


Figura 1. Esquema de los fructooligosacáridos e inulina.

Otros materiales prebióticos incluyen oligosacáridos de soya, isomaltooligosacáridos, xilooligosacáridos y glucooligosacáridos. Algunos de los prebióticos tales como inulina, goma guar, almidón resistente, pectinas, quitosano y lactulosa ya han sido estudiados tanto en animales como en humanos (Awati y col., 2005; Kelly, 2008). La mayoría de los avances en cuanto a prebióticos se refiere, se han realizado con dos grupos de compuestos, los fructanos (tipo inulina) y los galactooligosacáridos, los cuales han demostrado su capacidad de estimular el crecimiento de bacterias benéficas a la salud. Sin embargo, sigue siendo mayor la atención que han recibido los fructanos, principalmente los provenientes de la raíz de achicoria (*Cichorium intybus*) (Roberfroid y col., 2008) y recientemente, han atraído la atención los fructanos provenientes de la planta de agave (agavinas) (Fig. 2), debido a la complejidad de sus estructuras y por consecuencia el abanico de posibilidades de propiedades tecnofuncionales y estabilidad térmica (Allsopp y col., 2013; Espinosa-Andrews y Urías-Silvas, 2012; Gómez y col., 2010; Urías-Silvas y col., 2008).

La inulina es procesada por la industria de los alimentos para producir fructooligosacáridos (Grado de polimerización (*DP*) de 2 a 10; promedio de 5), como resultado de hidrólisis enzimática parcial. Además de la inulina y sus hidrolizados que provienen de fuentes vegetales, la industria de los alimentos también produce fructanos sintéticos (Kaur y Gupta, 2002; Crittenden y Playne, 1996).

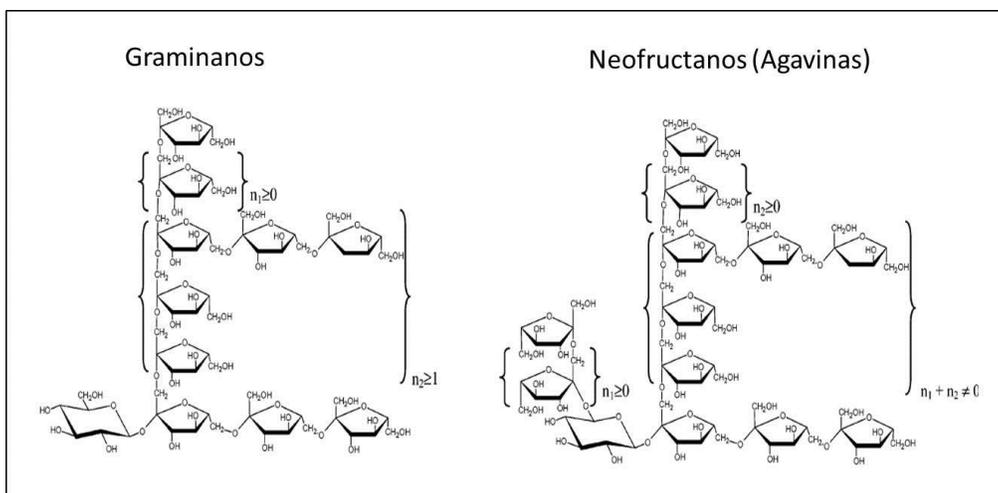


Figura 2. Clasificación de los fructanos de *Agave* spp. Donde n = moléculas de fructosa. Fuente: Mancilla-Margalli y López, 2006.

Efectos fisiológicos de los fructanos

Además de los efectos funcionales de los fructanos como fibra dietaria, como se mencionó previamente, la inulina y los fructooligosacáridos son fermentados por las bacterias colónicas y se han considerado como ingredientes alimenticios funcionales, ya que afectan procesos fisiológicos y bioquímicos tanto en ratas como en humanos, resultando en una mejor salud y reducción del riesgo de muchas enfermedades. Estudios experimentales han mostrado su uso como agentes bifidogénicos, estimulando el sistema inmune del cuerpo, disminuyendo los niveles de bacterias patogénicas en el intestino, aliviando el estreñimiento, disminuyen el riesgo de osteoporosis incrementando la absorción mineral (Carabin y Flamm, 1999; Coudray y col., 1997; Ohta y col., 1994), especialmente de calcio, reduciendo el riesgo de aterosclerosis disminuyendo la síntesis de triglicéridos y ácidos grasos en el hígado y disminuye su nivel en sangre (Roberfroid, 2001; Delzenne, 1999). La inulina y los fructooligosacáridos también reducen la incidencia de cáncer de colon (Rao y col., 1998; Reddy, 1998; Rowland y col., 1998; Reddy y col., 1997; Wargovich y col., 1996). Los fructooligosacáridos han sido reportados como no cariogénicos debido a que *Streptococcus mutans* no los utiliza para la producción de ácidos y de glucanos insolubles, los cuales son los principales responsables de la caries dental (Kaur y Gupta, 2002). Otra importante característica de los fructanos es que son ingredientes de bajo contenido calórico, su valor energético es solamente del 40% al 50% comparado a carbohidratos digeribles, es decir, proporcionan de 1 a 2 Kcal/g, por tal motivo, tanto la inulina como los fructooligosacáridos son utilizados en la formulación de dietas para personas obesas (Kaur y Gupta, 2002).

Los fructanos también modulan el nivel hormonal de insulina y glucagón (Luo y col., 1996; Boillot y col., 1995), por medio de la regulación del metabolismo de lípidos y carbohidratos (Delzenne, 1999) disminuyendo los niveles de glucosa en sangre. Por último, el consumo de fructanos se ha reportado que tiene efectos sobre la modulación del gen pro-glucagón incrementando como consecuencia, los niveles de la incretina GLP-1 y confiriendo así, efectos positivos en obesidad y diabetes (Urias-Silvas y col., 2008; Cani y col., 2006; 2005; 2004).

Prebióticos en la liberación de bioactivos

Las características importantes de los prebióticos tales como ingrediente funcional y sus beneficios a la salud han sido documentadas en diferentes ocasiones, sin embargo, su papel como medio de liberación de bioactivos en sitios específicos es relativamente nuevo, pero se considera como un prometedor campo de investigación y desarrollo (Heidarpour y col., 2011).

Hoy en día, el desarrollo de sistemas de liberación para bioactivos en la industria de los alimentos es un tema de gran relevancia que se encuentra en continua evolución. La microencapsulación es una técnica promisoriosa para la protección de células bacterianas contra condiciones adversas ya sea durante el procesamiento y almacenamiento de alimentos o bien durante su recorrido por el tracto gastrointestinal, tal es el caso de la protección de probióticos (Sathyabama y col., 2014), los cuales se definen como microorganismos vivos que al ser ingeridos en cierta cantidad tienen efectos benéficos en la salud más allá de su función alimentaria (Guarner y Schaafsma 1998). Ejemplo de protección de probióticos es el trabajo de Zamora-Vega y col. (2012) donde microencapsularon *Saccharomyces boulardii* por medio de la técnica de emulsión, utilizando alginato de sodio, inulina y mucílago de *Opuntia ficus - indica* como material de recubrimiento, obteniendo células con mayor viabilidad después del periodo de almacenamiento.

Dentro del área farmacéutica se han desarrollado diferentes formas de administración para la liberación eficiente de bioactivos, siendo la administración oral el método más conveniente y aceptable entre pacientes. Uno de los principales retos en la liberación de los bioactivos es el que lleguen intactos al sitio de interés (Udagawa y Wood, 2010; McConnell y col., 2009; Fahmy y col., 2005), es importante, además, que el sistema acarreador en particular proteja los bioactivos tanto de procesos inmunológicos como fisiológicos, tal como la captación por el sistema retículoendotelial en el caso de vía parenteral, o digestión en el caso de liberación oral, hasta alcanzar el sitio de acción deseado.

Los prebióticos se mantienen íntegros debido a su resistencia a la acción de enzimas gastrointestinales, permanecen intactos en el ambiente fisiológico del estómago y del

intestino delgado, sin embargo, una vez que alcanzan el colon empiezan a ser hidrolizados, de ahí que se consideren como apropiados en el área de liberación de bioactivos, además de ser algunos de ellos, como la inulina de achicoria, permitidos incluso como excipientes farmacéuticos (Barclay y col., 2010).

El uso de prebióticos en la nanoencapsulación de bioactivos se basa en el hecho de que el material prebiótico puede ser utilizado para cubrir un compuesto bioactivo permitiendo pasar intacto a través del estómago y del tracto digestivo superior sin su liberación. Debido a la característica de ser indigeribles, los prebióticos pueden pasar fácilmente por el tracto gastrointestinal y ser fermentados en el colon por la microbiota liberando los bioactivos (Awati y Moughan, 2006). En la última década se han generado diferentes trabajos donde utilizan componentes de fibra dietaria en la encapsulación de bioactivos (Zamora-Vega y col., 2012; Fung y col., 2010; Singh y Chauhan, 2009; Bassett y Cash, 2008). Con especial énfasis en el uso de prebióticos como la inulina, ya que debido a las propiedades únicas de dichas moléculas se considera como una opción versátil tanto en la industria alimentaria como en la farmacéutica.

Bibliografía

- Allsopp**, P., Possemiers, S., Campbell, D., Saldaña-Oyarzábal, I., Gill, C. y Rowland, I. 2013. An exploratory study into the putative prebiotic activity of fructans isolated from *Agave angustifolia* and the associated anticancer activity. *Anaerobe*, 22: 38-44.
- Awati**, A., Konstantinov, S.R. Williams, B.A., Akkermans, A.D.L. Bosch, M.W. y Verstegen, M.W.A. 2005. Effect of substrate adaptation on the microbial fermentation and microbial composition of fecal microbiota of weaning piglets studied *in vitro*. *Journal of Science of Food Agriculture*, 5: 1765-1772.
- Barclay**, T., Ginic-Markovic, M., Cooper, P. y Petrovsky, N. 2010. Inulin - a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. *J. Excipients and Food Chem.*, 3: 27-50.
- Basset**, J.T. y Cash, B.D. 2008. A review of irritable bowel syndrome an update on therapeutic approaches. *Expert Opin Pharmacother*, 9: 1129-1143.

- Cani, P.D., Joly, E., Horsmans, Y. y Delzenne, N.M.** 2006. Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 60: 567-72.
- Cani, P.D., Daubioul, C.A., Reusens, B., Remacle, C., Catillo, G. y Delzenne, N.M.** 2005. Involvement of endogenous glucagon-like peptide-1 (7–36) amide on glycaemia-lowering effect of oligofructose in streptozotocin-treated rats. *J. Endocr.*, 185: 457-465
- Cani, P.D., Dewever, C. y Delzenne, N.M.** 2004. Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon-like peptide-1 and ghrelin) in rats. *Brit. J. Nutr.*, 92: 521-526.
- Carabin, I.G. y Flamm, W.G.** 1999. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 30: 268-282.
- Coudray, C., Bellanger, J., Castiglia-Delavaud, C., Remesy, C., Vermorel, M. y Rayssiguier, Y.** 1997. Effects of soluble or partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 51: 375-380.
- Crittenden, R.G. y Playne, M.J.** 1996. Production, properties and applications of food grade oligosaccharides. *Trends Food Sci. Technol.*, 7: 353-361.
- Delzenne, N.M.** 1999. The hypolipidaemic effect of inulin: when animal studies help to approach the human problem. *Brit. J. Nutr.*, 82: 3-4.
- Espinosa-Andrews, H. y Urías-Silvas J.E.** 2012. Thermal properties of agave fructans (*Agave tequilana* Weber var. Azul). *Carbohydrate Polymers*. 87: 2671-2676.
- Fahmy, T.M., Fong, P.M., Goyal, A. y Saltzman, W.M.** 2005. Targeted for drug delivery. *Materials Today*, 8: 18-26.
- Fung, W.Y., Yuem, K.H. y Liong, M.T.** 2010. Characterization of fibrous residues from agrowastes and the production of nanofibers. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58: 8077-8084.
- Gibson, G.R. y Roberfroid, M.** 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, 125: 1401-1412.
- Gómez, E., Tuohy, K.M., Gibson, G.R., Klinder, A, y Costabile, A.** (2010). *In vitro* evaluation of the fermentation properties and potential prebiotic activity of Agave fructans. *Journal of Applied Microbiology*, 108: 2114–21.

- Guarner, F.** y Schaafsma, G. 1998. Probiotics. *Int. J. Food Microbiol.*, 39: 237-238.
- Heidarpour, F.**, Mohammadabadi, M.R., Zaidul, I.S.M. Maherani, B., Saari, N., Hamid, A.A., Abas, F., Manap, M.Y.A. y Mozafari, M.R. 2011. Use of prebiotics in oral delivery of bioactive compounds: a nanotechnology perspective. *Pharmazie* 66:319-324.
- Kaur, N.** y Gupta, A. K. 2002. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *J. Biosci.*, 27: 703-714.
- Kelly, G.** 2008. Inulin-type prebiotics – a review: part1. *Alt Med Rev*, 13: 315-329.
- Luo, J.**, Rizkalla, S. W., Alamovitch, C., Boussairi, A. y Blayo, A. 1996. Chronic consumption of short chain fructooligosaccharides by healthy subjects decreased basal hepatic glucose production but had no effect on insulin stimulated glucose metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.*, 63: 639-645.
- Mancilla-Margalli, N.A.** y López, M.G. 2006. Water-soluble carbohydrates and fructan structure patterns from *Agave* and *Dasyilirion* species. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 7832-7839.
- McConnell, E.L.**, Liu, F. y Basit, A.W., 2009. Colonic treatments and targets: issue and opportunities. *J. Drug Target*, 17:335-363.
- Ohta, A.**, Ohtsuki, M., Takizawa, T., Inaba, H., Adachi, T. y Kimura, S. 1994. Effects of fructooligosaccharides on the absorption of magnesium and calcium by cecectomized rats. *Int. J. Vit. Nutr. Res.*, 64: 316-323.
- Rao, C.V.**, Chou, D., Simi, B., Ku, H. y Reddy, B.S. 1998. Prevention of colonic aberrant crypt foci and modulation of large bowel microbial activity by dietary coffee fiber, inulin, and pectin. *Carcinogenesis*, 10: 1815-1819.
- Reddy, B.S.** 1998. Prevention of colon cancer by pre- and pro-biotics: evidence from laboratory studies. *Brit. J. Nutr.*, 80: 219-223.
- Roberfroid, M.B.** 2001. Prebiotics: preferential substrate for specific germs?. *Am. J. Clin. Nutr.*, 73: 406-409.
- Roberfroid, M.**, Gibson, G.R., Hoyles, L., McCartney, A.L., Rastall, R., Rowland, I., Wolvers, D., *et al.* (2008). Prebiotic concept and health. *British J. Nutr.*, 99: S1–S63.

- Sathyabama, S.,** Ranjith Kumar, M., Bruntha Devi, P., Vijayabharathi, R. y Brindha Priyadharisini, V. 2014. Co-encapsulation of probiotics with prebiotics on alginate matrix and its effect on viability in simulated gastric environment. *LWT – Food Science and Technology*, 57: 419-425.
- Singh, B. y Chauhan, N.** 2009. Modification of *Psyllium* polysaccharides for use in oral insulin delivery. *Food Hydrocolloids*, 23: 928-935.
- Udagawa, T. y Wood, M.** 2010. Tumor-stromal cell interactions and opportunities for therapeutic intervention. *Current Opin Pharmacol.*, 10:369-374.
- Uriás-Silvas, J.E.,** Cani, P.D., Delmée, E., Neyrinck, A., López, M.G., y Delzenne, N.M. (2008). Physiological effects of dietary fructans extracted from *Agave tequilana* Gto. and *Dasyilirion* spp. *British Journal of Nutrition*, 99: 254–61.
- Wargovich, M.H.,** Chen, D.D., Jimenez, A., Steele, V.E., Velasco, M., Stephens, C., Price, R., Gray, K. y Kelloff, G.J. 1996. Aberrant crypt as a biomarker for colon cancer, evaluation of potential chemopreventive agents in the rat. *Cancer Epidemiol. Biom. Prevent.*, 5: 355-360.
- Zamora-Vega, R.,** Montañez-Soto, J.L., Martínez-Flores H.E., Flores-Magallón, R., Muñoz-Ruiz, C.V., Venegas-Gonzalez, J. y Ariza Ortega, T.de J. 2012. Effect of incorporating prebiotics in coating materials for the microencapsulation of *Sacharomyces boulardii*. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 63: 930-935.

7.CAVITACIÓN

Ma. De los Ángeles Sánchez Contreras

Unidad sureste. CIATEJ, A.C.

msanchez@ciatej.mx

Introducción

Como ya se ha mencionado, muchos compuestos bioactivos se obtienen en gran parte de las plantas ya sea con fines medicinales, nutraceuticos o cosméticos. Como sabemos el proceso de extracción constituye el primer paso fundamental, la preparación de extractos crudos a partir de plantas es el punto de partida para el aislamiento y purificación de estos componentes químicos presentes en las plantas. Las plantas generalmente, contienen sólo una pequeña cantidad de compuestos activos, pero en la mayoría de los casos su alto valor justifica el desarrollo de procesos de alto rendimiento. La necesidad para la extracción eficaz de compuestos bioactivos a partir de plantas sin ninguna pérdida de actividad y de alta pureza se ha traducido en el desarrollo de nuevos procesos de extracción que superen los inconvenientes producidos por los métodos clásicos de extracción (Shirsath *et al.*, 2012; Palma *et al.*, 2013; Shams *et al.*, 2015).

La extracción sólido-líquido se utiliza en muchas industrias químicas, bioquímicas, farmacéuticas, de alimentos y cosméticos para la recuperación de éstos compuestos, dejando de lado los métodos de extracción tradicionales como son la extracción con disolventes, la destilación a vapor, con alta presión hidrostática y a contracorriente (Loginova *et al.*, 2011). Estos métodos se caracterizan por el empleo de gran cantidad de disolventes, largos tiempos de extracción, bajos rendimientos, así como la disminución de la calidad de los extractos o destrucción total del componente activo por las condiciones de alta presión y temperatura utilizadas. Además, en ellos se utiliza un gran consumo de energía y se produce una gran cantidad de desechos tóxicos, con efectos nocivos a la salud humana y al medio ambiente. 4,5 (Prashant *et al.*, 2011; Azmira *et al.*, 2013).

En años recientes, ha cobrado un gran impulso el desarrollo de tecnologías limpias de extracción de gran eficiencia, que permiten el aislamiento efectivo de componentes biológicamente activos de productos naturales, sin la pérdida de la actividad biológica, con un alto rendimiento y una elevada pureza (Bucar *et al.*, 2013). Algunas de estas tecnologías limpias son la extracción asistida por ultrasonido (EAU), la extracción con fluidos supercríticos (Reverchon *et al.*, 2006) y la extracción acelerada con microondas (Chan *et al.*, 2012) entre otras. De las últimas técnicas de extracción desarrolladas, la extracción asistida por ultrasonido es la más económica y tiene los requerimientos instrumentales más bajos. Su aplicación resulta muy apropiada cuando la estabilidad de la materia prima o del compuesto activo a extraer se afecta con las temperaturas elevadas de los procesos convencionales. (Rostagno *et al.*, 2003; Vilku *et al.*, 2008). Por otra parte, las nuevas tecnologías de extracción son buenas alternativas a los procesos convencionales con respecto al consumo de energía y de emisiones de carbón al medio ambiente.

Compuestos como, polifenoles (Ghasemzadeh *et al.*, 2015), alcaloides (Bulduk *et al.*, 2015), compuestos aromáticos (Jerman *et al.*, 2010), isoflavonoides (Paniwnyk *et al.*, 2009), polisacáridos (Zhu *et al.*, 2015; Ebringerova y Hromadkova, 2010), saponinas, y pigmentos (Yolmeh *et al.*, 2014; Sinha *et al.*, 2013) entre otros, se han extraído de productos naturales con ultrasonido, con buenos resultados. Esto se debe al efecto del ultrasonido sobre la cinética y el rendimiento de la extracción. (Rostagno *et al.*, 2013; Peng *et al.*, 2013; Zaluza *et al.*, 2014)

El ultrasonido (US) consta de ondas elásticas cuya frecuencia se transmite sobre el umbral del oído humano. La gama de ultrasonido aplicada se puede clasificar en dos subclases: baja intensidad o ultrasonido de diagnóstico (5-10 MHz) y ultrasonidos de alta intensidad o de potencia (rango de 20-100 kHz) (Fig. 1), se utiliza para para modificar procesos o productos (Rastogi, 2011; Zheng y Sun, 2006). El primero se utiliza por lo general como una herramienta analítica para la inspección no destructiva, pero en general el ultrasonido es una tecnología de procesamiento no térmico, que puede ser utilizado en la obtención de compuestos bioactivos de productos naturales.

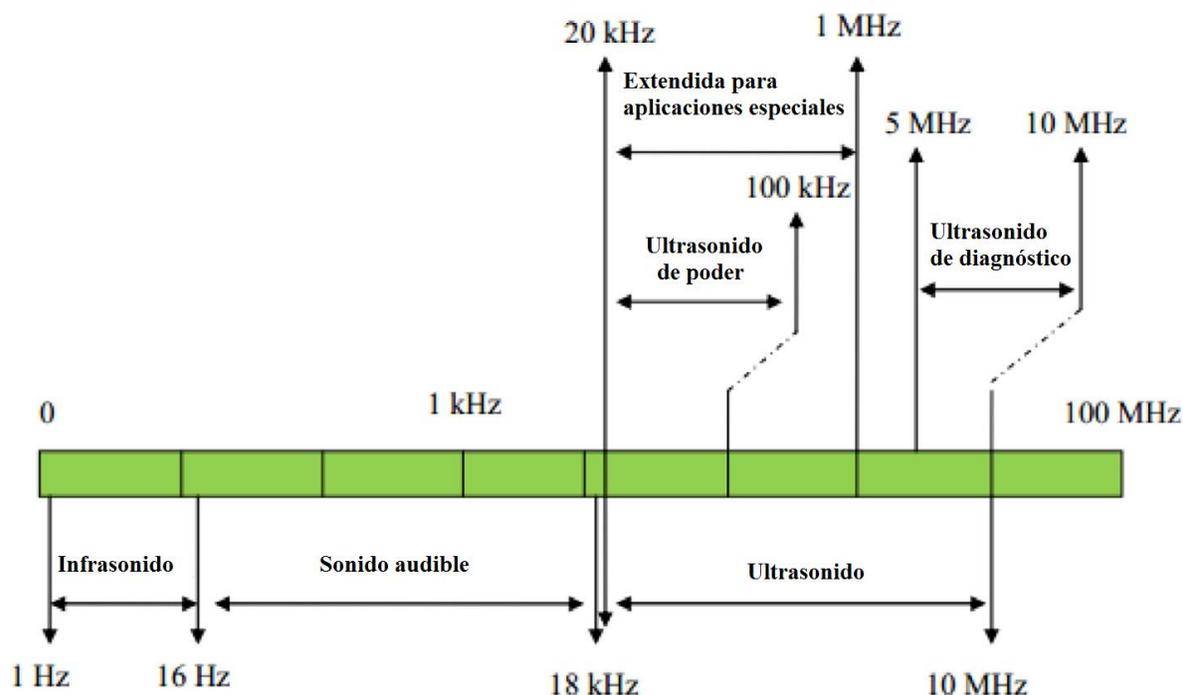


Fig. 1. Intervalo de frecuencias de ondas de sonido (Cheng *et al.*, 2015).

El ultrasonido se propaga a través de una serie de ciclos de compresión y expansión inducido por las ondas de sonido a las moléculas del medio (Fig. 2) (Rastogi, 2015). Cuando la energía del ultrasonido es alta, la expansión podrá superar las fuerzas de atracción entre moléculas en un medio, lo que conduce a la formación de cavitación de las burbujas. Se puede clasificar en cavitación estable y transitoria si la burbuja de cavitación se rompe o no (Zheng y Sun, 2005). El movimiento de las burbujas de cavitación durante la extracción estable puede conducir a microcorrientes, éstas producen fuertes corrientes en el medio que rodea a las burbujas de cavitación. En adición, la difusión de gases disueltos dentro y fuera de las burbujas también crea microcorrientes que las rodean. Las microcorrientes pueden tener muchas aplicaciones valiosas como la desgasificación y la ruptura de la membrana celular (Rastogi, 2011 y Chemat *et al.*, 2011). A presión acústica alta, estas burbujas crecen durante un período de algunos ciclos a un tamaño crítico hasta que son inestables y colapsan violentamente (Mason *et al.*, 2005). El colapso de una burbuja durante la cavitación transitoria es un acontecimiento catastrófico, que puede generar presiones muy altas (hasta 1000 atm) y altas temperaturas (hasta 5.000 °C) y produce la propagación de ondas de choque

hacia afuera. Esta propagación provoca turbulencias severas en el entorno inmediato. Estos dramáticos 'micro' acontecimientos pueden romper fácilmente cadenas de polímeros o destruir las paredes celulares de los tejidos biológicos. Además, también puede causar ruptura de las moléculas de agua y crear radicales libres altamente reactivos que pueden reaccionar y modificar otras moléculas (Riesz, y Kondo, 1992). Los mecanismos antes mencionados asociados con el tratamiento de ultrasonido inducen una serie de efectos físicos y químicos que pueden ser aprovechados para la extracción de metabolitos bioactivos de productos naturales (Chen *et al.*, 2015).

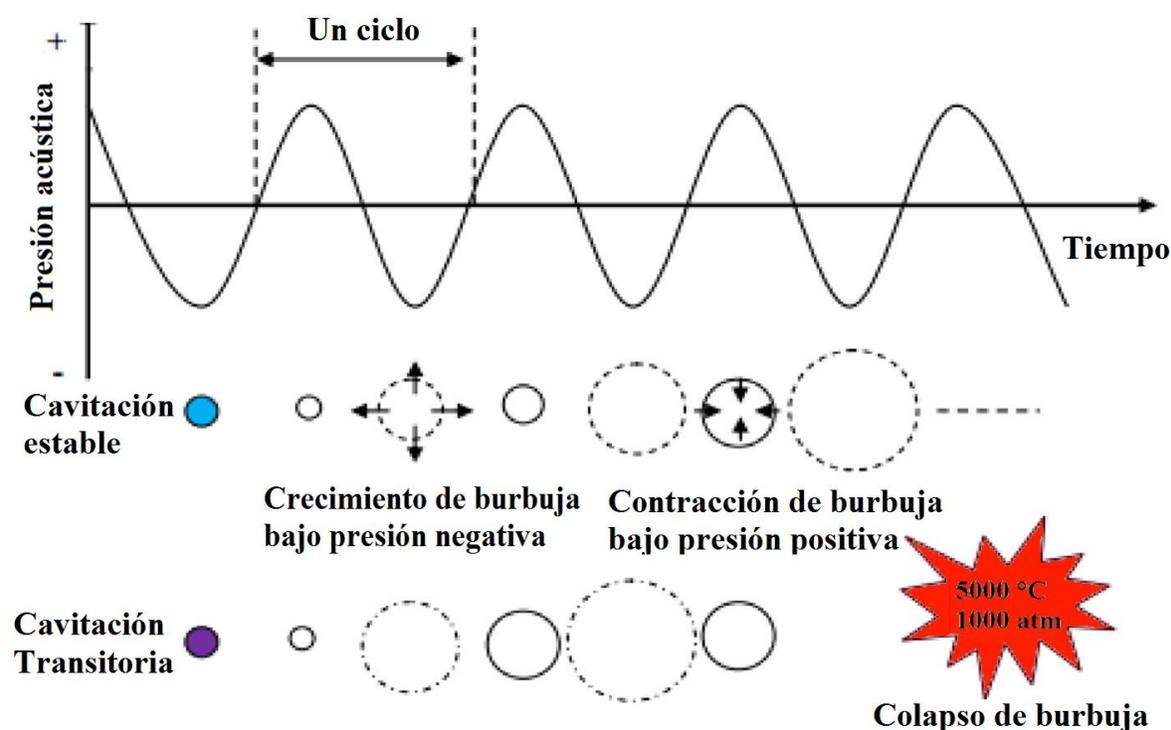


Fig. 2 Cavitación inducida por ultrasonido (Chen *et al.*, 2015)

Durante el proceso de extracción con el empleo del ultra sonido, es necesario evaluar algunos de parámetros importantes que pueden garantizar una adecuada y rápida extracción de los compuestos bioactivos. Estos se clasifican en parámetros de operación: configuración del reactor sonoquímico, frecuencia e intensidad de la radiación y tiempo de sonicación. Los

parámetros de extracción que normalmente deben monitorearse son temperatura, tipo de disolvente y relación soluto/solvente (Rodríguez-Riera *et al.*, 2014).

Los reactores sonoquímicos tipo bocina y los baños ultrasónicos son los más empleados en los estudios sobre extracción asistida por ultrasonido en el laboratorio (Fig. 3). En muchas ocasiones es necesario emplear agitación mecánica y criostatos para mantener constante la temperatura que se incrementa por la acción del ultrasonido (Shirsath *et al.*, 2012; Vinatoru, 2001). También existen reportes sobre el diseño de estos equipos a una mayor escala ya han sido ampliamente reconocidas las ventajas de estas nuevas tecnologías. Sin embargo, aún no son muchos los estudios de extracción de compuestos bioactivos por ultrasonido a escala industrial. (Leonelli y Mason, 2010)

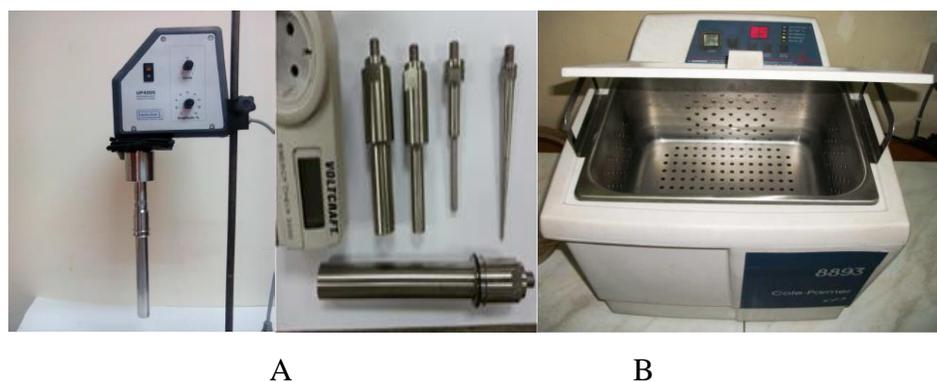


Fig. 3. Tipos de reactores ultrasónicos más utilizados para la extracción asistida por ultrasonido a) Tipo bocina, con diferentes pistilos y b) Baño ultrasónico.

Los reactores tipo de bocina pueden utilizar transductores tipo sonda, que liberan una gran cantidad de energía directamente a la mezcla de reacción, o transductores planos ubicados en la parte inferior del reactor, que pueden estar en contacto directo o no con la mezcla reaccionante. Los transductores tipo sonda poseen varios inconvenientes, ya que, si bien la intensidad cerca de la fuente transmisora es importante, en la medida que se aleja de ella, la intensidad disminuye exponencialmente hasta desvanecerse a una distancia de aproximadamente 2 a 5 cm, dependiendo de la potencia máxima de entrada del equipo y de la frecuencia. (Gogate, 2008; Rodríguez-Riera *et al.*, 2014).

Los baños ultrasónicos son ampliamente usados en investigación sonoquímica debido a su disponibilidad y bajo costo. Este tipo de reactores posee uno o varios transductores en su parte inferior y un líquido entre el baño y el recipiente de reacción que generalmente es agua. El baño también puede utilizarse como recipiente de reacción. Cuando no hay un contacto directo entre los transductores y la mezcla de reacción (sonicación indirecta) la potencia ultrasónica que llega a la mezcla reaccionante es menor si se le compara con los otros sistemas ultrasónicos. (Kulkarni y Rathod, 2014). La reproducibilidad de los resultados con este tipo de reactor es baja, debido a que la energía que alcanza la mezcla de reacción depende en gran medida del lugar dentro del baño donde se encuentre el recipiente de reacción. Con los transductores tipo bocinan de sonicación directa se extraen mayores cantidades del material vegetal que con los baños ultrasónicos, donde la sonicación es indirecta. La selección del reactor sonoquímico dependerá de las características del material vegetal utilizado y del estudio a realizar (Rodríguez-Riera *et al.*, 2014).

Frecuencia e Intensidad de la radiación

Para obtener una mayor extracción de los compuestos bioactivos de interés en una planta se debe utilizar una cantidad de energía ultrasónica suficiente que favorezca este proceso. Por ello la frecuencia y la intensidad de la radiación ultrasónica son parámetros que siempre deben ser evaluados en cada estudio de extracción. La frecuencia más empleada debe estar entre 20 y 100 kHz en un intervalo de potencia de 100 a 800 W. A bajas frecuencias (20 kHz) prevalecen los efectos físicos del ultrasonido, que determinan la extracción efectiva de los componentes de las plantas, mediante un incremento de la transferencia de masa, sin que se produzcan fenómenos de degradación de los metabolitos presentes.

Respecto a la intensidad de la radiación, una magnitud mayor tiende a favorecer una completa extracción de los metabolitos de interés. La disipación de la intensidad de irradiación ocurre en forma de calor y depende de la configuración del reactor y del tamaño de partícula del material vegetal que se utilicen. (Vinatoru *et al.*, 2001)

Con el aumento de la frecuencia y la potencia, los compuestos de interés pueden degradarse ya que por reacción del sustrato con los radicales libres prevalece el mecanismo sonoquímico

sobre el mecanismo sonomecánico. Esta consideración es importante para lograr hacer de la extracción por ultrasonido un proceso económicamente más factible.

Tiempo de sonicación

En estos estudios siempre debe evaluarse la cinética de extracción mediante la determinación del tiempo de sonicación óptimo, ya que una gran exposición a la irradiación ultrasónica puede influir en la calidad y el rendimiento de extracción del compuesto de interés. El tiempo estimado para la extracción del material vegetal depende del tipo y la estructura de la pared celular, del grado de penetración del disolvente y de la resistencia de la masa de los constituyentes solubles a ser transferidos por difusión de la parte interna al disolvente. El intervalo más común del tiempo de sonicación es de 120 a 3600 s, tiempo considerablemente menor que el requerido para las extracciones tradicionales, como mínimo de 3 h (Palma y Barroso, 2002).

Temperatura

De forma general, en la extracción de compuestos activos asistida por ultrasonido, se emplean temperaturas inferiores a los métodos tradicionales. Por ejemplo, en la extracción de ácido tartárico y málico de semillas de uva en el intervalo de 25 a 50°C, (Palma y Barroso, 2002), compuestos fenólicos de 25 a 75°C (Khan *et al.*, 2010) y capsaicinoides de 10 a 60°C. (Boonkird *et al.*, 2008). Esta condición le confiere una gran ventaja al método de ultrasonido, porque no utiliza altas temperaturas para la extracción de compuestos bioactivos lábiles a temperaturas altas.

Tipo de disolvente y relación soluto-disolvente

La selección del disolvente es un paso básico en cualquier proceso de extracción. Deben emplearse disolventes de baja toxicidad, de fácil evaporación y selectivos al compuesto de interés. Las propiedades químicas del disolvente, su concentración y la relación soluto-disolvente, son aspectos fundamentales para lograr una extracción eficiente (Slater *et al.*, 2010). En este tipo de extracción la capacidad del disolvente de absorber y transmitir la energía de la onda ultrasónica, determina la eficiencia del proceso. Las

propiedades físicas del disolvente influyen directamente en el proceso de cavitación. En general, la intensidad de la cavitación aumenta cuando se utilizan disolventes de baja tensión superficial, presión de vapor y viscosidad. (Azuola y Vargas, 2007; Wu *et al.*, 2010). Otro factor importante en la selección del disolvente para la extracción por ultrasonido, es la estructura y fortaleza de la pared celular del material vegetal, ya que el disolvente debe ser capaz de penetrar en su interior para extraer los compuestos activos.

La polaridad del disolvente también influye en la eficiencia de la extracción. El agua es el disolvente más adecuado por su bajo costo y no contamina el medio ambiente. Se utiliza principalmente para extraer compuestos polares como carbohidratos, glucósidos y aminoácidos. Algunos disolventes orgánicos polares, como los alcoholes (etanol, etanol, n-butanol, isopropanol) y la acetona permiten la extracción de la mayoría de los compuestos bioactivos de plantas naturales. El éter dietílico permite el aislamiento de compuestos de baja polaridad como los aromáticos. En ocasiones, también se utilizan disoluciones inorgánicas básicas como hidróxido de sodio y potasio. (Sivakumar *et al.*, 2007; Lieu y Le, 2010) y algunos autores sugieren que resulta favorable añadir agua a los disolventes en una determinada proporción para favorecer el proceso de extracción.

En CIATEJ las líneas de investigación actuales están dirigidas al diseño de métodos para favorecer los procesos de extracción, esto requiere de reactores sonoquímicos de mayor capacidad, que utilicen transductores múltiples con posibilidades de operar a varias frecuencias y que puedan utilizarse a escala piloto e industrial para la extracción de diferentes materiales. Estos reactores deben lograr una distribución uniforme de la cavitación en su interior con el fin de poder alcanzar una extracción eficiente. Algunos diseños patentados sugieren colocar los transductores en diferentes posiciones del reactor de forma tal que los patrones de ondas individuales generados por cada uno se superpongan, lo que incrementa la cavitación de forma uniforme. Por lo que ahora el reto lo constituye el desarrollo de transductores de alta potencia ultrasónica con una mayor capacidad, eficiencia y un sistema de control más sofisticado. Por otro lado, también se trabaja en diversos estudios teóricos que permitan modelar nuevos reactores con diferente geometría y parámetros tales como la distribución de la temperatura en el interior del reactor, el coeficiente de transferencia de

masa y la corriente líquida, necesarios para optimizar de forma uniforme la máxima actividad cavitacional de la onda ultrasónica. De forma adicional, también continúan los estudios de optimización a escala de laboratorio mediante diferentes diseños experimentales para evaluar parámetros tales como tiempo de sonicación, potencia y frecuencia de ultrasonido y relación sólido-líquido que son específicos para lograr una extracción eficiente de los compuestos activos provenientes de los diversos productos naturales que se investigan.

Referencias

- Adje F, Lozano Y F, Lozano P, Adima A, Chemat F, G aydou EM. Optimization of anthocyanin, flavonol and phenolic acid extractions from *Delonix regia* tree flowers using ultrasound-assisted water extraction. *Ind Crops Prod.* 2010; 32: 439–44.
- Azmira J. Zaidula ISM, Rahmana M.M, Sharifa KM, Mohameda A, Sahenab F. *et al.* Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering.* 2013; 117(4): 426–36.
- Azuola R, Vargas P. Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). *Tecnología en Marcha.* 2007;20(4): 30-40.
- Boonkird S, Phisalaphong C, Phisalaphong M. Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from *Capsicum frutescens* on a lab-and pilot-plant scale. *Ultrason Sonochem.* 2008;15: 1075–9.
- Bucar F, Wube A, Schmid M. Natural product isolation – how to get from biological material to pure compounds. *Nat. Prod. Rep.* 2013;30: 525-45.
- Chan CH, Yussoff R, Ngoh GC, Kung FWL. Review microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. *J of Chromatography A.* 2011;1218: 6213–25.
- Chemat F., H. Zille, M.K. Khan, Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction, *Ultrason. Sonochem.* 18 (2011) 813–835.
- Chumnanpaisont, N., Niamnuy, C., y Devahastin, S. (2014). Mathematical model for continuous and intermittent microwave-assisted extraction of bioactive compound from plant material: Extraction of beta-carotene from carrot peels. *Chemical Engineering Science*, 116, 442–451.

- Ebringerova A, Hromadkova Z. An overview on the application of ultrasound in extraction, separation and purification of plant polysaccharides. *Cent Eur J.* 2010;8: 243–57.
- Fernández-Agulló, A., Freire, M. S., Antorrena, G., Pereira, J. A., y González-Álvarez, J. (2013). Effect of the extraction technique and operational conditions on the recovery of bioactive compounds from chestnut (*Castanea sativa*) bur and shell. *Separation Science and Technology*, 49(2), 267–277.
- Gogate P. Cavitation reactors for process intensification of chemical processing applications: A critical review. *Chem Eng Process.* 2008;47: 515-27.
- Jerman T, Tresbe P, Vodopivec BM. Ultrasound-assisted solid liquid extraction (USLE) of olive fruit (*Olea europaea*) phenolic compounds. *Food Chem.* 2010;123: 175–82.
- Khan MK, Vian MA, Tixier A SF, Dangles O, Chemat F. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chem.* 2010;119: 851–8.
- Kulkarni VM, Rathod VK. Mapping of an ultrasonic bath for ultrasound assisted extraction of mangiferin from *Mangifera Indica* leaves. *Ultrasonics Sonochemistry.* 2014; 21(2): 606-61.
- Leonelli C, Mason TJ. Microwave and ultrasonic processing: now a realistic option for industry. *Chem Eng and Process.* 2010;49 885–900.
- Lieu LN, Le VVM. Application of ultrasound in grape mash treatment in juice processing. *Ultrason Sonochem.* 2010;17: 273–9
- Loginova V, Vorobiev E, Bals O, Lebovka NI. Pilot study of counter current cold and mild heat extraction of sugar from sugar beets assisted by pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering.* 2011;102: 340–7.
- Mason T., E. Riera, A. Vercet, P. Lopez-Bueza, Application of ultrasound, in: D.W. Sun (Ed.), *Emerging Technologies for Food Processing*, Elsevier Ltd., London, 2005, pp. 323–332.
- Palma M, Barbero GF, Piñeiro Z, Liazid A, Barroso CG, Rostagno MA, *et al.* Extraction of natural products: Principles and fundamental aspects. In: Rostagno MA, Prado JM, editors. *Natural Product Extraction: Principles and Applications*. Londres: RSC Publishing; 2013. pp. 58–88.

- Palma M, Barroso CB. Ultrasound-assisted extraction and determination of tartaric and malic acids from grapes and winemaking by-products. *Anal Chim Acta*. 2002;458: 119–30
- Paniwnyk L, Cai H, Albu S, Mason TJ, Cole R. The enhancement and scale up of the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* using ultrasound. *Ultrason Sonochem*. 2009;16 287–92.
- Peng L, Jia X, Wang Y, Zhu H, Chen Q. Ultrasonically assisted extraction of rutin from *Artemisia selengensis turcz*: comparison with conventional extraction techniques. *Food Anal Methods*. 2010;3 261–8.
- Prashant T, Bimlesh K, Mandeep K, Gurpreet K, Harleen K. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Intern Pharmaceutic Science*. 2011; 1(1): 98-106.
- Rastogi N.K., Opportunities and challenges in application of ultrasound in food processing, *Crit. Rev. Food Sci*. 51 (2011) 705–722.
- Reverchon E, De Marco I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *J. Supercrit Fluids*. 2006;38: 146–66.
- Riesz, P. T. Kondo, Free radical formation induced by ultrasound and its biological implications, *Free Radical Biol. Med*. 13 (1992) 247–270.
- Rostagno M, Palma M, Barroso, C. Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. *J. of chromatography A*. 2003;1012: 119-28.
- Rostagno MA, Juliana M. Prado JM, Kraus GA. Natural Product Extraction: Principles and Applications. *RSC Green Chemistry* 2013;21: 89-119.
- Shams Khaled A., Nahla S. Abdel-Azim, Ibrahim A. Saleh, Mohamed-Elamir F. Hegazy, Mostafa M. El-Missiry and Faiza M. Hammouda Green technology: Economically and environmentally innovative methods for extraction of medicinal y aromatic plants (MAP) in Egypt. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2015, 7(5):1050-107
- Shirsath S, Sonawane S, Gogate P. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations. A review of current status. *Chem Eng and Process*. 2012;53: 10–23.
- Sivakumar V, Verna RV, Rao PG, Swaminathan G. Studies on the use of power ultrasound in solid–liquid myrobalan extraction process. *J Clean Prod*. 2007;15: 1813–8

- Slater CS, Savelski MJ, Carole D, Constable JC. Solvent Use and Waste Issues. En Green Chemistry in the Pharmaceutical Industry. Ed. Dunn PJ, Wells AS, Williams MT. 2010 WILEY-VCH Verlag GmbH y Co. KGaA, Weinheim.
- Vilkhu K, Mawson R, Simons L, Bates D. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry a review. Innovative Food Sci Emerg Technol. 2008;9: 161–9.
- Vinatoru TM, Paniwnyk L, Mason TJ. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. Ultrason Sonochem. 2001;8: 137-42.
- Vinatoru TM. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. Ultrason Sonochem. 2001;8: 303-13.
- Wu CI, Wang YS, Chen NG, Wu CY, Chen CH. Ultrasound ionization of biomolecules Rapid Commun Mass Spectrom. 2010; 24: 2569–74.
- Yolmeh M, Habibi M, Farhoosh R. Optimization of ultrasound-assisted extraction of natural pigment from annatto seeds by response surface methodology. Food Chemistry. 2014;155(5): 319-24.
- Zalua Rodríguez-Riera, Malvis Robaina-Mesa, Ulises Jáuregui-Haza, Alejandro Blanco-González y Jorge E. Rodríguez-Chanfrau, (2014), Empleo de la radiación ultrasónica para la extracción de compuestos bioactivos provenientes de fuentes naturales. Estado actual y perspectivas, Revista CENIC Ciencias Químicas, Vol. 45, pp. 139-147.
- Zheng L., D.W. Sun, Innovative applications of power ultrasound during food freezing processes – a review, Trends Food Sci. Technol. 17 (2006) 16–23

8. DESTILACIÓN MOLECULAR

Jorge Alberto García Fajardo

Lilia Guadalupe Torres Martínez

CIATEJ-Unidad Noreste.

jgarcia@ciatej.mx

Introducción

En el uso de tecnologías innovadoras, la destilación molecular aparece como una alternativa para separar, concentrar y purificar compuestos termosensibles. La destilación molecular, o destilación de vía corta, se ha explorado para algunos aceites cítricos como citronela, limón y naranja (Liu, Xu, & Wang, 2012; P. C. Rossi et al., 2011; Laura P Tovar et al., 2011), aceites vegetales como soya y palma (Meyer et al., 2011; Shi, Posada, Kakuda, & Xue, 2007), en donde un alto vacío y tiempos de residencia cortos en el evaporador son las principales características de este tipo de equipos. Éste proceso ocurre con tiempo de residencia de aproximadamente de 4 a 10 segundos por lo que la baja descomposición térmica es un elemento importante a considerar, además que esta tecnología hace posible la destilación de compuestos naturales como ceras, grasas y aceites que anteriormente se consideraban no destilables.

Por sus características para manejar productos orgánicos de alto peso molecular, sensibles al calor, se aplica en la destilación de aceites de pescados para la separación de ácidos grasos omega-3, separación de tocoferoles y esteroides, y producción de monoestearato de glicerilo.

Funcionamiento

Existen dos tipos de equipos para llevar a cabo una destilación molecular, por caída de película y por película barrida. En el primer tipo se obliga a líquido a fluir a manera de una delgada película sobre una superficie caliente sólida, de esta forma se renueva continuamente

la película en la superficie y al mismo tiempo se mantiene una baja retención del líquido. En el segundo tipo, los destiladores moleculares de película agitada se logra generar una película muy delgada del líquido mediante la acción de un rotor integrado con rodillos, que contribuye a distribuir la película líquida a lo largo del cuerpo del evaporador, éstos usan comúnmente como fuente de calor chaquetas de vapor, resistencias eléctricas o baños de aceite (Green & Perry, 2008; Treybal, 1988).

La formación de la película agitada se logra con una serie de rodillos que giran y se apoyan por fuerza centrífuga barriendo dicha superficie. Las barras ejes de los rodillos van fijadas a un plato superior y otro inferior. El plato superior va sujeto a una brida acoplada a un motorreductor y atraviesa la pared superior del destilador por un sello mecánico, el plato inferior se apoya en el cilindro calefactor y se mantiene centrado. Para asegurarse que los rodillos se apoyen en la pared calefactora, estos tienen un diámetro interior mayor que el diámetro de las barras eje. La fuerza centrífuga se encarga de girarlos y efectuar el barrido del líquido contra la pared de evaporación, la cual está a un alto vacío, inmediatamente después, algunos compuestos a las condiciones de operación pasan al estado gaseoso, dejando la superficie de evaporación y pasando hacia el condensador. En la destilación molecular, dos corrientes son generadas, una con los componentes ligeros los cuales son rápidamente evaporados y condensados en la superficie fría y son recolectados como destilado, y otra con componentes pesados la cual es el líquido no vaporizado y recolectado en otro recipiente.

El tiempo de residencia del líquido que se procesa es menor a un minuto, lo cual reduce al mínimo el periodo de exposición del producto al calor. El otro factor de importancia es la temperatura, que para que sea menor se trabaja con vacíos elevados a una presión absoluta entre 1 y 150 mTorr. Si la presión de operación es suficientemente baja, dicha distancia es del orden del camino libre medio de las moléculas. Esta distancia de acuerdo con la teoría cinética de los gases se define como la distancia entre dos colisiones sucesivas de una molécula y aumenta de forma inversamente proporcional a la presión. Por esta razón, a estos destiladores también se les denomina de camino corto o molecular.

La distancia entre la superficie de evaporación y la de condensación es comúnmente de 10 a 50mm, esto permite que una gran cantidad de moléculas en el estado de vapor, alcancen la superficie fría y condensen rápidamente. En la literatura podemos encontrar frecuentemente que la distancia entre la superficie de evaporación y condensación debe ser menor, o comparable, a la trayectoria libre media de las moléculas evaporadas, para asegurar que el paso de las moléculas a través del espacio entre las superficies caliente y fría sea libre de colisiones. La trayectoria libre media de una molécula se define como: la medida de la distancia que ésta puede viajar antes de chocar con otra.

El funcionamiento del destilador molecular se basa en su simplicidad, eliminando todas las posibles obstrucciones en el diseño manteniendo el camino más corto para que las moléculas del destilando viajen libremente sin obstrucciones que generen una pérdida de carga, sin embargo, en la práctica no es un proceso tan simple y ha propiciado retos y estudios más específicos sobre los materiales a separar. Las moléculas se encuentran en constante evaporación en una proporción indicada por la ecuación de Langmuir (1) proveniente de una ecuación introducida por Knudsen que a su vez se fundamenta en la ley de Maxwell-Boltzmann.

$$n = \frac{pS}{\sqrt{2\pi MRT}} \quad (1)$$

Donde p , S , R y T son la presión de vapor, el área, la constante de los gases, y la temperatura, n y M son el número de moles y peso molecular.

La destilación ocurre a la menor temperatura posible con un alto vacío, es la forma de destilación más simple, ya que el proceso ocurre del evaporador al condensador por un camino sin obstrucciones, la distancia de transferencia del material es comparable a la distancia media de las moléculas. Este movimiento del material se facilita por la temperatura y el vacío, la etapa de condensación puede ser despreciada. La renovación de la superficie ocurre rápidamente bajo la destilación a presión normal, así que normalmente no se incluye este factor en el diseño. A medida que la presión cae, y el peso molecular y la viscosidad del

destilando aumentan y la destilación da lugar a poca evaporación de superficie, llevar el compuesto deseado hasta la superficie se convierte en un factor primordial.

Usualmente, la descomposición térmica está en función de la temperatura y tiempo de exposición, por lo tanto, disminuir la descomposición se logra con un evaporador flash que pueda operar con la capa más delgada de destilado. En la destilación molecular con centrifugación, existe una mejor separación que la que puede ocurrir con la destilación molecular simple. Esto es debido a que las moléculas del destilado dejan la superficie con velocidades promedio de acuerdo a la raíz cuadrada de la temperatura y de los pesos moleculares. Otro factor a considerar es la velocidad tangencial a la cual las moléculas son arrojadas del riel giratorio a la misma velocidad. Las moléculas más pesadas seguirán su recorrido tangencial más lejos que el recorrido de las moléculas más ligeras, esto permitirá una mejor separación.

Ventajas y desventajas

Usar la destilación molecular permite una separación en alto vacío con un tiempo de residencia inferior y por consecuencia menor degradación térmica, pero con una separación de compuestos no tan efectiva como la que sucede en el destilador fraccionado al vacío debido a que en el destilador fraccionado ocurre un enriquecimiento de componentes en la columna. El equipo de destilación molecular es más costoso que el de destilación fraccionada. La distancia entre la zona de calentamiento y el condensador es muy corta en el destilador molecular por lo que ocurren diferenciales importantes de calor con sus respectivas pérdidas energéticas, por lo que resulta recomendable realizar una comparación en costos de energía con respecto a un destilador fraccionado para poder tener una idea más clara de los costos.

Las ventajas de la destilación molecular se resumen de la siguiente manera (Marttinello, Leone, & Pramparo, 2008):

- Bajas temperaturas, reduce el problema de descomposición térmica.
- Alto vacío, que contribuye a eliminar la oxidación que puede ocurrir en presencia de aire.

- Gran potencial de separación, purificación y concentración de productos naturales (sensibles térmicamente y de alto peso molecular).
- Las moléculas llegan a la superficie de condensación en un breve periodo de tiempo.
- Las moléculas que dejan la superficie de evaporación no sufren colisiones por las bajas presiones.

Se pueden lograr altas velocidades de evaporación, que son deseadas, con poca o nula pérdida de material.

El destilador molecular tiene una desventaja en el aprovechamiento de la energía térmica debido a que el condensador está muy cerca del evaporador. Se han hecho intentos por disminuir esta pérdida de calor, una de las formas propuestas fue la de utilizar reflejantes en el evaporador y condensador para que el calor no se transfiriese por radiación, pero el problema que se encontró fue que aún y cuando el evaporador y condensador pudieran ser muy reflejantes, el aceite caliente del evaporador y el frío del condensado son las fuentes emisivas y receptoras de calor más importantes. Por otro lado, el centrifugado en la destilación molecular permite un ahorro de energía, manteniendo la capa de aceite lo más delgada posible evitando que sea una fuente emisiva importante.

Aplicaciones en la industria de aceites y grasas

La destilación molecular ha tenido avances significativos en la separación de compuestos de interés para las industrias químicas, biotecnológicas y de los alimentos. Históricamente, esta operación unitaria tuvo una evolución importante durante los años 1920 a 1940, ya que había materiales que se consideraban no destilables como algunos aceites naturales, grasas, ceras y residuos pesados de petróleo, y al aparecer esta tecnología facilitó la destilación de muchos de estos compuestos lo que provocó un crecimiento en su uso. Cuando se requiere separar y purificar productos orgánicos de elevado peso molecular, una de las dificultades que se tiene es evaporarlos y concentrarlos sin que se afecten sus cualidades por las altas temperaturas que se requieren.

Existen algunos estudios sobre la destilación molecular enfocada a la separación de aditivos tales como glicerol de aceite de hígado de tiburón (Tenllado, Reglero, & Torres, 2011), omega-3 de aceite de calamar (P. Rossi et al., 2014) diacilglicerol de aceites vegetales (Compton, Laszlo, Eller, & Taylor, 2008; Wang et al., 2010).

Por otro lado, se han encontrado patentes orientadas a separar, refinar o limpiar compuestos de alto valor comercial en el área de alimentos y farmacia utilizando destilación molecular, como es la limpieza de aceites cítricos contaminados con pesticidas (Muraldihara, 1996), reducción del contenido de ácidos grasos saturados en la grasa de leche, purificación de vitamina D (Fischer, 1985), producción de ésteres de aceites grasos refinados (Norinobu, Seo, Kaneko, & Mankura, 2003).

Aplicaciones en la industria de los aceites esenciales

Algunos estudios sobre aceites esenciales se han enfocado a la obtención de extractos con alto contenido en citral del aceite esencial de zacate limón (Laura Plazas Tovar, Wolf Maciel, Pinto, Maciel Filho, & Gomes, 2010), fraccionamiento de compuestos terpénicos como el d-limoneno y compuestos oxigenados altamente enriquecido en geranial a partir del aceite esencial del limón (P. Rossi et al., 2014); fracciones del aceite esencial de orégano con capacidad antioxidante (Olmedo, Nepote, & Grosso, 2014); aceite esencial de cidrón (Cerón, Cardona, & Toro, 2012), y separación de fracciones del aceite esencial de naranja (Torres Martinez, 2013).

Estudios previos de fraccionamiento de aceites cítricos mediante destilación señalan la importancia de considerar que el método seleccionado brinde principalmente la oportunidad de trabajar con bajas temperaturas, sin la necesidad de realizar procesos secundarios de purificación, bajo tiempo de permanencia en el evaporador y alto poder de separación. La Tabla 1 muestra los estudios previos realizados para el fraccionamiento de diferentes aceites esenciales cítricos con destilación molecular y destilación fraccionada con columna empacada al vacío.

Tabla 1. Estudios previos de fraccionamiento de aceites cítricos por destilación molecular y columna empacada

Autor	Material de Estudio	Destilación	Factores constantes	Factores controlados	Variable de Respuesta
(Laura P Tovar et al., 2011)	Aceite de zacate limón	Molecular	T _{alim} : 25°C Vel: 1450 rpm P: 0.05torr	T: 60 a 120°C Q: 1.5 a 4.5 mL/min	Citral (geranial y neral)
(P. C. Rossi et al., 2011)	Aceite de limón	Molecular	ND	T: 30°C Q: 0.6 - 1.3 mL/min	Limoneno y geranial
(Liu et al., 2012)	Aceite de naranja	Molecular	Q: 20-30mL/min Vel: 500-600 rpm	T: 60 a 120°C P: 0.019 - 37.5mmHg	Limoneno
(Stuart, Lopes, & Oliveira, 2001)	Aceite de naranja	Columna empacada	ND	T: 50, 65, 80°C P: 10, 20, 30°C RR: 0.25, 0.5, 0.75	Linalol y decanal
(Beneti et al., 2011)	Aceite de citronela y naranja concentrado	Columna empacada	T: 200°C	P: 0.75 - 15 mmHg RR: 1.1 - 10.1	Valenceno

Ejemplo de separación de compuestos terpénicos del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis*)

Uno de los subproductos derivados del procesamiento de cítricos es el aceite esencial. Este subproducto es rico en compuestos bioactivos de gran interés para la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética. En la actualidad, los aceites esenciales cítricos tienen precios de venta inferiores a los precios de un aceite que contiene grupos de compuestos concentrados y dista aún más del precio de venta de las moléculas en un alto porcentaje de pureza. Estos aceites se comercializan en la actualidad como aceite bruto, sin realizar fraccionamientos. Por lo anterior es importante dar valor agregado a los subproductos cítricos obtenidos a nivel nacional, considerando el gran potencial que tiene México en estas materias primas y su poco aprovechamiento integral. Esta investigación pretendió contribuir a generar conocimiento, mediante la remoción y concentración de compuestos terpénicos presentes en el aceite esencial de naranja, usando procesos de separación que permitieran maximizar los compuestos deseables en cada fracción (ligera y pesada). La destilación molecular y la destilación fraccionada con evaporador de película agitada, son tecnologías que tienen el potencial de purificar y concentrar moléculas de manera eficiente y sin daños debido a sus características de operación.

1. Destilación fraccionada con evaporador de película agitada (DFEPA)

El equipo utilizado para esta etapa fue un prototipo híbrido de destilación Wiped Film Evaporator (WFE) modelo ICL-04WR a nivel laboratorio (Figura 1), manufacturados por InCon Process Systems. Este equipo conformado por un evaporador de película agitada con un área superficial de 0.04m², el cual tiene una chaqueta de aceite como medio calentante y en la parte interna cuenta con tres rodillos en paralelo en contacto con la pared del evaporador controlados por un rotor (encargado de hacer girar los rodillos para que se lleve a cabo la formación de la película), cuenta con un codo de 90° que hace la unión entre el evaporador y una columna de 0.6m de altura y un diámetro de 0.28m, el aislamiento térmico de esta columna es mediante una doble pared al vacío y está empacada con anillos rashing de 0.1m, sobre la columna empacada se encuentra un condensador de serpentín, aislado con doble pared al vacío. El sistema tiene una trampa de condensados justo antes de la bomba de vacío

para evitar que vapores lleguen a ésta. La relación de reflujo se controla mediante la acción de una válvula solenoide, la velocidad de alimentación al equipo es regulada mediante una bomba peristáltica y la temperatura del evaporador y condensador son controlados por un recirculador de aceite y un chiller, respectivamente. El sistema de vacío es controlado por una bomba marca Edwards (Figura 1).

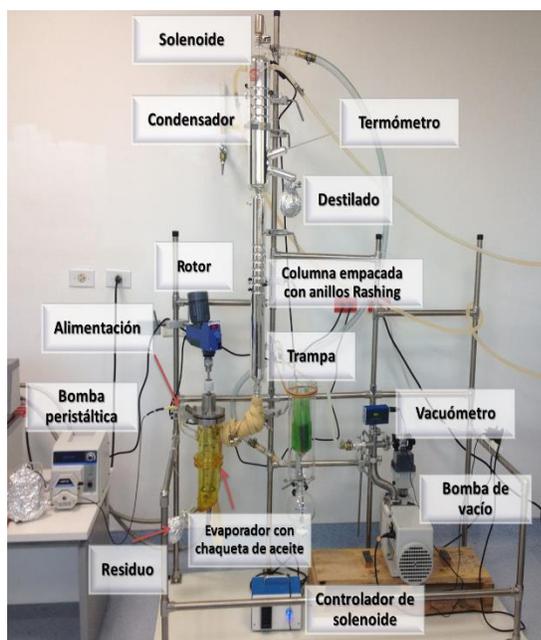


Figura 1. Prototipo híbrido de destilación Wiped Film Evaporator (WFE) modelo ICL-04WR.

2. Destilación molecular

El destilador molecular nivel laboratorio InCon ICL-04A Short Path Distillation (Figura 2) manufacturados por InCon Process Systems, fue el equipo utilizado para las pruebas experimentales de esta etapa. El evaporador de este equipo tiene un área superficial de 0.04 m^2 , está enchaquetado con aceite como medio de calentamiento y en su interior cuenta con pequeños rodillos conectados a un rotor para realizar la formación de la película, al centro del evaporador está un condensador de serpentín con un área de contacto de 0.02 m^2 y los receptores están conectados en la parte inferior del evaporador (uno para el residuo y otro para el destilado). La distancia entre la superficie de calentamiento y la superficie de condensación es de 0.03 m . La alimentación al destilador es regulada mediante una bomba

peristáltica, la temperatura del evaporador y condensador son controlados por un recirculador de aceite y un chiller, respectivamente. Mediante el acoplamiento de una bomba de vacío y una bomba de difusión, se pueden alcanzar presiones operación de 0.001 torr. Las revoluciones por minuto y la temperatura del condensador fueron mantenidas constantes en cada operación, a 300 rpm y 0°C, respectivamente. Al iniciar el flujo de alimentación se observa la formación de una película delgada en la superficie del evaporador, la cual sigue su camino por dicha pared hasta ser colectada en el recipiente de residuo. Al mismo tiempo se observa en el condensador la formación de pequeñas gotas de los compuestos que están siendo evaporados y posteriormente condensados y colectados en el recipiente de destilado (Figura 2).

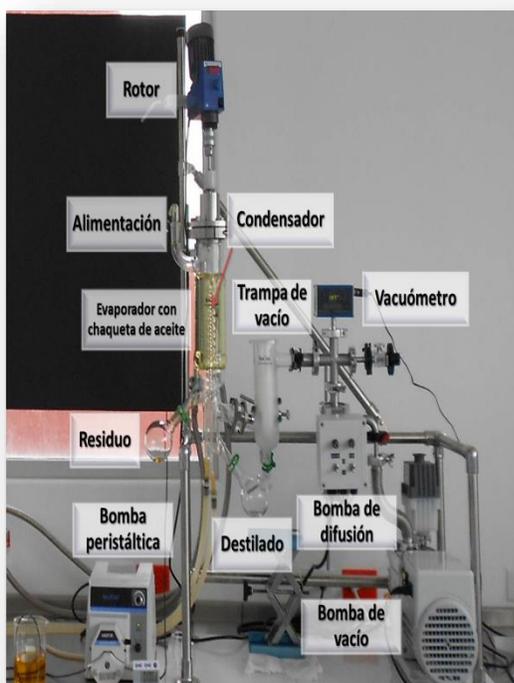


Figura 2. Destilador molecular nivel laboratorio InCon ICL-04A Short Path Distillation

3. *Resultados comparativos de los dos métodos*

Una alternativa aún no explorada en la literatura, son los equipos híbridos de destilación, que por sus características de operación son una opción potencial e innovadora para lograr el objetivo de fraccionar aceites cítricos. El uso de un destilador que integra un

evaporador de película barrida, el cual proporciona bajo tiempo de residencia en contacto con la fuente de calor, unido a una columna empacada puede ser la alternativa para fraccionar aceites esenciales cítricos y así darles un valor agregado.

Se puede concluir que el destilador molecular y el destilador fraccionado con película agitada, son dos equipos que tienen la capacidad de fraccionar aceite esencial de naranja. El proceso de destilación molecular puede considerarse prácticamente un proceso “no térmico”, ya que demostró ser efectivo para concentrar compuestos oxigenados a bajas temperaturas. Sin embargo, si el interés es reducir el porcentaje de estos en la fracción ligera, el DFEPA resulta la opción adecuada, debido a que la columna empacada permite obtener una fracción ligera rectificada, para todos los experimentos realizados en ambos equipos.

Conclusión

Se sugiere realizar diseños experimentales más robustos y con otras condiciones de operación, con el objetivo de evaluar si existen factores y/o interacción que favorezcan la remoción de los compuestos más volátiles que el d-Limoneno. En resumen, con esta investigación se abre un abanico de posibilidades por explorar con estos métodos de destilación de manera combinada. Como se ha comentado, hay moléculas de alto valor comercial en aceites cítricos, y con las concentraciones que se pueden alcanzar en el destilador molecular con una sola etapa de destilación no es suficiente, por lo que cabe la posibilidad de explorar más etapas de destilación, u otros métodos físicos y químicos para lograr purificar moléculas específicas. En materia de investigación científica, resulta interesante modelar estos procesos, existen algunos trabajos para la destilación molecular, pero no para prototipos como el utilizado en este trabajo.

Referencias

- Beneti, S. C., Rosset, E., Corazza, M. L., Frizzo, C. D., Di Luccio, M., & Oliveira, J. V. (2011). Fractionation of citronella (*Cymbopogon winterianus*) essential oil and concentrated orange oil phase by batch vacuum distillation. *Journal of Food Engineering*, 102(4), 348–354. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.09.011>

- Cerón, I. X., Cardona, C. A., & Toro, L. A. (2012). Simulación del proceso de concentración de aceite esencial de Cidrón (*Lippia citriodora*) por destilación molecular de película descendente. *Ingeniería Y Competitividad*, 120(1), 107–120. <https://doi.org/http://hdl.handle.net/10893/5497>
- Compton, D. L., Laszlo, J. A., Eller, F. J., & Taylor, S. L. (2008). Purification of 1,2-diacylglycerols from vegetable oils: Comparison of molecular distillation and liquid CO₂ extraction. *Industrial Crops and Products*, 28(2), 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.01.010>
- Fischer, M. (1985). Purification of vitamin D.sub.3. United States. Retrieved from <http://patft.uspto.gov/netacgi/nph-Parser?Sect1=PTO1&Sect2=HITOFF&d=PALL&p=1&u=%2Fnetacgi/nph-srchnum.htm&r=1&f=G&l=50&s1=4,529,546.PN.&OS=PN/4,529,546&RS=PN/4,529,546>
- Green, D. W., & Perry, R. H. (2008). *Perry's Chemical Engineers' Handbook*. (McGraw-Hill, Ed.) (8th ed.).
- Liu, K., Xu, Y., & Wang, X. (2012). Microencapsulation of sweet orange oil terpeneless using the orifice method. *Journal of Food Engineering*, 110(3), 390–394. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.12.033>
- Martinello, M. A., Leone, I., & Pramparo, M. (2008). Simulation of deacidification process by molecular distillation of deodorizer distillate. *Latin American Applied Research*, 38, 299–304. Retrieved from http://www.laar.uns.edu.ar/indexes/artic_v3804/Vol_38_4_p299.pdf
- Meyer, F., Eggers, R., Oehlke, K., Harbaum-Piayda, B., Schwarz, K., & Siddiqi, M. A. (2011). Application of short path distillation for recovery of polyphenols from deodorizer distillate. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(11), 1363–1374. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000523>

- Muraldihara, H. S. (1996). Removal of pesticides from citrus peel oils. United States.
Retrieved from
<https://docs.google.com/viewer?url=patentimages.storage.googleapis.com/pdfs/US5558893.pdf>
- Norinobu, S., Seo, N., Kaneko, S., & Mankura, M. (2003). Process for producing dietary sterol fatty acid esters. United States. [https://doi.org/10.1016/j.\(73\)](https://doi.org/10.1016/j.(73))
- Olmedo, R., Nepote, V., & Grosso, N. R. (2014). Antioxidant activity of fractions from oregano essential oils obtained by molecular distillation. *Food Chemistry*, *156*, 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.087>
- Rossi, P. C., Willnecker, A. A., Berti, J., Borgarello, A. V., Mezza, G. N., & Pramparo, M. C. (2011). D-limonene and geranial fractionation from lemon essential oil by molecular distillation. *Latin American Applied Research*, *41*, 81–85. Retrieved from <http://www.scielo.org.ar/pdf/laar/v41n1/v41n1a12.pdf>
- Rossi, P., Gayol, M. F., Renaudo, C., Pramparo, M. C., Nepote, V., & Grosso, N. R. (2014). The use of artificial neural network modeling to represent the process of concentration by molecular distillation of omega-3 from squid oil. *Grasas Y Aceites*, *65*(4). <https://doi.org/10.3989/gya.0231141>
- Shi, J., Posada, L. R., Kakuda, Y., & Xue, S. J. (2007). Molecular distillation of palm oil distillates: Evaporation rates, relative volatility, and distribution coefficients of tocotrienols and other minor components. *Separation Science and Technology*, *42*(14), 3029–3048. <https://doi.org/10.1080/01496390701589024>
- Stuart, G. R., Lopes, D., & Oliveira, J. V. (2001). Deterpenation of Brazilian orange peel oil by vacuum distillation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *78*(10), 1041–1044. <https://doi.org/10.1007/s11746-001-0385-x>
- Tenllado, D., Reglero, G., & Torres, C. F. (2011). A combined procedure of supercritical fluid extraction and molecular distillation for the purification of alkylglycerols from

shark liver oil. *Separation and Purification Technology*, 83, 74–81.

<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2011.09.013>

Torres Martinez, L. G. (2013). *Separación de compuestos terpénicos del aceite esencial de naranja (Citrus sinensis) mediante destilación molecular y fraccionada*. Universidad de Guadalajara.

Tovar, L. P., Aucia, G., Pinto, M. F., Wolf-Maciel, M. R., Esar, C., Batistella, B., & Maciel-Filho, R. (2011). Short-Path-Distillation Process of Lemongrass Essential Oil: Physicochemical Characterization and Assessment Quality of the Distillate and the Residue Products. *Ind. Eng. Chem. Res*, 50, 8185–8194.

<https://doi.org/10.1021/ie101503n>

Tovar, L. P., Wolf Maciel, M. R., Pinto, G. M. F., Maciel Filho, R., & Gomes, D. R. (2010). Factorial design applied to concentrate bioactive component of *Cymbopogon citratus* essential oil using short path distillation. *Chemical Engineering Research and Design*, 88(2), 239–244. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2009.07.018>

Treybal, R. E. (1988). *Operaciones de transferencia de masa*. (Mc Graw-Hill, Ed.) (2a ed.).

Wang, Y., Zhao, M., Song, K., Wang, L., Han, X., Tang, S., & Wang, Y. (2010). Separation of diacylglycerols from enzymatically hydrolyzed soybean oil by molecular distillation. *Separation and Purification Technology*, 75(2), 114–120. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2010.08.012>

9. EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

Gustavo Adolfo Castillo Herrera

Tecnología Alimentaria, CIATEJ, A.C.

gcastillo@ciatej.mx

Introducción

En 1822 fue por primera vez reportada la fase supercrítica por el Barón Charles Cagniard de la Tour, en la cual atestiguó visualmente la desaparición de la barrera gas líquido, al calentar ciertos materiales en contenedores cerrados. Los informes consecuentes por Hannay y Hogart (1879) demostraron el poder solvatante del etanol supercrítico ($T_c=243^\circ\text{C}$, $P_c=63\text{ atm}$) para el cloruro de cobalto, cloruro de hierro, bromuro de potasio, y el yoduro de potasio ciertos sólidos. Ellos descubrieron que el incremento en la presión del etanol provocaba que los solutos se disolvieran y que una disminución en la presión causó que los materiales disueltos precipitaran repentinamente. Años después, se demostró que las solubilidades de ciertos materiales orgánicos no volátiles en CO_2 en condiciones supercríticas eran superiores por órdenes de magnitud a las esperadas en base a las presiones vapores de los compuestos puros (Yu, 2007).

En el siglo XX la extracción con fluidos supercríticos era una técnica descuidada, no existía un interés en las bases y fundamentos del proceso, en cambio los esfuerzos se encaminaban a desarrollar nuevas aplicaciones para ésta. En 1964, la patente de Zosel promovió un desarrollo significativo para la extracción mediante fluidos supercríticos en lo que respecta a la química del proceso. Esta patente consistía en la descafeinización del café verde con CO_2 supercrítico, donde los granos se remojan en agua previamente para después ser sumergidos en CO_2 supercrítico.

Desde 1980, las aplicaciones para la extracción con fluidos supercríticos aumentaron en cantidad y en variedad, por ejemplo se empleó para la extracción de lúpulo (Laws y col., 1980), la remoción del colesterol de la mantequilla (Krukonis, 1988), para desarrollar perfumes y esencias a partir de productos naturales (Coenen y col., 1983), la obtención de ácidos grasos insaturados del aceite de pescado (Krukonis Val, 1988), de fotoquímicos a partir de frutas y otras fuentes vegetales (Rozzi y col., 2002).

En la actualidad se estudia la aplicación de los fluidos supercríticos en las siguientes áreas: descontaminación de suelos, reacciones químicas y de síntesis de químicos orgánicos, remoción de cafeína en café, limpieza de partes electrónicas, etc. (Yu, 2004).

Propiedades de los fluidos supercríticos

Un fluido supercrítico (FSC) es cualquier compuesto a una temperatura y presión por arriba de su punto crítico. En este punto el compuesto es compresible, se comporta como un gas; características que no tiene cuando está en estado líquido (fluido no compresible que ocupa el fondo del contenedor). No obstante tiene la densidad de un líquido y por lo tanto su poder disolvente (Luque de Castro y col., 1993).

En el diagrama de fases de la Figura 1 el punto crítico (PC) se encuentra marcado al final de la curva del equilibrio líquido-gas, y el área sombreada indica la región de fluido supercrítico. El punto crítico de un compuesto se encuentra en la intersección de la temperatura y la presión crítica (Bhimanagouda y col., 2006).

Temperatura crítica: Por arriba de esta temperatura el componente gaseoso del compuesto puro no puede ser licuado sin importar la presión aplicada.

Presión crítica: Por encima de esta presión, el componente líquido del compuesto puro no puede ser evaporado sin importar la temperatura aplicada.

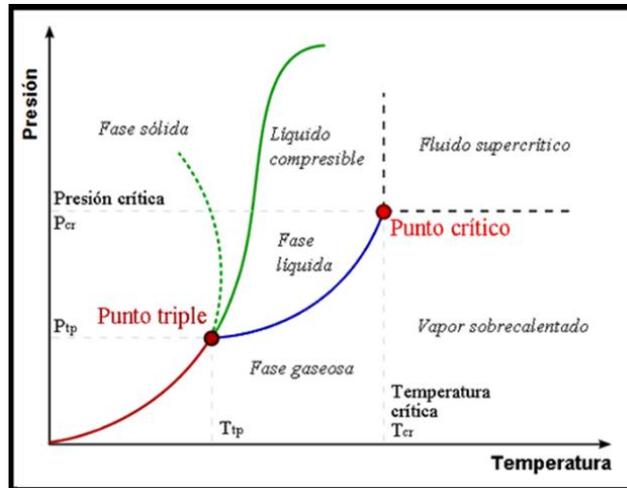


Figura 1. Diagrama de fases sólido/líquido/gas/fluido supercrítico.

PT: punto triple; PC: punto crítico; P_c: presión crítica; T_c: temperatura crítica disolvente

El comportamiento de un fluido en estado supercrítico puede ser descrito como el de un líquido muy móvil. Su solubilidad se aproxima a la de la fase líquida mientras que su penetración en una matriz sólida se facilita debido a su alta difusividad y baja viscosidad. Como consecuencia, las velocidades de extracción y separación de fases pueden ser significativamente más rápidas para los procesos de extracción convencionales (Bhimanagouda y col., 2006). Las características de un fluido supercrítico se resumen en la Figura 2.

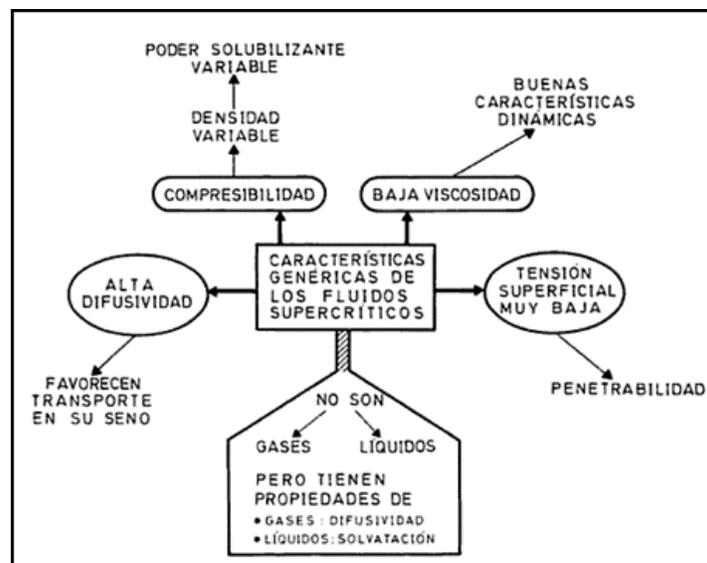


Figura 2. Panorama general de las características más sobresalientes de los fluidos supercríticos

La extracción por fluidos supercríticos es dependiente de la densidad del fluido, la cual a su vez es manipulada mediante el control de la presión y temperatura del sistema. El principio básico de la extracción con FSC es que la solubilidad de un compuesto dado (solute) en un solvente varía con ambas: presión y temperatura. A condiciones ambientales la solubilidad de un soluto en un gas usualmente está relacionada directamente con la presión vapor del soluto y es generalmente despreciable. Sin embargo, en un FSC se han reportado solubilidades de hasta 10 órdenes mayores que las predichas por la ley de los gases ideales (Simándi y col., 2009).

Una isoterma de solubilidad típica en la región supercrítica presenta una forma sigmoidea (Figura 3) Esto indica un incremento exponencial en la solubilidad del fluido hacia un compuesto en particular a una temperatura constante. Estas condiciones incrementan la posibilidad de extraer cierto tipo o grupo de compuestos eligiendo temperaturas y presiones donde la solubilidad para estos compuestos se maximiza. Cambiando estas condiciones cambiará la selectividad para diferentes compuestos (Bhimanagouda y col., 2006)

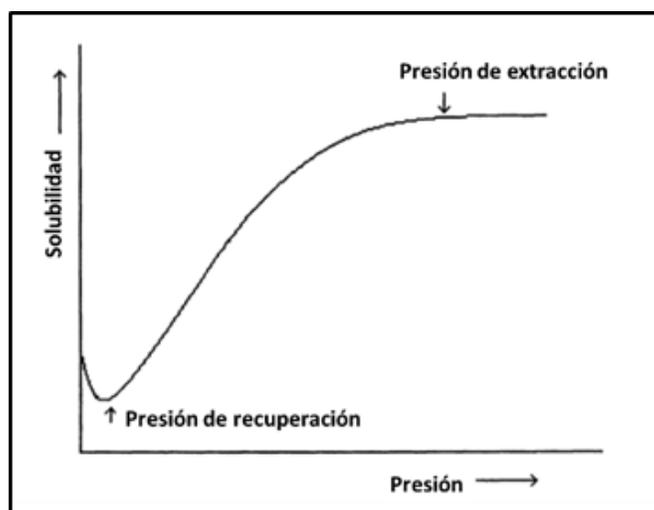


Figura 3. Solubilidad de un soluto en función de la presión a temperatura constante

Dicho comportamiento sigmoideo de la solubilidad permite la fácil recuperación de los compuestos disueltos. Cerca del punto crítico, el calor latente de vaporización es muy bajo, esto quiere decir que la separación del producto de una extracción es simple y consume muy

poca energía (Bhimanagouda y col., 2006). En la tabla 1 se muestran los fluidos supercríticos comúnmente utilizados, así como sus parámetros críticos.

Dióxido de carbono como solvente supercrítico

De entre todos los fluidos supercríticos el CO₂ ha sido mayormente estudiado y aplicado debido a sus bajos parámetros críticos (31.1°C, 73.8 bar). A que es un gas económico, de fácil disponibilidad en estado puro, no tóxico y no flamable (Lang y col., 2001; Bhimanagouda y col., 2006; Yu, 2004). Además de las características propias de los fluidos supercríticos, la baja temperatura crítica de dióxido de carbono lo convierte en un solvente adecuado para compuestos termo-sensibles. Por otro lado, el uso del CO₂ como solvente propicia una condición anaeróbica para los compuestos altamente insaturados. Desde el punto de vista del proceso, manejar el CO₂ es seguro y no existen problemas de residuos de solvente en los productos finales (Bhimanagouda y col., 2006).

Tabla 1. Fluidos supercríticos comúnmente usados.

COMPUESTO	TEMPERATURA CRÍTICA (K)	PRESIÓN CRÍTICA (BAR)
Dióxido de carbono	304.1	73.8
Etano	305.4	48.8
Etileno	282.4	50.4
Propano	369.8	42.5
Propileno	364.9	46.0
Trifluorometano	299.3	48.6
Clorotrifluorometano	302	38.7
Amoniacó	405.5	113.5
Agua	647.3	221.2
Ciclohexano	553.5	40.7
n-Pentano	469.7	33.7
Tolueno	591.8	41.0

(Yu, 2004)

Cuando se considera la estructura química y orientación de los átomos en la molécula del CO₂, posee dos átomos de oxígeno ligados a un átomo de carbono de manera

perfectamente simétrica, esto lo convierte en un solvente no polar que puede ser utilizado para la extracción de solutos no polares. A fin de incrementar la polaridad del CO₂ supercrítico regularmente se utiliza un co-solvente en cantidades pequeñas (1-5% mol). El sistema de co-solvente se encuentra en un estado supercrítico cuando la presión y la temperatura se encuentran por arriba del punto crítico de la mezcla, que usualmente no son muy diferentes a los valores para el CO₂ puro (Bhimanagouda y col., 2006).

Trabajos recientes de extracción a partir de cítricos utilizando CO₂ supercrítico han reportado la viabilidad para la extracción de limonoides y flavonoides a partir de las semillas y los subproductos de éstos (Yu, 2004).

Proceso de extracción supercrítica

Un proceso de extracción supercrítica consiste en dos pasos (Figura 4): La extracción del componente soluble en el solvente supercrítico y la separación del soluto extraído del solvente. La matriz de extracción puede ser sólida líquida o viscosa (Martínez, 2007).

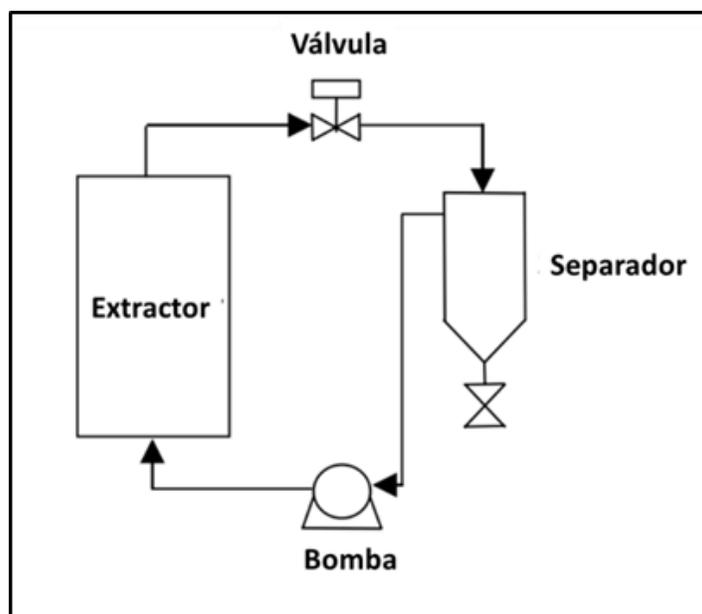


Figura 4. Diagrama básico para una extracción supercrítica

La forma en que opera el sistema se resume a continuación. El material a extraer se coloca dentro del extractor, después se hace pasar el fluido supercrítico dentro del recipiente de extracción mediante una bomba de solvente. El sistema se presuriza hasta alcanzar la presión y la temperatura de extracción, aquí el solvente solubiliza los componentes afines de la matriz; en ese momento se hace fluir lentamente el solvente fuera del recipiente de extracción hacia el separador, manteniendo la presión y la temperatura en el sistema. Una vez en el recipiente de separación la caída de presión provoca que el fluido cambie de fase y se separe abruptamente de los componentes disueltos para poder ser recuperados fácilmente, y el solvente pueda ser recirculado al sistema y poderse reutilizar.

Dependiendo del objetivo de la extracción se pueden presentar dos escenarios (Martínez, 2007):

- 1) Separación del material portador. En este caso el material de alimentación es el producto final después de la remoción de compuestos indeseables.
- 2) Separación del material extraído. El compuesto extraído del material de alimentación constituye el producto final.

Algunas de las ventajas y desventajas de la extracción por solventes supercríticos en comparación con los métodos convencionales se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Ventajas y desventajas de la extracción supercrítica.

Ventajas	Desventajas
Debido a su baja viscosidad y alta difusividad, el fluido supercrítico puede penetrar dentro de un sólido poroso con mayor facilidad, lo que resulta en una extracción más rápida.	Debido a la naturaleza del proceso se requieren presiones elevadas para llevar a cabo la extracción.
La disolución del FSC es controlado en función de la presión y/o temperatura.	Alta inversión de capital para el equipo y mantenimiento.
En la extracción supercrítica se hace pasar fluido fresco a través de la muestra continuamente.	La compresión del solvente requiere medidas elaboradas de recirculación para reducir los costos energéticos.
Los FSC son fácilmente recuperados del extracto mediante despresurización.	
Los compuestos termolábiles pueden ser extraídos sin daño alguno debido a las bajas temperaturas empleadas.	
La extracción supercrítica utiliza solventes no hostiles con el medio ambiente.	
El FSC puede ser reciclado o reusado, minimizando la generación de desperdicios.	

(Lang y col., 2001; Simándi y col., 2009).

La temperatura, la presión y el tiempo de operación son factores característicos de la matriz, del solvente a utilizar y del componente a extraer. Investigaciones previas utilizando CO₂ en estado supercrítico recomiendan, para las semillas cítricas, una presión de extracción en el

rango de 350 – 400 bar y una temperatura entre 40 – 60°C con un tiempo de extracción de aproximadamente 2 h (Martínez, 2007; Ueno y col., 2008; Yu y col., 2007).

A nivel industrial, la extracción con fluidos supercríticos ha sido empleada en el desarrollo y comercialización de una gran variedad de procesos dentro del ramo alimenticio, ambiental, extracción de productos naturales y la industria farmacéutica, por mencionar algunas (Herrero y col., 2010).

El uso del dióxido de carbono en estado supercrítico ha demostrado ser un método efectivo para la obtención de moléculas bioactivas a partir de fuentes vegetales, por ejemplo la extracción de β -sitosterol, vitamina E y escualeno de las semillas del yuzu (*Citrus junos*) (Ueno y col., 2008), varios flavonoides tales como la naringina se lograron extraer de la cáscara de la toronja (*Citrus paradisi*) en un menor tiempo y uso de solvente que las técnicas convencionales (Giannuzzo y col., 2003). En estudios recientes se han aislado con éxito isoflavonas, carotenoides, ácidos grasos de diferentes matrices naturales (Herrero y col., 2010). La extracción con CO₂ supercrítico es un método particularmente efectivo para aislar triterpenos, entre éstos la limonina en un tiempo corto de proceso (2 horas en promedio) y un rendimiento equiparable al obtenido por el método clásico de solventes, además de no utilizar solventes tóxicos, por lo que es un proceso sustentable desde el punto de vista ambiental (Chen y col., 2007; Hsu y col., 2001; Yu y col., 2007).

Bibliografía

Hannay, J. B., y Hogarth, J. (1879). “On the solubility of solids in gases”. Proceedings of the royal society of London, Vol.30 (200-205), 178-188.

Yu, J., Dandekar, D. V., Toledo, R. T., Singh, R. K., y Patil, B. S. (2007). “Supercritical fluid extraction of limonoids and naringin from grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) seeds”. Food Chemistry, 105(3), 1026-1031.

Laws, D. R. J., Bath, N. A., Ennis, C. S., y Wheldon, A. G. (1980). U. S. Patent.

- Krukonis Val, J. (1988). "Processing with Supercritical Fluids Supercritical Fluid Extraction and Chromatography", Vol. 366, pp. 26-43: American Chemical Society.
- Coenen, H., Hagen, R., y Knuth, M. (1983). U. S. Patent
- Rozzi, N. L., Singh, R. K., Vierling, R. A., y Watkins, B. A. (2002). "Supercritical Fluid Extraction of Lycopene from Tomato Processing Byproducts". J. of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 50 (9), 2638-2643.
- Yu, J. (2004). "Citrus Limonoids And Flavonoids: Extraction, Antioxidant Activity And Effects On Hamster Plasma Cholesterol". Doctor Of Philosophy, Texas A&M University
- Luque de Castro, M. D., y Valcárcel, M. (1993). Extracción con Fluidos Supercríticos en el Proceso Analítico: Reverté.
- Bhimanagouda Patil, S., Brodbelt Jennifer, S., Miller Edward, G., y Turner Nancy, D. (2006). "Potential Health Benefits of Citrus: An Overview Potential Health Benefits of Citrus" Vol. 936, pp. 1-16: American Chemical Society.
- Simándi, B., y Sawinsky, J. (2009). Supercritical fluid extraction: Introduction of the physico-chemical properties of the supercritical fluids. Consultado 20 de agosto, 2012, de <http://sfe.vemt.bme.hu/angol/supercritical.html>
- Lang, Q., y Wai, C. M. (2001). "Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies a practical review". Talanta, Vol. 53 (4), 771-782.
- Martínez, J. L. (2007). Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds: CRC Press.
- Ueno, H., Tanaka, M., Machmudah, S., Sasaki, M., y Goto, M. (2008). "Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Valuable Compounds from Citrus junos Seed". Food and Bioprocess Technology, Vol. 1(4), 357-363.

- Herrero, M., Mendiola, J. A., Cifuentes, A., y Ibáñez, E. (2010). “Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications”. *J. of Chromatography A*, 1217(16), 2495-2511. doi: 10.1016/j.chroma.2009.12.019
- Giannuzzo, A. N., Boggetti, H. J., Nazareno, M. A., y Mishima, H. T. (2003). “Supercritical fluid extraction of naringin from the peel of *Citrus paradisi*”. *Phytochemical Analysis*, Vol. 14(4), 221-223.
- Hsu, R. C., Lin, B. H., y Chen, C. W. (2001). The Study of Supercritical Carbon Dioxide Extraction for *Ganoderma Lucidum*†. *Industrial y Engineering Chemistry Research*, Vol. 40(20), 4478-4481.
- Chen, Y., Xie, M.-Y., y Gong, X.-F. (2007). “Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from *Ganoderma atrum*”. *J. of Food Engineering*, Vol. 81(1), 162-170.

10. LA ENERGÍA DE MICROONDAS Y LIXIVIACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

Eristeo García Márquez

Unidad noreste. CIATEJ, A.C.

egarcia@ciatej.mx

Introducción

La radiación electromagnética es un conjunto de formas de energía. Nuestro planeta está rodeado muchos tipos de radiación; rayos x, ultravioleta, visible, infrarrojo, microondas y, de radio. Tienen un amplio intervalo de longitudes de onda electromagnética. Es evidente que no todas penetran la atmósfera de la tierra, sólo las ondas de radio y la radiación visible. Estas últimas, son una pequeña porción del espectro electromagnético. La onda electromagnética de radiación de microondas es no ionizante. La cual se caracteriza por su intensidad, frecuencia, tiempo, campo eléctrico y magnético. La radiación de microondas se encuentra entre las ondas de radio e infrarrojo. El espectro electromagnético de microondas esta representado entre las frecuencias de 300 MHz a 300×10^3 MHz (300 GHz). Una fracción de esta frecuencia, 915 MHz ha sido considerada para aplicaciones industriales ($\lambda_{915\text{nm}} = 0.122$ m), especialmente por su poder de penetración en los productos. Mientras que 2450 MHz ($\lambda_{2450\text{nm}}=0.328$ m) utilizada para uso hornos de uso doméstico, para equipos de laboratorio con propósitos extracción de compuestos bioactivos y, análisis químico (Routray y Orsat, 2012; Singh y Heldman, 2001).

Inicialmente la tecnología de microondas ha utilizada en dispositivos para la localización por radar, equipo de navegación, y comunicación (regulados por agencias gubernamentales). Los hornos convencionales suministran radiación de microondas aproximadamente a 2450 MHz, radiación que transcurre 4.9×10^9 veces por segundo. La energía de microondas puede concentrarse

en forma de varios haz de microondas, y transmitirse a través de tubos al vacío(Kaufmann y Christen, 2002; Thostenson y Chou, 1999).

Transmisión energía

La transmisión de energía de microondas, depende del material. La energía puede ser reflejada o absorbida. El vidrio translucido puede transmitir la energía de microondas sin modificar prácticamente la cantidad de energía debido a absorción, al igual que la cerámica y materiales termoplásticos. Aunque la difusión de microondas puede cambiar la dirección del haz de energía, similarmente, como ocurre cuando un rayo de luz pasa entre el aire al agua(Singh y Heldman, 2001). El resultado de absorción de microondas por un material dieléctrico, es que la primera cede su energía al material y, tiene como efecto resultante, el calentamiento rápido del producto. Principalmente en materiales que tienen constantes dieléctricas altas, producen mayor conversión a energía térmica. Ocasionan un estrecho movimiento de vibración molecular, al ponerse en contacto con un campo eléctrico alterno, donde los enlaces de baja energía de hidrógeno se rompen, a diferencia del método clásico de calentamiento por conducción. Porque la energía liberada interacciona directamente con el campo eléctrico aplicado y calienta uniformemente toda la muestra simultáneamente (Thostenson y Chou, 1999). Dos mecanismos importantes, explican la generación de calor: la polarización iónica, rotación dipolar y, las moléculas libres. Ambos efectos, aumentan su estado de vibración cinética y choque entre ellas, generando aumento de temperatura en el producto. Aunque se menciona que, en sistemas con alta viscosidad, el rompimiento de los enlaces de hidrógeno disminuye(Kaufmann y Christen, 2002; Thostenson y Chou, 1999) , retardando el proceso de calentamiento y prolongando el tiempo de tratamiento. Aún así, la naturaleza química del medio acuoso promueve mayor lixiviación que los métodos tradicionales, debido en movimiento molecular, ocasionado por el calor. En consecuencia, los fenómenos de solvatación son mayores, liberando mayor cantidad de principios activos, contenidos en los productos tratados. El suministro de radiación de microondas sobre productos con alta concentración de agua, produce mayor rapidez de vibración molecular, misma que se transforma en calor. El calor acumulado en las muestras tratadas, aumentan la lixiviación de los componentes, liberándolos en el medio acuoso utilizado. La lixiviación es proporcional, respecto de la cantidad de material, morfología, tamaño y distribución de las partículas sometidas a proceso.

El calentamiento inducido por microondas se transfiere hacia el interior del producto por conducción.

Adsorción Energía

La capacidad de los solventes para absorber energía de microondas depende de un factor de disipación energético $\tan(\delta)$. El cual, es una relación entre la capacidad de pérdida dieléctrica ϵ'' (una medida de eficiencia de convertir energía de microondas en calor) y la constante dieléctrica ϵ' (una medida de la polarizabilidad de una molécula en un campo eléctrico). La naturaleza química de los solventes tiene un momento dipolar particular. Los alcoholes de cadena lineal y de no más de 4 átomos de carbono, y soluciones iónicas (usualmente ácidos), absorben la energía de microondas debido a su alta polarización, mientras que, los solventes no polares, no modifican su estado de vibración cuando es utilizada la energía de microondas (Madej, 2009).

Microondas y extracción de bioactivos

La tecnología de radiación por microondas ha sido considerada, un método alternativo para aislar compuestos bioactivos. Se caracteriza como una herramienta útil porque acelera el proceso de extracción y reduce el consumo de solventes. Es un método de pasteurización, pre-tratamiento previo de proceso y puede aplicarse controlando la ausencia de luz (Suhaj, 2006). Tecnología con mayor ventaja a aquellas convencionales, cuando se aplica en la obtención de compuestos sensibles a medios ambientes degradativos. Principalmente, en la extracción de compuestos bioactivos obtenidos de plantas, frutos, semillas y otros materiales de interés. Los compuestos bioactivos son de interés tecnológico y científico por sus efectos antioxidantes, sustancias anti-flogísticas, anti-microbianos, antimicóticos, anti-cancerígenos, anti-piréticos, etc. Entre los compuestos fenólicos de interés se encuentran por ejemplo, ácidos hidroxibenzoicos (ácido gálico, ácido protocatequico, ácido clorogénico y ácido cafeico) (Xia y col., 2010), alilbencenos, o-naftoquinonas, contenidos principalmente en extractos de *Silybum aromaticum*, diterpenos fenólicos contenidos en *Rosmarinus officinalis*. Difenilheptanoides en el tubérculo de *Zingiber officinale* y en *Curcumina longa L* (Mandal y col., 2008) . Alcaloides, feruperina una amida fenólica determinada en la *Piper nigrum* o monoterpénos fenólicos contenidos en el *Origanum vulgare* (Pan y col., 2003; Suhaj, 2006). La tecnología de microondas mejora el rendimiento y

tiempo de extracción. Por ejemplo, Pan et al., (2003) (Pan y col., 2003) , menciona que la extracción de compuestos fenólicos y cafeína a temperatura ambiente, utilizando etanol/agua (1:1, v/v) fueron necesarios 4 min de extracción para obtener 77% de polifenoles y 4% de cafeína. Mientras que la extracción a reflujo por el método kjeldahl, obtuvo 72% de polifenoles y 9% de cafeína con un tratamiento por 45 min. La reducción de tiempo de extracción es evidente, reduciendo la degradación de los compuestos fenólicos, por efectos de factores ambientales. Factores que pueden catalizar la transformación de los compuestos activos a inactivos. La reducción de tiempo de extracción con la tecnología de microondas asistida, permite reducir los efectos adversos; oxidación, deterioración de color, sabor y textura (Suhaj, 2006).

En la última década, ha sido aplicada como una tecnología alternativa con fines científicos, para acelerar los procesos de extracción y síntesis de compuestos químicos. La aplicación de microondas como una tecnología emergente, ha reducido el tiempo de obtención de compuestos y productos, comparados con los procesos tradicionales, sin modificar sustancialmente las propiedades fisicoquímicas de estos (Thostenson y Chou, 1999).

La extracción asistida por microondas (EAM), ha sido aplicada también en los métodos de química analítica. Se ha evidenciado que las extracciones y disociaciones de las matrices son más eficientes cuando se aplica la energía de microondas. Especialmente para la extracción de sustancias de interés, análisis de suelos, semillas y matrices de origen alimenticio (Li y col., 2004).

La combinación de potencia energética de microondas, tiempo, concentración producto/disolvente, estructura y características morfológicas de las muestras, son parámetros especialmente sensibles para extraer los compuestos bioactivos de las materias primas y obtenerlos relativamente puros (Suhaj, 2006). Por lo que, se reconoce como una técnica de extracción eficiente, que reduce los tiempos de extracción e incrementa los rendimientos y calidad de los principios activos (Cravotto y col., 2008).



Figura 1. Aplicación de la tecnología de microondas en procesos alimenticios a nivel experimental e industrial (Kaufmann y Christen, 2002; Wojdyło y *col.*, 2009).

Una forma de conservar los alimentos, ha sido el proceso de deshidratación por medio de calor convectivo. Pero, el tiempo de secado y alta temperatura del aire utilizado, usualmente disminuye la calidad de los productos obtenidos. El proceso de microondas y vacío, aplicados principalmente en frutas elimina el agua rápidamente debido a una diferencia de presión entre la superficie y el producto. Conservando color y textura de arándanos comparados con el método tradicional. Por ejemplo, se ha observado menor reducción de vitamina C en bayas, y alto contenido de compuestos fenólicos en fresas, cuando los resultados se comparan con el proceso de secado por convección. Por ejemplo el mango Kent deshidratado a 480 W, conserva 84% de su actividad antioxidante determinada con DPPH y 78% de vitamina C, cuando se compara con la fruta fresca, pero solo conserva el 62% de su actividad antioxidante y 28% de vitamina C, cuando es deshidratado por secado tradicional (Wojdyło y *col.*, 2009).

Aplicación microondas y perspectivas

El estudio de la radiación electromagnética de microondas ha sido un campo ampliamente explotado. Lo demuestran diversos trabajos científicos, donde ésta tecnología ha sido aplicada. Sin embargo, existen retos de aplicación en las áreas del conocimiento biológico y alimenticio. Sobre todo, discernir los parámetros involucrados cuando se trata de compuestos bioactivos. Diversos autores coinciden que es necesario, estudiar tiempo de extracción, la relación compuestos bioactivos-solvente de extracción, potencia de radiación electromagnética de microondas, la naturaleza química de las matrices que contienen los principios bioactivos, las propiedades fisicoquímicas de los compuestos bioactivos y, las propiedades de disolventes, cruciales en la obtención de productos funcionales. Además, debe controlarse el exceso de radiación, parámetro de especial importancia. Un exceso de exposición inactiva los principios bioactivos. Por ejemplo, reduce la actividad antioxidante, monitoreada por medio de DPPH y ABTS.

Basado en Flores y colaboradores (Flórez y *col.*, 2015), existe una regla ampliamente conocida, los compuestos hidrófobos son solubles en disolventes hidrófobos o poco polares. Ello explicaría que la polaridad permite realizar extracciones selectivas. La solubilidad es dependiente de la estructura del soluto y disolvente. La modificación de temperatura, puede potenciar la extracción, pero también promueve la hidrólisis, oxidación e isomerización de los componentes de interés. La difusión de los compuestos bioactivos obtenidos aplicando la tecnología de microondas (Cardoso-Ugarte y *col.*, 2014), puede ser considerablemente mayor, cuando se compara con los métodos de extracción convencional. Pero, el exceso de exposición, incrementa la temperatura de manera simultánea, y los rendimientos de extracción podrían disminuir, debido a degradación térmica. Lo anterior, implica que la extracción por radiación electromagnética de microondas puede ser una tecnología altamente útil, siempre que sea utilizada en condiciones controladas (Tsukui y *col.*, 2014), para obtener productos químicos naturales, en el menor tiempo, reduciendo la cantidad de disolventes.

Tabla 1. Ejemplos representativos de procesos de radiación por microondas utilizado en la extracción de compuestos bioactivos.

Compuestos/matrices	Sistema	Condiciones de extracción	Conclusiones	Referencia
Efecto de solventes en la extracción por microondas de compuestos fenólicos de <i>Eucommia ulmoides</i>	Extracción por microondas.	Metanol:agua:ácido acético (2:8:0.3,v/v). 1 g muestra/ 10 mL de disolvente y 0.2 mm tamaño de partícula. Microondas al 50% de potencia. Potencia (10, 30, 50, 70 y 90% de valor nominal), 30 s de radiación.	La polaridad de los bioactivos y propiedades de disolventes, especialmente las constantes dieléctricas son de gran importancia.	Li <i>et al.</i> , 2004
Aislamiento de antioxidantes y su actividad antirradical: una revisión	Extracción por microondas	Extracción por disolventes: ácido tricloroacético, metanol, diclorometano, acetato de etilo, éter de petróleo, etc. En comparación con microondas.	El aislamiento de antioxidantes derivados de fuentes vegetales debe estandarizarse para evitar el deterioro químico por radiación por microondas.	Suhaj, 2006.
Extracción asistida por microondas de <i>curcumina</i> por mecanismo muestra-solvente usando un diseño ortogonal de Taguchi L ₉	Extracción asistida por microondas	2 g de muestra en polvo fue humedecida con metanol (8, 4 y 2 mL) durante 10 min. Adicionó 40 mL de acetona. Condiciones de extracción: potencia (20, 40 y 60%) de irradiación, tiempo de irradiación (1, 2 y 4 min), tamaño de partícula (40, 20 y 10).	Extracción convencional vs microondas. Los parámetros: tiempo de irradiación, potencia de microondas, tamaño de partícula, relación muestra/solvente son de crucial importancia.	Mandal <i>et al.</i> , 2008
Procedimiento para la extracción de fucoidano de algas oscuras.	Extracción por ultrasonido y microondas	Comparación de extracción clásica: Agua caliente (70-100°C) durante varias horas. pH ácido o básico, neutralizar. Purificar. La extracción sucesiva vs microondas-ultrasonido. Una muestra es tratada entre 120 psi por 1 min, basado en Rodríguez-Jasso, <i>et al.</i> Luego se aplicó ultrasonido.	Rendimiento de 18.22% en base seca. Comparable con el método clásico a 70°C. La purificación fue reproducible y eficiente utilizando la tecnología de microondas-ultrasonido.	Hahn <i>et al.</i> , 2012

Tabla 1. Continuación.

Compuestos/matrices	Sistema	Condiciones de extracción	Conclusiones	Referencia
Modificación estructural por diferentes pre-tratamientos para potenciar la extracción de carotenoides de zanahoria.	Comparación entre: Extracción asistida por microondas, y soxhlet.	Pre-tratamiento con ácido cítrico (32.08 y 61.62 mg/100 g BS), pH 5. Mezcla de extracción: 50%(v/v) hexano, 25%(v/v) acetona y 25%(v/v) etanol, T≈58°C, 2 g muestra (tamaño: 1.4 a 2 mm)/75 mL solvente. Condiciones microondas: 100, 180 y 300 W, t: 1, 3 y 5 min. Solvente, muestra y temperatura fueron similares, extracción soxhlet 6 h.	Potencia de 0.89 w/g, t= 3 min, permitió obtener 20% menos carotenoides que el tratamiento con soxhlet. 10% menor actividad antioxidante con DPPH y 65% menos con ABTS. El proceso de radiación con microondas afecta la calidad de los productos bioactivos.	Hiranvarachatt et al., 2013
Influencia de tratamiento de microondas en colza en el contenido de compuestos fenólicos y canolol.	Evaluación de tratamiento con microondas en compuestos fenólicos.	400 g muestra fueron tostados con microondas (2450 MHz), entre 1 a 8 min. Luego se realizó la extracción de aceite por prensado, comparado con muestra sin tratamiento.	El pre tratamiento de radiación en semillas de colza beneficia la estabilidad oxidativa del aceite obtenido. Los autores no explican porque disminuyen los compuestos fenólicos después de 2 min de tratamiento con microondas.	Yang et al., 2014

Referencias

- Cardoso-Ugarte, G., Sosa-Morales, M., Ballard, T., Liceaga, A., ySan Martín-González, M. (2014). Microwave-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris*). *LWT-Food Science and Technology*, 59(1), 276-282.
- Cravotto, G., Boffa, L., Mantegna, S., Perego, P., Avogadro, M., yCintas, P. (2008). Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. *Ultrasonics sonochemistry*, 15(5), 898-902.
- Flórez, N., Conde, E., yDomínguez, H. (2015). Microwave assisted water extraction of plant compounds. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 90(4), 590-607.
- Kaufmann, B., yChristen, P. (2002). Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical analysis*, 13(2), 105-113.
- Li, H., Chen, B., Nie, L., yYao, S. (2004). Solvent effects on focused microwave assisted extraction of polyphenolic acids from *Eucommia ulmoides*. *Phytochemical analysis*, 15(5), 306-312.
- Madej, K. (2009). Microwave-assisted and cloud-point extraction in determination of drugs and other bioactive compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28(4), 436-446.
- Mandal, V., Mohan, Y., yHemalatha, S. (2008). Microwave assisted extraction of curcumin by sample-solvent dual heating mechanism using Taguchi L 9 orthogonal design. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 46(2), 322-327.
- Pan, X., Niu, G., yLiu, H. (2003). Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 42(2), 129-133.
- Routray, W., yOrsat, V. (2012). Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 409-424.
- Singh, R. P., yHeldman, D. R. (2001). *Introduction to food engineering*: Gulf Professional Publishing.
- Suhaj, M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food composition and Analysis*, 19(6), 531-537.
- Thostenson, E., yChou, T.-W. (1999). Microwave processing: fundamentals and applications. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 30(9), 1055-1071.

- Tsukui, A., Júnior, H. S., Oigman, S., De Souza, R., Bizzo, H., y Rezende, C. (2014). Microwave-assisted extraction of green coffee oil and quantification of diterpenes by HPLC. *Food chemistry*, 164, 266-271.
- Wojdyło, A., Figiel, A., y Oszmiański, J. (2009). Effect of drying methods with the application of vacuum microwaves on the bioactive compounds, color, and antioxidant activity of strawberry fruits. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(4), 1337-1343.
- Xia, E.-Q., Deng, G.-F., Guo, Y.-J., y Li, H.-B. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *International journal of molecular sciences*, 11(2), 622-646.

11. LA TECNOLOGÍA DE PULSOS ELÉCTRICOS.

Eristeo García Márquez

Unidad noreste. CIATEJ, A.C.

egarcia@ciatej.mx

Introducción

El ofrecer alimentos nutricionales absorbibles, ha sido un desafío tecnológico. El principal reto, producir alimentos que se expendan lo más fresco posible en el mercado. Lo anterior, desafía los procesos convencionales, como el tratamiento térmico, procesos de congelación y refrigeración. Esa exigencia tecnológica, ha buscado métodos alternativos para tratar, procesar y prolongar la vida de anaquel de los productos alimenticios. Principalmente, porque la salud humana esta asociada con los beneficios de consumo de alimentos de origen vegetal, que han provocado un aumento en la demanda de frutas y vegetales frescos. Estos productos contienen cantidades significativas de compuestos antioxidantes, capaces de neutralizar radicales libres y especies reactivas de oxígeno. Los radicales libres son átomos o moléculas con electrones desapareados altamente reactivos. La inestabilidad es compensada al reaccionar con moléculas cercanas, que producen reacciones en cadena. A pesar de todo, estas reacciones también ocurren durante el transporte de electrones a nivel mitocondrial y en procesos fisiológicos (Brintz, 2013). Sustancias que, al generarse en mayor cantidad, se ha demostrado que son tóxicas y dañan el tejido celular, causando oxidación en proteínas, membrana lipídica y ADN. También inhibe rutas enzimáticas e induce mutación de genes (Odriozola-Serrano y *col.*, 2013). El efecto protector de antioxidante, ha sido atribuido a varios compuestos contenidos en diferentes fuentes vegetales, como carotenoides, ácido ascórbico, compuestos fenólicos, y compuestos que contienen azufre. Pero, los procesos de obtención, y preparación, afectan su concentración y aceptación del alimento.

El procesamiento térmico, ha sido importante porque permite prolongar la vida de anaquel e la inocuidad de los alimentos. El calor térmico ha sido utilizado para pasteurización de líquidos, congelación y luego secado. Para prolongar la vida de anaquel, también se han modificado otros parámetros; la actividad del agua, pH y adicionando conservadores. Tratamientos accesibles económicamente. Utilizados principalmente para controlar la proliferación microbiana y reducir cambios químicos o enzimáticos. Pero, por sí solo, no es una tecnología capaz de entregar productos con alto impacto en la calidad, vista como un método de conservación.

La propuesta de tecnología emergente de pulsos eléctricos, ha sido registrada desde 1920, fue utilizada para tratar leche (Butz y Tauscher, 2002; Raso-Pueyo y Heinz, 2010). Pero el auge inició hace cuatro décadas, propuesta como un tratamiento no térmico de pasteurización, para controlar la proliferación de microorganismos y prolongar la vida de anaquel. Las investigaciones han sido exploradas para aumentar el rendimiento de extracción de jugos y mejorar la textura de alimentos (Raso-Pueyo y Heinz, 2010). Una tecnología prometedora debido al bajo consumo de energía, alto potencial de escalamiento y, económica por sus costos de operación (Joannes y col., 2015). La tecnología se fundamenta en la descarga de pulsos eléctricos cortos de alta tensión en el producto. La velocidad de flujo, es dependiente de los electrodos y del volumen de la cámara de tratamiento (figura 1). El tiempo de tratamiento relativamente corto, tiene mínimo efecto de calentamiento con respecto a tratamiento térmico.

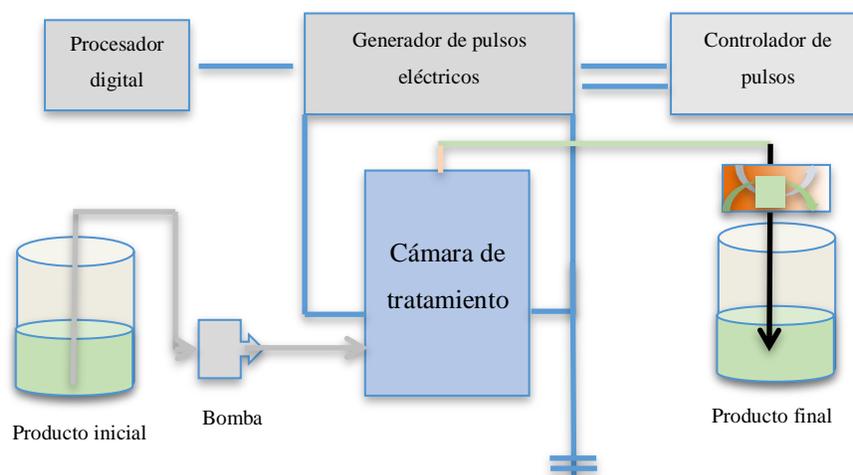


Figura 1. Diagrama básico de un equipo de pulsos eléctricos. Diagrama basado en el dibujo descrito (Raso-Pueyo y Heinz, 2010).

En las últimas dos décadas la tecnología ha sido propuesta para inactivar o activar sistemas enzimáticos (Ho y col., 1997), descontaminación de líquidos alimenticios, agua para beber, pretratamiento para incrementar el rendimiento bioactivos funcionales, lixiviación de tejidos vegetales, pre tratamiento y extracción de compuestos fenólicos durante la fermentación de uva en ambiente prácticamente frío, extracción de jugos con temperaturas menores que las aplicadas en los procesos térmicos convencionales, tratamiento osmótico, prensado y deshidratación (Corrales y col., 2008; Guderjan y col., 2007; Ho y col., 1997; López y col., 2008; Schoenbach y col., 2000), sin modificar la relación de los componentes contenidos en las fuentes vegetales. Cuando la aplicación de pulsos eléctricos supera la barrera de potencial transmembrana, se produce mayor permeabilidad del contenido celular, aumenta la disolución de los compuestos bioactivos en el medio acuoso. Fenómeno utilizado para aumentar el rendimiento, deshidratación, rehidratación y deshidratación osmótica (Toepfl y col., 2007).

La aplicación de pulsos eléctricos

La tecnología de pulsos eléctricos involucra la aplicación de alto voltaje, normalmente entre 20 a 80 kV/cm en productos. La intensidad de campo no modifica la temperatura, porque los tiempos de exposición son menores un segundo. El calentamiento del producto, por disipación energía en los líquidos tratados se reduce al mínimo, evitando cambios en las propiedades sensoriales y físicas en alimentos tratados (Butz y Tauscher, 2002). Se admite que la intensidad de pulsos eléctricos y tiempo, ocasionan la ruptura de la membrana celular (electroporación), ocasionando la muerte celular. El efecto de electroporación puede ser entendido en función de las propiedades eléctricas de la membrana y el citoplasma celular. La concentración de iones en el citoplasma lo hace eléctricamente conductor, mientras la membrana, que consiste en un bicapa lipídica, se considera un condensador con una constante dieléctrica baja (Butz y Tauscher, 2002; Schoenbach y col., 2000). En el ambiente celular, las cargas opuestas, presentes en ambos lados de la membrana, generan un potencial transmembrana natural. La aplicación de una corriente eléctrica en el fluido, tiene contacto con la superficie celular, y efecto sobre las cargas opuestas intracelulares y extracelulares. Induce la acumulación de carga interior y exterior. La inducción de energía adicional externa, se dice que eleva la presión sobre la membrana, debido a descompensación de cargas opuestas en ambos lados instantáneamente e induce la electroporación

(aumento del tamaño de poro o canal iónico, a través de los cuales ocurre intercambio de material) (Soliva-Fortuny y *col.*, 2009), debido a la superación de la resistencia elástica de la membrana. Cuando se supera un valor crítico, producto de la diferencia de potencial de membrana, externo e interno de aproximadamente 1 a 2 kV/cm para células vegetales, con tamaños en promedio entre 40 a 200 μm (Heinz y *col.*, 2001), y un intervalo entre 12 y 20 kV/cm para microorganismos, con tamaños entre 1 a 10 μm , se induce polarización y ruptura de la membrana celular (Heinz y *col.*, 2001; Soliva-Fortuny y *col.*, 2009). En intensidades de campo eléctrico, mayores de 10 kV/cm e intervalos de duración entre nano a microsegundos, en microorganismos vegetativos ocasiona la destrucción irreversible de la membrana celular (Schoenbach y *col.*, 2000). La aplicación de pulsos eléctricos durante los últimos años ha sido una tecnología referente y de elección con respecto a tecnologías convencionales. El proceso de electroporación se ilustra en la figura 2.

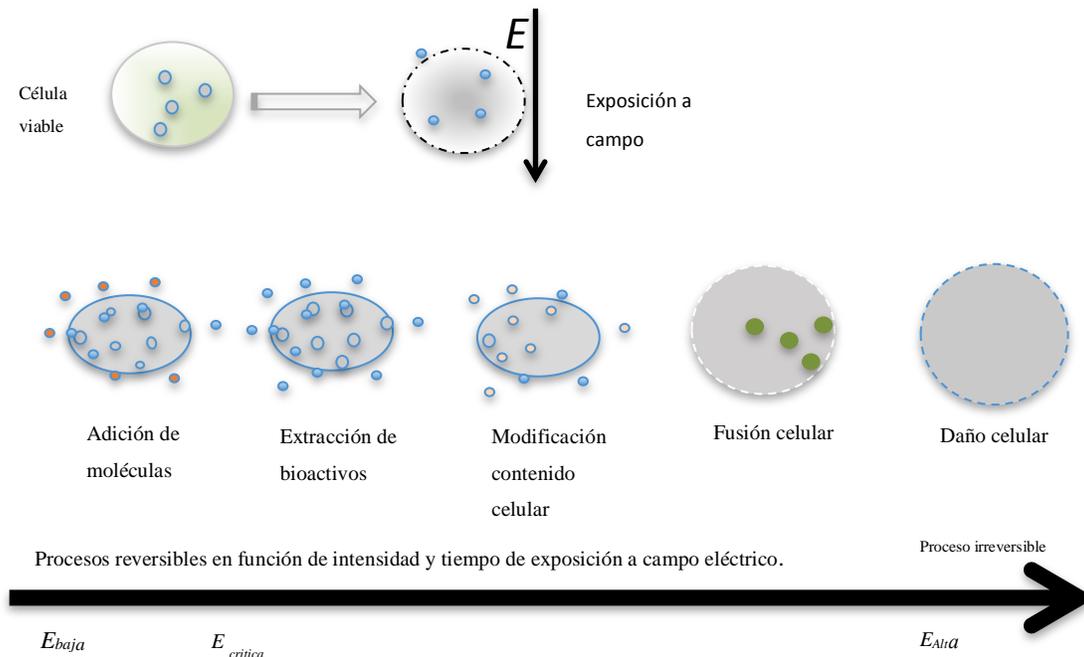


Figura 2. Efecto pulsos eléctricos en función de campo eléctrico aplicado. La modificación de las variables de tiempo, forma de aplicación e intensidad ilustran las potenciales aplicaciones del campo eléctrico.

Efecto de pulsos eléctricos

El efecto de pulsos eléctricos sobre las entidades celulares está relacionado en la prolongación del tiempo e intensidad de voltaje. Factores que pueden inactivar la función celular. Se sugiere además, que el efecto de la temperatura entre 60°C a 75°C, combinado con el efecto de pulsos eléctricos aumenta la inactivación microbiana (Corrales y *col.*, 2008). Pero, la inactivación microbiana bajo estas condiciones, puede modificar las propiedades funcionales de los principios bioactivos. Por ejemplo, las chalconas modifican su estructura química y se degradan cuando son expuestas a temperatura por tiempo prolongado, decreciendo la actividad antioxidante (Odriozola-Serrano y *col.*, 2013). Mientras que, parámetros de proceso convencionales; la temperatura, tiempo, cambio de pH, relación de sólido/líquido, se convierten en estudios particulares, de optimización para obtener resultados con aplicación reproducible a nivel industrial.

Los pulsos eléctricos en la inactivación microbiana es afectada por factores de proceso (intensidad de campo eléctrico, el ancho de pulso, tiempo de tratamiento, temperatura y forma de la onda aplicada), tipo de microorganismos (estado de crecimiento de los microorganismos) y el medio (pH antimicrobianos, compuestos iónicos, y fuerza iónica del medio) (Butz y Tauscher, 2002). Lo anterior implica que la formación de poros y lixiviación es dependiente de la intensidad de tratamiento.

Los consumidores se interesan cada vez más, por productos alimenticios frescos con altos valores nutritivos. Mientras los avances tecnológicos, en la mejora de tecnologías amigables con el medio ambiente, y ha generado, el desarrollo de tecnologías no térmicas. La tecnología de pulsos eléctricos, se ha propuesto como una alternativa para propósitos de extracción de compuestos bioactivos y, un método selectivo en la extracción, comparado con el tratamiento térmico (Soliva-Fortuny y *col.*, 2009). Los procesos no térmicos son una expectativa para obtener productos mínimamente procesados de calidad superior, mayor retención de color, sabor y valor nutricional. Una tecnología importante para lixiviar compuestos bioactivos contenidos en el interior de las células vegetales o animales, con moderado tratamiento para conservar las propiedades antioxidantes y potenciar sus efectos en la salud.

Aplicación tecnológica de pulsos eléctricos en alimentos

Recientes estudios basados en la intensidad de campo eléctrico aplicado y, su efecto en la permeabilidad celular reversible e irreversible. Han determinado que es posible inducir la extracción de constituyentes específicos (López y *col.*, 2008; Schilling y *col.*, 2007; Soliva-Fortuny y *col.*, 2009) como los compuestos bioactivos. El interés de obtener productos competitivos y nutritivos, ha continuado valorando las tecnologías emergentes como los pulsos eléctricos, como un pre-tratamiento para la obtención y selección de principios bioactivos. El pre-tratamiento puede ser adaptado en determinadas líneas de proceso, para aumentar el rendimiento de producto y calidad del mismo.

La dosificación de energía por medio de tecnologías emergentes son determinantes en el control fisicoquímico de los productos a obtener. Principalmente en la obtención de principios bioactivos, por ejemplo, compuestos polifenólicos, fitoesteroles, antocianinas, carotenos (Aadil y *col.*, 2015). La aplicación de pulsos eléctricos tiene como ventaja, reducir la temperatura y, el tiempo de proceso considerablemente. Las principales aplicaciones de pulsos eléctricos y avances en este campo emergente se listan en la tabla 1, a manera de resumen. Es evidente que la obtención de mejores productos alimenticios con mejores atributos, con mínimo impacto en el sabor, textura, valor nutricional y mayor frescura, son difíciles de obtener por métodos convencionales. Ello ha ocasionado una búsqueda frenética en nuevos procesos para satisfacer la expectativa de consumidores. Las aplicaciones comerciales de mayor impacto incluye la purificación de agua, pasteurización de jugos y leche. Donde la tecnología de pulsos eléctricos ha demostrado que tiene ventajas sobre los tratamientos convencionales y ha evidenciado mayor interés de la industria.

La aplicación está basada en la transformación o ruptura de las células en condiciones de alta energía externa, suficientemente para incrementar la permeabilidad celular. Sin dejar de observar la conductividad eléctrica de los sistemas donde se aplica pulsos eléctricos de alta energía. La barrera celular, constituida por la capa lipídica doble y proteínas juegan un papel importante en la desestabilización de la membrana, lisis y difusión de solutos (Zhao y *col.*, 2013; Zhou y *col.*, 2015).

Tabla 1. Ejemplos representativos de pulsos eléctricos en la extracción de compuestos bioactivos.

AUTOR	APLICACIÓN	RESULTADOS	CONCLUSIONES
Ho <i>et al.</i> , 1997	Efecto de pulsos eléctricos en la actividad/inactividad enzimática seleccionada.	La actividad enzimática se reduce (80% a 35% en promedio) en función del voltaje aplicado, particularmente entre 5 a 25 kV/cm. Excepto, la fosfatasa alcalina, la disminución de actividad fue alrededor de 5%.	La inactivación enzimática depende especialmente de la conjugación α - plegada, y combinación de estructuras α -hélices y β -plegadas. Además de la combinación de minerales como el cobre y azufre en las polifenol oxidasas, Zn, y Mg, en la fosfatasa alcalina.
Schoenbach <i>et al.</i> , 2000	Efecto de pulsos eléctricos en la viabilidad de microorganismos en líquidos.	La aplicación de campo eléctrico no afecta la viabilidad celular si la intensidad energética (V) no supera el valor crítico E_c . Si el V es mayor a E_c , la viabilidad celular decrece exponencialmente. El tipo de célula, y mecanismo de formación de poros en la membrana son afectados por la intensidad de energía.	El campo eléctrico y tiempo aplicados sobre el tipo de célula, determinan el nivel de polarización celular (electroporación reversible o irreversible) de la membrana. Por lo tanto, el medio en que se encuentren las células; acidez, pH, y tipo de proceso, determinarán la cantidad de energía para obtener un producto completamente pasteurizado.
Butz y Tauscher, 2002	Obtención de productos seguros tratados con temperatura baja, manteniendo nutrientes, sin cambios organolépticos apreciables.	Pulsos eléctricos entre 20-80 kV/cm y tiempos menores a 1 s, no cambian la temperatura del producto. Cuando la diferencia entre el potencial de membrana externa e interna supera el valor crítico de 1V, se induce polarización y electroporación de la membrana.	Los cambios fisicoquímicos y sensoriales debido al tratamiento fueron mínimos. Intensidad de pulsos eléctricos (>10 kV/cm) y duración de impulsos (entre nano y μ s), los microorganismos en medios líquidos se inactivan debido al deterioro de la membrana celular.
Guderjan <i>et al.</i> , 2007	Comparación del efecto de pulsos eléctricos en el rendimiento de aceite e ingredientes funcionales contenidos en colza con cáscara y sin cáscara.	El rendimiento de aceite de colza con cáscara y soxhlet fue 24%, y sin cáscara 44%. Aplicando pulsos eléctricos fue 32%, y sin cáscara fue 45%. Los resultados fisicoquímicos no mostraron diferencias. La actividad antioxidante con pulsos eléctricos, fue 20% mayor.	La aplicación de pulsos eléctricos permite obtener alta concentración de antioxidantes. Principalmente tocoferoles, polifenoles y fitoesteroles. Pulsos eléctricos es recomendada como un pre tratamiento antes del proceso de separación de aceite. Aumenta en rendimiento y contenido de compuestos fenólicos.

Tabla 1. (Continuación)

AUTOR	APLICACIÓN	RESULTADOS	CONCLUSIONES
Odriozola-Serrano <i>et al.</i> , 2008	Evaluación y comparación de los efectos de pulsos eléctricos de alta intensidad.	La concentración de compuestos fenólicos después de 56 días a 4 °C, obtenidos por pulsos eléctricos comparados con tratamiento de 90 °C, 30 s y 1 min, no tuvieron diferencia significativa. La degradación en ambos casos fue mayor al 51%. La tendencia de antocianinas y ácidos fenólicos tuvieron el mismo comportamiento.	El autor concluye que la tecnología de pulsos eléctricos de alta intensidad es un método apropiado para obtener jugos con alto contenido de antioxidantes, bajo el tratamiento de 35 kV/cm por 1700 µs y, 4 µs de pulsos bipolares a 100 Hz.
Donsi <i>et al.</i> , 2011.	Factibilidad de tratamiento por pulsos eléctricos para aumentar la permeabilización celular en diferentes variedades de uva.	Los tratamientos consistieron en 1.5 a 3 kV cm ⁻¹ . Se obtuvo 20% de polifenoles. A mayor intensidad se obtuvo entre 20% y 30% de antocianinas y 40% la actividad antioxidante.	Los autores explican que es necesario aplicar mayor intensidad de pulsos eléctricos para aumentar la permeabilidad de las células de la piel uva.
Puértolas <i>et al.</i> , 2013	Diseño experimental que evalúa la influencia y aplicación de pulsos eléctricos en la extracción de antocianinas a partir de papa.	La permeabilidad fue determinada entre 1 a 5 kV cm ⁻¹ , el tratamiento fue entre 45 µs a 105 µs. La energía total suministrada varió entre 0.54 kJ kg ⁻¹ a 13.5 kJ kg ⁻¹ . El índice de desintegración celular se mantuvo entre 0.0 a 1.0.	Se redujo la temperatura de extracción (40°C), en comparación con los tratamientos convencionales (70°C y 80°C), e incrementa el rendimiento de antocianinas en 24%, respecto al tratamiento convencional.
Wiktor <i>et al.</i> , 2015	Efecto de tratamiento con pulsos eléctricos en el contenido fenólico y actividad antioxidante en manzana y carotenoides en zanahoria evaluando cambio de color.	La intensidad de campo eléctrico varió entre 0 a 5 kV cm ⁻¹ , número de pulsos 0 a 100 µs, La energía suministrada fue entre 0 a 80 kJ kg ⁻¹ . La aplicación de pulsos eléctricos, incrementó la concentración de principios activos entre 6 y 8 veces, que aquellas muestras sin tratamiento.	Los parámetros de intensidad de campo, tiempo y energía suministrada potencian la extracción de compuestos bioactivos. El contenido fenólico y carotenos puede incrementarse entre 85.8% y 11.3%. Pulsos eléctricos mayores de 1.85 kVcm ⁻¹ , reducen el rendimiento de extracción de carotenos (3 kVcm ⁻¹) y compuestos fenólicos (5 kVcm ⁻¹).

Referencias

- Aadil, R. M., Zeng, X. A., Ali, A., Zeng, F., Farooq, M. A., Han, Z., Khalid, S., yJabbar, S. (2015). Influence of different pulsed electric field strengths on the quality of the grapefruit juice. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(10), 2290-2296.
- Brintz, C. (2013). Free-Radical Theory of Aging. In M. D. Gellman y J. R. Turner (Eds.), *Encyclopedia of Behavioral Medicine* (pp. 816-817). New York, NY: Springer New York.
- Butz, P., yTauscher, B. (2002). Emerging technologies: chemical aspects. *Food Research International*, 35(2), 279-284.
- Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., yTauscher, B. (2008). Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: a comparison. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(1), 85-91.
- Guderjan, M., Elez-Martínez, P., yKnorr, D. (2007). Application of pulsed electric fields at oil yield and content of functional food ingredients at the production of rapeseed oil. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(1), 55-62.
- Heinz, V., Alvarez, I., Angersbach, A., yKnorr, D. (2001). Preservation of liquid foods by high intensity pulsed electric fields—basic concepts for process design. *Trends in Food Science & Technology*, 12(3), 103-111.
- Ho, S., Mittal, G., yCross, J. (1997). Effects of high field electric pulses on the activity of selected enzymes. *Journal of Food Engineering*, 31(1), 69-84.
- Joannes, C., Sipaut, C. S., Dayou, J., Yasir, S. M., yMansa, R. F. (2015). The Potential of Using Pulsed Electric Field (PEF) Technology as the Cell Disruption Method to Extract Lipid from Microalgae for Biodiesel Production. *International Journal of Renewable Energy Research (IJRER)*, 5(2), 598-621.
- López, N., Puértolas, E., Condón, S., Álvarez, I., yRaso, J. (2008). Effects of pulsed electric fields on the extraction of phenolic compounds during the fermentation of must of Tempranillo grapes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 477-482.

- Odriozola-Serrano, I., Aguilo-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. (2013). Pulsed electric fields processing effects on quality and health-related constituents of plant-based foods. *Trends in Food Science & Technology*, 29(2), 98-107.
- Raso-Pueyo, J., y Heinz, V. (2010). *Pulsed electric fields technology for the food industry: fundamentals and applications*: Springer Science & Business Media.
- Schilling, S., Alber, T., Toepfl, S., Neidhart, S., Knorr, D., Schieber, A., y Carle, R. (2007). Effects of pulsed electric field treatment of apple mash on juice yield and quality attributes of apple juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(1), 127-134.
- Schoenbach, K. H., Joshi, R. P., Stark, R. H., Dobbs, F., y Beebe, S. J. (2000). Bacterial decontamination of liquids with pulsed electric fields. *Dielectrics and Electrical Insulation, IEEE Transactions on*, 7(5), 637-645.
- Soliva-Fortuny, R., Balasa, A., Knorr, D., y Martín-Belloso, O. (2009). Effects of pulsed electric fields on bioactive compounds in foods: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 20(11), 544-556.
- Toepfl, S., Heinz, V., y Knorr, D. (2007). High intensity pulsed electric fields applied for food preservation. *Chemical engineering and processing: Process intensification*, 46(6), 537-546.
- Zhao, D., Zeng, X.-A., Sun, D.-W., y Liu, D. (2013). Effects of pulsed electric field treatment on (+)-catechin-acetaldehyde condensation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 20, 100-105.
- Zhou, Y., Zhao, X., y Huang, H. (2015). Effects of Pulsed Electric Fields on Anthocyanin Extraction Yield of Blueberry Processing By - Products. *Journal of Food Processing and Preservation*.