



ALIMENTOS, CIENCIA E INGENIERÍA

revista.fciab@uta.edu.ec



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

**VOLUMEN 27-2
DICIEMBRE 2020**

ISSN 1390-2180

ALIMENTOS

CIENCIA E INGENIERÍA

Revista de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
Vol. 27-2 - 2020

EDITORIAL

La ciencia moderna exige colaboración y actualidad. Un buen resultado esondido entre ingentes cantidades de datos en un laboratorio no solamente es un desperdicio, sino también una merma para el desarrollo de potenciales y fructíferos estudios que pudiesen derivarse de ellos. La publicación es, por tanto, una obligación inmanente al investigador. En consecuencia, la existencia de medios adecuados, críticos y ágiles que permitan efectuar esta difusión puede considerarse como una necesidad consustancial a la ciencia en la que no se deberían escatimar esfuerzos.

Es para mi un verdadero honor, presentar un nuevo número de la revista *Alimentos, Ciencia e Ingeniería*, liderada desde la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato. Este esfuerzo colaborativo de sinergia multidisciplinar pone a disposición de los investigadores, sus verdaderos protagonistas, una plataforma que permite la comunicación de hallazgos originales y actuales de gran calidad.

La revista se presenta en un estilo libre y atractivo, conservando el más estricto rigor. Mediante un acceso sencillo, se muestran complejos estudios que han sido expuestos de forma comprensible. La evaluación de los análisis que aquí se exhiben ha sido realizada, previamente a su definitiva aceptación, por expertos revisores en la modalidad de *doblo-ciego*, lo que garantiza contenidos de alta importancia y firmeza en sus convicciones.

Con el deseo de que este número tenga una amplia acogida, emito mi más sincero agradecimiento a quienes lo han hecho posible, confiando en que el buen hacer impulse el progreso y, a la postre, la transformación de la sociedad hacia sublimes propósitos.

Dr. Santiago CasadoRojo

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

TABLA DE CONTENIDO

DESCRIPCIÓN

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

AUDIENCIA

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

INDEXACIÓN

Latindex (en Catálogo desde Diciembre 2014)

DIRECTORIO

Dr. Galo Naranjo López,

Rector, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Dra. Mary Elizabeth Cruz Lascano,

Vicerrectora Académica, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Dra. Elsa de los Ángeles Hernández Chérrez,

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

Ing. Edison Fernando Viera Alulema,

Vicerrector Administrativo, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Dra. Mirari Yosune Arancibia Soria,

Decana FCIAB, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Ing. Alex Fabián Valencia Silva,

Subdecano FCIAB, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Ing. John Paúl Reyes Vásquez,

Director DIDE, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

COMITÉ EDITORIAL

Editor

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

Revisores estilo

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

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

Revisores internos

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

Revisores Externos

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

ISSN

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

TIRAJE

50 ejemplares impresos en papel

PERIODICIDAD

Semestral (dos números al año)

AÑO DE INICIO DE PUBLICACIÓN

1992 (34 Volúmenes editados hasta la fecha)

REVISTA ELECTRÓNICA

Accesible a través de:

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

CONVOCATORIA PRÓXIMOS NÚMEROS

Fechas límite (deadlines) para entrega de manuscritos:

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

Dirección postal:

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

CONTENIDOS

BACTERIOCINAS: VISIÓN BÁSICA Y APLICADA.....	7
BIOEMPAQUES PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA A PARTIR DE NANOCOMPUESTOS Y POLÍMEROS NATURALES.....	34
CREMA DE LICOR SABOR A UVILLA (PHYSALIS PERUVIANA).....	56
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS MICROENCAPSULADAS DE MORA (RUBUS GLAUCUS BENTH).....	63
EVALUACIÓN DE LAS FORMULACIONES DE PELÍCULA COMESTIBLE DE NOSTOC SPHAERICUM APLICADAS A LA CONSERVACIÓN DE FRESAS.....	79
VOLATILIDAD SIMÉTRICA O ASIMÉTRICA EN LA PAPA DE ECUADOR.....	94

BACTERIOCINAS: VISIÓN BÁSICA Y APLICADA

BACTERIOCINS: BASIC AND APPLIED VISION

Isabella Cañaverall Sánchez^{1*}, Julia R. Chalarca¹ Vélez, Duverney Gaviria Arias¹.

Universidad Libre de Pereira, Microbiología

Autor de correspondencia: isabella-canaverals@unilibre.edu.co

Recibido: 10 de septiembre de 2020

Aceptado: 15 de junio de 2021

Abstract

Bacteriocins, defined as antimicrobial peptides (PAMs) are ribosomally synthesized molecules, consisting of 12-100 amino acids synthesized by certain microbes and which are released extracellularly to inhibit the growth of other microbes. Among PAM molecules, bacteriocins are produced by Gram-positive and Gram-negative bacterial species and are used to eliminate or inhibit other prokaryotes in the environment. Currently its classification is based on aspects such as mechanism of action, genetic location, molecular weight and chemical characteristics and production methods. Bacteriocins have traditionally been used as food preservatives, either added to or produced by starter cultures during fermentation. In-depth studies of a few selected bacteriocins have allowed them to break through and extend their application possibilities to new fields of research and have expanded their uses to biomedical fields. The ability to develop bacteriocins into next-generation antibiotics, along with rapid development in genetics and nanotechnology, has paved the way for even more fascinating advances, such as towards the development of new transporter molecules (delivery systems) and even cancer treatment. Furthermore, some bacteriocins are found to regulate quorum detection, suggesting new applications for this group of molecules.

Keywords: bacteriocins, classification, biotechnological uses

Introducción

Los escasos nutrientes en el ambiente, la competencia con otros organismos por el espacio y los recursos, y la defensa contra sustancias u organismo extraños; desencadenan la producción de una variedad de sustancias antimicrobianas, con el fin de poder sobrevivir en un ambiente particular. Se han identificado muchas sustancias antibacterianas producidas por animales, plantas, insectos y bacterias. Entre estas, el peróxido de hidrógeno, algunos ácidos grasos, ácidos orgánicos, etanol, antibióticos y bacteriocinas (Cotter et al., 2005). Los péptidos antimicrobianos (PAM) o las proteínas producidas por bacterias con función bactericida se clasifican como bacteriocinas. Las bacteriocinas son abundantes, tienen una gran diversidad y se ha identificado que algunos de ellas tienen la capacidad de acabar con otros microorganismos relacionadas con el microorganismo productor (espectro estrecho) o no relacionados con este (espectro amplio) funcionando como una de las armas inherentes del sistema de defensa de las bacterias (Cotter et al., 2005). Más del 99% de las bacterias pueden producir al menos una bacteriocina, sin embargo, la mayoría de ellas no se han podido identificar (Riley & Wertz, 2002). La capacidad de eliminar de las bacteriocinas se considera una estrategia exitosa para mantener la población y reducir el número de competidores para obtener más nutrientes y espacio vital en los entornos. A diferencia de la mayoría de los antibióticos, que son metabolitos secundarios, las bacteriocinas se sintetizan ribosómicamente, son de naturaleza proteica, por lo que son sensibles a las proteasas. Paralelo a lo reportado que establece que las bacteriocinas son inofensivas para el cuerpo

humano y el medio ambiente circundante, se han desarrollado múltiples aplicaciones biotecnológicas que se asocian con sus diferentes modos de acción y sus características. En este sentido, las bacteriocinas han sido usadas en la industria de alimentos, como preservantes, en la industria farmacéutica, como agentes antimicrobianos en humanos, plantas y animales; y como moléculas para el tratamiento del cáncer (Balciunas et al., 2013).

Metodología

Este trabajo corresponde a una investigación no experimental transversal de tipo correlacional - causal con base documental donde se analizó la información proveniente de trabajos científicos basados en las investigaciones sobre conceptos básicos y aplicaciones biotecnológicas de las bacteriocinas.

Fuentes de información y plan de recolección

La recolección de información consistió en una búsqueda sistemática de publicaciones científicas que cumpliera los criterios de calidad de la metodología aplicada a la investigación, así como su grado de evidencia; que permitiera identificar los avances científicos sobre la caracterización, clasificación, posibles aplicaciones y el mercado actual que representa las bacteriocinas. Estos criterios usando bases de datos que incluyan revistas con altos niveles de calidad e indexación (SCOPUS y PUBMED). La búsqueda se realizó teniendo en cuenta la información disponible de bacteriocinas; conceptos básicos, caracterización bioquímica y molecular, investigaciones relacionadas al uso de bacteriocinas como preservante alimentario, posibles usos biotecnológicos y el mercado mundial que representa las

bacteriocinas en diferentes industrias. Adicionalmente, se incluyeron las estructuras reportadas en la base de datos del PDB a modo de ejemplo de cada uno de los grupos. Se definió la inclusión de todos los artículos disponibles hasta septiembre de 2020. El algoritmo de búsqueda empleado analizó la inclusión o exclusión en el título, el resumen y las palabras clave de los artículos publicados: ((bacteriocin OR antimicrobial peptide) AND classification) AND (biotechnological uses AND biomedical application OR food preservative OR antimicrobial resistance) AND (bioinformatics OR data base). Los artículos seleccionados fueron descargados y luego revisados para posteriormente clasificar aquellos que se ajustaran a los objetivos específicos de este trabajo, considerando los títulos y resúmenes de cada artículo.

Resultados

Péptidos antimicrobianos

Los péptidos antimicrobianos (PAM) son moléculas que contienen una longitud que va de 12 a unos 100 aminoácidos. Estos, por lo general, poseen una carga neta catiónica y características anfipáticas, se sintetizan y liberan para actuar extracelularmente (Jenssen et al., 2006; Rios et al., 2016). Son producidos por varias especies (desde bacterias hasta mamíferos) y se usan para inactivar o inhibir el crecimiento de microbios en el medio ambiente (Jenssen et al., 2006). Hasta la fecha, se han descrito más de 1.700 PAM diferentes (Rios et al., 2016), los cuales actúan a diferentes niveles, por ejemplo, funcionando como moléculas antimicrobianas, generando daño o desestabilización de membranas bacterianas y fúngicas al igual que cápsides virales, adicionalmente, actúan en los

procesos de reclutamiento de células del sistema inmune en sitios con procesos inflamatorios activos, y promueven la angiogénesis en la reparación de heridas (Jenssen et al., 2006).

Bacteriocinas

Entre los PAM se encuentran las bacteriocinas producidas por especies bacterianas tanto Grampositivas como Gramnegativas. Estas moléculas confiere a las bacterias productoras una ventaja competitiva de supervivencia sobre otros procariontes en el mismo nicho (Preciado et al., 2016). Las bacteriocinas, como los PAM, tiene funciones bactericidas y bacterioestáticas sobre otros procariontes en el mismo entorno, tanto sobre diferentes cepas bacterianas como sobre aquellas estrechamente relacionadas entre sí (Zou et al., 2018).

Clasificación bacteriocinas

Las bacteriocinas se clasifican de varias maneras, incluyendo, las cepas productoras, mecanismos comunes de resistencia y por su mecanismo de acción (acción bactericida). Existen una gran variedad de categorías de bacteriocinas que solo están fenomenológicamente relacionadas. Estas incluyen las bacteriocinas de bacterias Gram positivas, Gram negativas y de archaeobacterias (Cascales et al., 2007). Ejemplo de ellas son las bacteriocinas de *Escherichia coli* llamadas colicinas, (antes llamadas Coli-lisinas que significa “asesinos de coli”), son las más estudiadas, conforman un grupo diverso de moléculas y a su vez no incluyen todas las producidas por *E. coli*. Por ejemplo, una de las colicinas más antiguas conocidas era conocida anteriormente como colicina V y ahora se conoce como microcina V, se ha identificado que esta es mucho más pequeña, y se produce y secreta

de manera diferente a las colicinas clásicas.

Este sistema de nombres es problemático por varias razones. Primero, nombrar las bacteriocinas por lo que supuestamente atacan no es adecuado, sería más preciso si su espectro de acción se relacionara directamente con las designaciones de género o especie. Adicionalmente, se ha identificado que algunas de estas moléculas con frecuencia poseen espectros que exceden los límites de sus taxones nombrados y casi nunca eliminan a la mayoría de los taxones para los que se nombran. Finalmente, el nombre original generalmente no se deriva de la cepa sensible a la que ataca, sino del organismo que la produce (Chikindas et al., 2018; Rea et al., 2011). Esto hace que el uso de este sistema de nombres sea problemático y por esto se generen sistemas alternativos de clasificación entre los que se incluyen:

- Estrategias de destrucción (formación de poros, actividad nucleasa, inhibición de la producción de peptidoglucano, etc.).
- Localización genética (plásmidos grandes, pequeños, cromosómicos).
- Peso molecular y química (proteína grande, péptido, con/sin azúcares, que contiene aminoácidos atípicos como la lantionina).
- Método de producción (ribosomal, modificaciones post-ribosomales).

A continuación, se presenta la clasificación más usada en la actualidad con respecto a bacteriocinas para bacterias Gram negativas y Gram positivas.

Bacteriocinas de bacterias Gram negativas

Las bacteriocinas producidas por bac-

terias Gramnegativas generalmente son clasificadas en base a su tamaño. Por ejemplo, Las microcinas tienen un tamaño inferior a 20 kDa, las bacteriocinas tipo colicina tienen un tamaño de 20 a 90 kDa y las tailocinas que son bacteriocinas de múltiples subunidades que se asemejan a las colas de los bacteriófagos, son también conocidas como bacteriocinas de alto peso molecular. Esta clasificación de tamaño también coincide con similitudes genéticas, estructurales y funcionales (Simons et al., 2020) .

Bacteriocinas tipo microcinas

Las microcinas reúnen a los péptidos pequeños (<10 kDa), son producidas generalmente en condiciones de estrés (escasez de nutrientes o en la fase estacionaria del crecimiento bacteriano). Algunos definen dos subclases: La subclase I son bacteriocinas modificadas postrasduccionalmente, con un peso molecular inferior a 5kDa (Microcinas B17, C7, J25, D93), y la subclase II son bacteriocinas no modificadas o mínimamente modificadas, su peso molecular varía de 5 a 10 kDa (Microcinas E492,V,LH47, 24) (Simons et al., 2020). Las microcinas son péptidos de 43 residuos que contiene oxazol y heterociclos de tiazol, estas moléculas son sintetizadas por el ribosoma a partir del gen mcbA. El producto génico corresponde a un péptido de 69 residuos de los cuales, 26 residuos hacia el extremo N-terminal constituyen un péptido líder, y los 43 residuos C-terminal restantes, forman un dominio rico en glicina que corresponden a la secuencia precursora. Cuatro serinas y cuatro cisteínas en el dominio de 43 residuos se convierten postrasduccionalmente en anillos heterociclicos de oxazol y tiazol, además de la eliminación del péptido líder por

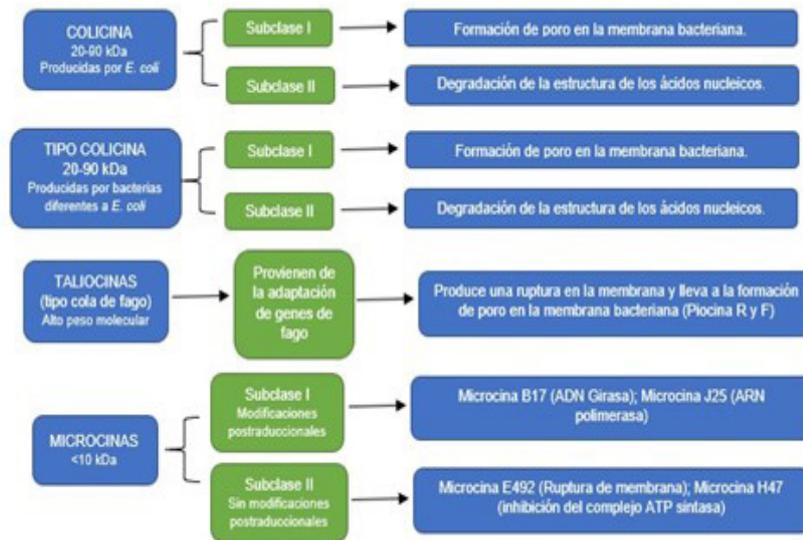


Figura 1. Esquema general sobre la clasificación de bacteriocinas de bacterias Gram negativas (Clase, subclase, modo de acción). Adaptado de Simons A, Alhanout K, Duval R. (2020) (Simons et al., 2020).

una proteasa endógena, todas estas modificaciones son esenciales para la actividad antibacteriana (Collin & Maxwell, 2019).

• **Estructura genética:** Los genes que codifican la producción de microcinas son transportados por plásmidos o cromosomas, y organizadas en grupos, así, *mcbA* es el gen estructural, *mcbBCD* codifica los componentes de la sintasa para la modificación postraduccionales e introducir los restos de tiazol y oxazol; y *mcbEFG* son responsables de la exportación y de inmunidad (Collin & Maxwell, 2019).

• **Estructura molecular:** Son sintetizados ribosomalmente y son de bajo peso molecular (<10 kDa), se diferencian de las colicinas ya que son de alto peso molecular (25 a 80 kD) (Rebuffat, 2012) (ver fig. 3 en material complementario).

• **Mecanismos acción:** Los mecanismos bactericidas de las microcinas son diversos, incluido el tipo de formación de poro, el tipo de nucleasa, como las funciones DNasa y RNasa, e inhibidores de la síntesis de proteínas o la replicación del ADN. Ninguno de los genes de microcinas genera productos con actividad de lisis. Además, las

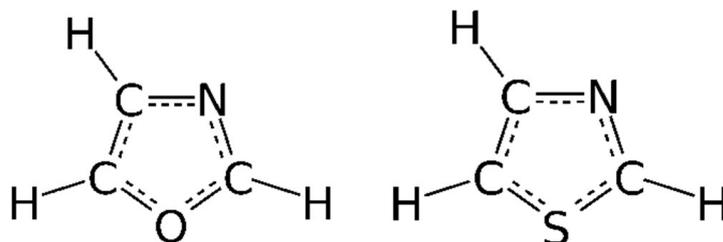


Figura 2. Modelos moleculares para los anillos oxazol y tiazol respectivamente, izquierda a derecha. Modificaciones postraduccionales presentes en bacteriocinas.

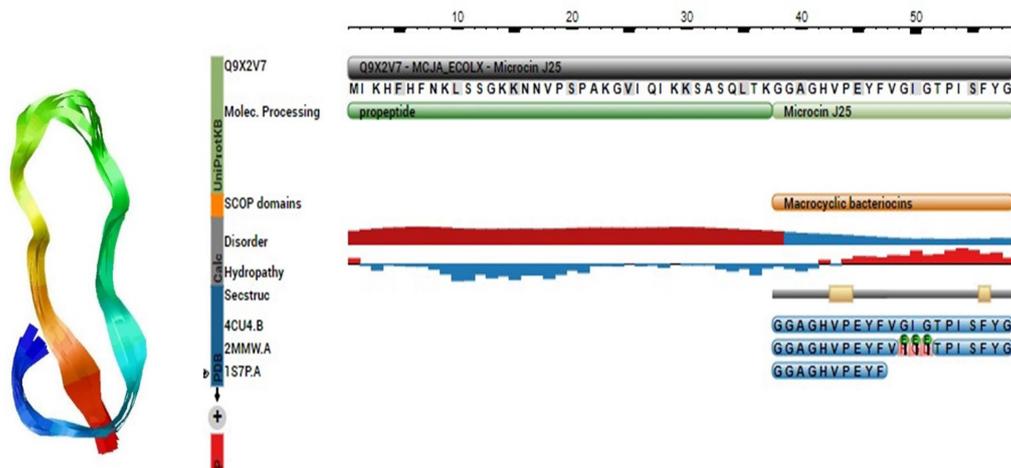


Figura 3. Estructura 3D de la microcina de E.coli J25 con peso molecular de 2,13 kDa. Un prototipo de Lazo de anudar de 21 residuos. Código PDB (Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/>) 1PP5. En la parte de abajo una mirada a las características de la molécula.

microcinas se secretan fuera de la bacteria a través del sistema de secreción basado en transportadores ABC tipo I (casete de unión a ATP), los cuales están compuestos por varias proteínas (Duquesne et al., 2007). Algunos ejemplos de la acción de este grupo de bacteriocinas son: La interrupción de la formación de membrana por parte de la microcina E492 o la inhibición de funciones enzimáticas vitales como el complejo ATP sintasa de microcinas M y H47, el ARN polimerasa de microcina J25, el ADN girasa de microcina B17, entre otros (Simons et al., 2020).

Bacteriocinas tipo colicina

Las colicinas o bacteriocinas parecidas a colicinas (BPC) son polipéptidos que se encuentran en *E. coli*, y se producen de manera similar en otras bacterias Gram negativas. Estas BPC son distintas de las bacteriocinas de bacterias Gram positivas, son proteínas modulares de entre 20 y 90 kDa de tamaño (ver fig. 4 en material complementario). A menudo, consisten en un dominio de unión al receptor, un dominio de translocación y un dominio citotóxico. Las combinaciones de

estos dominios entre diferentes BPC ocurren con frecuencia en la naturaleza y se pueden crear en el laboratorio. Debido a estas combinaciones, la subclasificación adicional puede basarse en el mecanismo de importación (grupo A y B) o en el mecanismo citotóxico (nucleasas, formación de poros, tipo M, tipo L) (Cascales et al., 2007).

- **Estructura genética:** Poseen un grupo de genes que codifican para la proteína de toxina (*cx*a), es decir, la colicina; La proteína de inmunidad a la toxina (*cx*i); y un gen de lisis (*cx*l), la cual puede inducir a la liberación de la bacteriocina (BRP), en este caso las colicinas (Cascales et al., 2007; Guasch et al., 1995; Kleanthous, 2010). Estas moléculas son producidas normalmente por cepas de *E. coli* que contiene un plásmido colinogénico, y a su vez existen dos tipos de este plásmido, los tipos I son pequeños (6 a 10kb) y se transfiere en presencia de un plásmido conjugativo. Este tipo de moléculas de ADN extracromosomal de tipo II son grandes (40kb) y promueven la transferencia horizontal de material genético.

Tailocinas (Bacteriocinas tipo cola de fago)

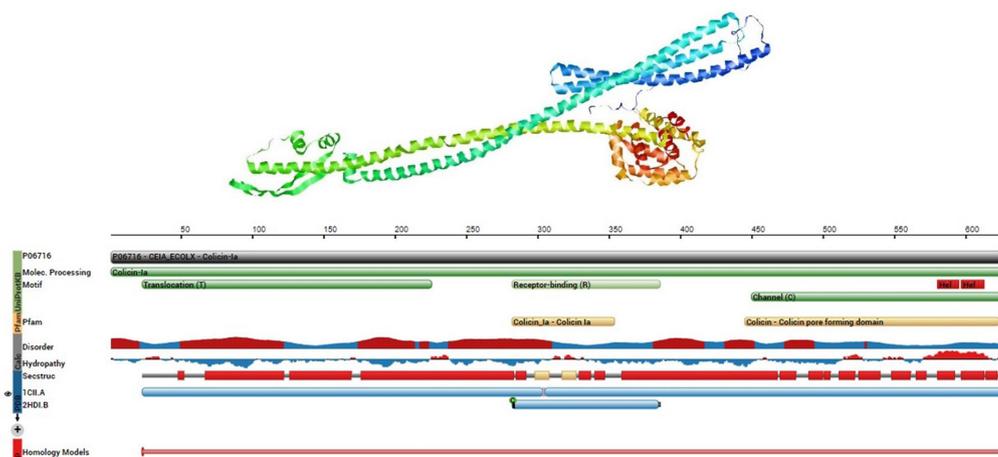


Figura 4. Estructura de colicina IA transmembranal de *E. coli* con un peso molecular de 67,04kD. Se observa la constitución de hélices alfa que conforman su estructura terciaria. Código del PDB (Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/>) 1CII. En la parte de abajo, una mirada a las características de la molécula.

Los más estudiados son los tailocins de *Pseudomonas aeruginosa*, esta a su vez se pueden subdividir en piocinas tipo R y tipo F (Ghequire & De Mot, 2014).

- **Estructura molecular:** Son proteínas de alto peso molecular (25 a 80kDa), y su secuencia de aminoácidos no presenta ningún enlace disulfuro (Cascales et al., 2007) (ver fig. 5 en material complementario).

- **Composición aminoacídica:** Estas moléculas están organizadas en tres dominios específicos, un dominio de translocación amino-terminal (T), que está implicado en la transferencia a través de la membrana externa de la proteína translocadora; un dominio de unión al receptor central (R), que está unido con un receptor de membrana externa bacteriana; y un dominio citotóxico (C) carboxilo terminal, que tiene actividad antibacteriana (Cascales et al., 2007) (Kleanthous, 2010).

- **Mecanismos acción:** El principal mecanismo de acción es la formación de poros, sin embargo, para llevar a cabo el proceso de formación de poros o canales en la célula sensible, deben ocurrir los siguientes eventos secuenciales: i) La colicina debe unirse a un

receptor externo de membrana de la célula blanco; ii) debe ser translocada a través de la envoltura celular; y iii) debe insertarse en la membrana interna y formar el poro que conducirá a la muerte celular. Los receptores de estas bacteriocinas son proteínas integrales de membrana que normalmente son utilizados para la captación de nutrientes, como hierro, vitamina B12 y nucleósidos, entre otros. Para la translocación hacia la membrana interna utilizan o bien el Sistema Ton ó el Sistema Tol. El sistema Ton es utilizado para la translocación de nutrientes con consumo de energía y el Sistema Tol que no es dependiente de energía, se ha sugerido que está involucrado en la integridad de la envoltura celular (Braun et al., 1994).

Bacteriocinas de bacterias Gram positivas

En los últimos años, un grupo de proteínas antibacterianas producidas por bacterias Grampositivas ha despertado un gran interés por su uso potencial como conservantes de alimentos y como agentes antibacterianos para combatir ciertas infecciones causadas por bacterias patógenas Gram

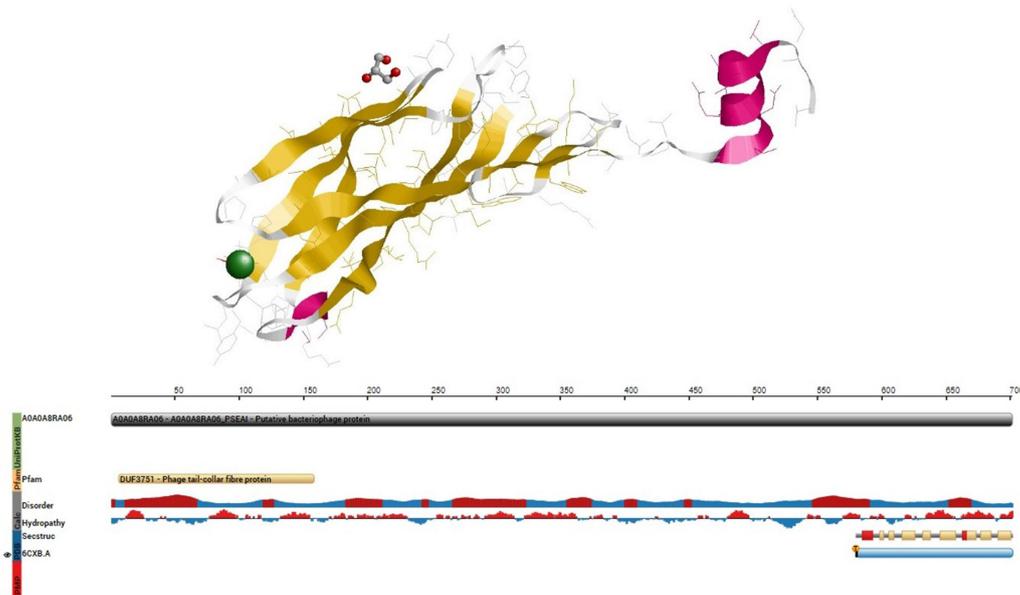


Figura 5. Estructura de la fibra de cola de piocina tipo R1 truncada en el N-terminal. Resolución de 1.7 Å de *P. aeruginosa*, con un PM de 15,53 kDa, se muestra 1 átomo Mg en verde y una molécula de glicerol unida a la bacteriocina. Código del PDB (Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/>) 6CXB. En la parte de abajo, una mirada a las características de la molécula.

positivas. Son péptidos sintetizados ribosómicamente de 30 a menos de 60 aminoácidos, con un espectro antibacteriano, tanto estrecho como amplio, contra bacterias Gram positivas; la actividad antibacteriana es estable al calor, y se ha identificado que las cepas productoras muestran un grado de autoprotección específica contra su propio péptido antibacteriano. En muchos aspectos, estas proteínas son bastante diferentes de las colicinas y otras bacteriocinas producidas por bacterias Gramnegativas, aunque habitualmente también se agrupan como bacteriocinas.

Bacteriocinas de clase I

Las bacteriocinas de clase I también conocidas como lantibióticos, son pequeños péptidos inhibidores (Rea et al., 2011; Güllüce, 2015), estas bacteriocinas contienen entre 19-50 aminoácidos que son ampliamente modificados postraduccionalmente. Debido a esto, presentan aminoácidos inusuales, los cuales surgen de un proceso de deshi-

dratación y de ciclación de residuos de aminoácidos específicos, ejemplos de esto son los aminoácidos deshidratados de Lantionina y β metil-lantionina, los cuales forman múltiples estructuras de anillo, que le confieren a la bacteriocina estabilidad al calor, pH y proteólisis (ver fig. 7 en material complementario). La producción de este tipo de bacteriocinas está tanto asociada a un plásmido como al cromosoma que transporta estos elementos genéticos, que generalmente se ensamblan como grupos, es decir, genes estructurales, reguladores, de modificación, de transporte y de autoinmunidad (Radaic et al., 2020; Simons et al., 2020). Las bacteriocinas de clase I se subclasifican en: La clase Ia, (nisina, epidermina, gallidermina, etc), estas consisten en un péptido catiónico e hidrofóbico, con una estructura flexible, de masa molecular variable, entre 2 a 4 kDa; Además, contienen aminoácidos de lantionina y/o β metil-lantionina. Su modo de acción se asocia a la formación de

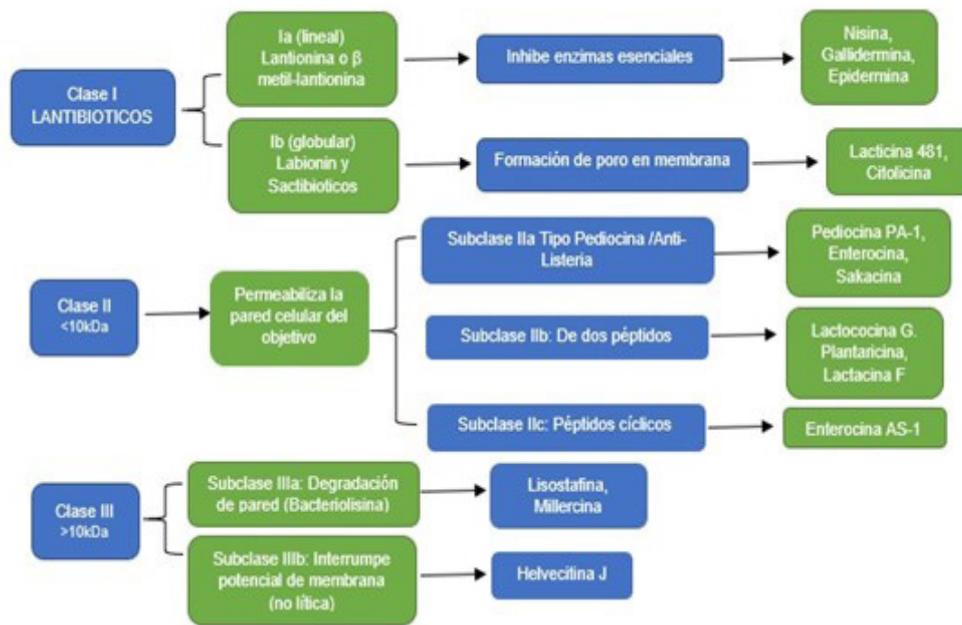


Figura 6. Esquema general sobre la clasificación de bacteriocinas de bacterias Gram positivas (Clase, subclase, modo de acción, ejemplos).

poro en la membrana bacteriana. (Radaic et al., 2020; Simons et al., 2020). Las bacteriocinas de clase Ib (lacticina 481, citolisina, etc) son péptidos de forma globular e inflexible, de carga negativa, de su estructura hacen parte el aminoácido modificado, labionina, el cual es un triamino ácido. Su meca-

nismo de acción está relacionado con la inhibición de enzimas específicas que son esenciales para las bacterias objetivo (Radaic et al., 2020; Simons et al., 2020). Las bacteriocinas de clase Ic, como los Sactibioticos, son bacteriocinas que contiene el aminoácido azufrado, cisteína, en su composición (Radaic et al., 2020; Simons et al., 2020).

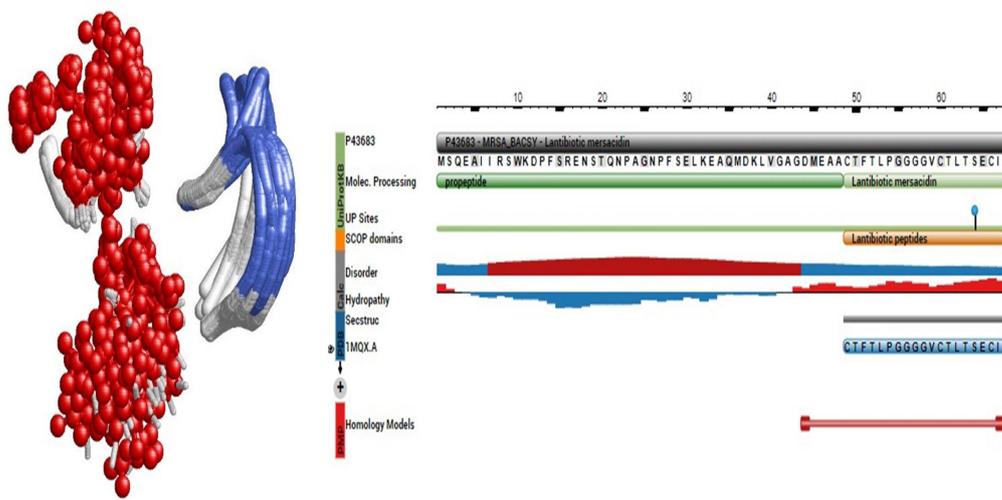


Figura 7. RMN de la estructura en solución del lantibiótico de tipo B de Bacillus sp, mersacidina, con un PM de 1,83 kDa, unida a lípido II, precursor en la síntesis de la pared bacteriana. Código del PDB (Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/>) 1MQZ. En la parte de abajo, una mirada a las características de la molécula.

Bacteriocinas de clase II

Las bacteriocinas de clase II son proteínas pequeñas (<10 kDa) termoestables, esta clase se subdivide en cinco subclases. Las bacteriocinas de clase IIa (bacteriocinas similares a la pediocina) son el subgrupo más grande y contienen una secuencia consenso N-terminal-Tyr-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys. El C-terminal es responsable de la actividad específica de la especie, causando la salida del contenido celular al permeabilizar la pared de las bacterias afectadas. Las bacteriocinas de clase IIa tienen un gran potencial para su uso en la conservación de alimentos y en aplicaciones médicas debido a su fuerte actividad anti *Listeria* y su amplia gama de actividades, un ejemplo de bacteriocina de clase IIa es la pediocina PA-1, las cuales se producen como péptidos precursores que contienen secuencias líderes amino-terminales similares con un sitio de procesamiento conservado (Gly-Gly en las posiciones -1 y -2) (Heng et al., 2007). Las bacteriocinas de clase IIb (bacte-

riocinas de dos péptidos) requieren dos péptidos diferentes para su actividad, uno de estos ejemplos es la lactococina G, que permeabiliza las membranas celulares para los cationes monovalentes de sodio y potasio, pero no para los cationes divalentes. Casi todas estas bacteriocinas tienen motivos GxxxG. Este motivo también se encuentra en las proteínas transmembrana, donde están involucradas en las interacciones hélice-hélice. En consecuencia, los motivos de bacteriocina GxxxG pueden interactuar con los motivos en las membranas de las células bacterianas, matando las células (Nissen-Meyer et al., 2009). La clase IIc abarca péptidos cíclicos, en los que las regiones N-terminal y C-terminal están unidas covalentemente, la enterocina AS-48 es el prototipo de este grupo. La clase IId cubre bacteriocinas de un solo péptido, que no se modifican postraduccionalmente y no muestran el rasgo característico de tipo pediocina. El mejor ejemplo de este grupo es la aureocina A53 que es altamente estable. Esta bacteriocina es estable

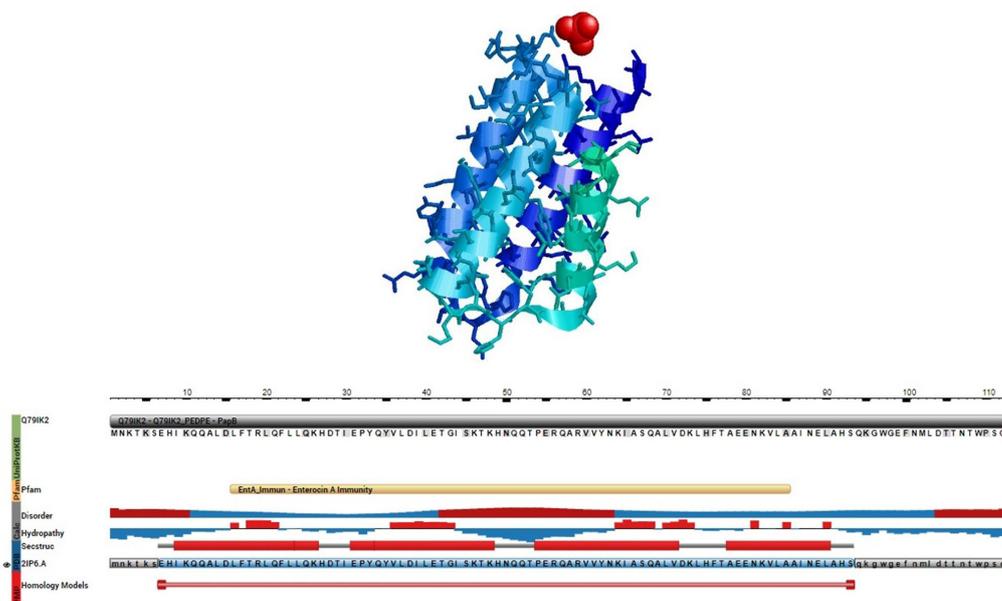


Figura 8. Estructura en 3D de Pediocina PedB de *Pediococcus pentosaceus* con un PM de 13.11 kDa. Se muestra una molécula de ion sulfato en rojo. Código del PDB (Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/>) 2IP6. En la parte de abajo, una mirada a las características de la molécula.

en condiciones altamente ácidas, altas temperaturas y no se ve afectada por las proteasas (Netz et al., 2002). La subclase propuesta más recientemente es la Clase IIe, que abarca aquellas bacteriocinas compuestas de tres o cuatro péptidos no similares a la pediocina. El mejor ejemplo es la aureocina A70, una bacteriocina de cuatro péptidos, altamente activa contra *Listeria monocytogenes*, con posibles aplicaciones biotecnológicas (Netz et al., 2001).

Bacteriocinas de clase III

Las bacteriocinas de clase III son bacteriocinas grandes de tipo proteico, termolábiles, y con tamaños >10kDa. Esta clase se subdivide en dos subclases: subclase IIIa (bacteriolisinas) y subclase IIIb. La subclase IIIa comprende aquellos péptidos que lisan las células bacterianas por degradación

de la pared celular. La bacteriolisina mejor estudiada en este grupo es la listostafina (ver fig. 9 material complementario), un péptido de 27 kDa que hidroliza las paredes celulares de varias especies de *Staphylococcus*, principalmente *S. aureus* (Bastos et al., 2010). La subclase IIIb, en contraste, comprende aquellos péptidos que no causan lisis celular, por el contrario, las células diana sufren la interrupción del potencial de membrana plasmática.

Bacteriocinas de clase IV

Las bacteriocinas de clase IV se definen como bacteriocinas complejas que contienen restos de lípidos o carbohidratos. La confirmación por datos experimentales se estableció con la caracterización de la sublancina y la glucocina F (GccF) por dos grupos independientes (Oman et al., 2011; Stepper et al., 2011).

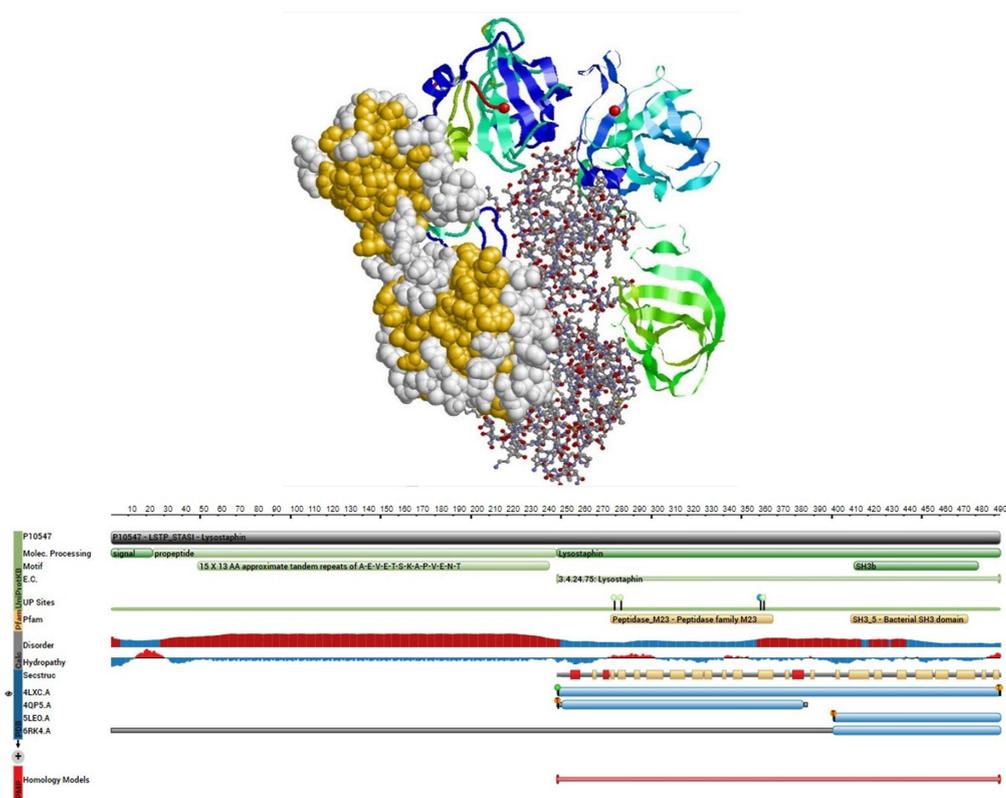


Figura 9. Estructura de la bacteriocina listostafina de *Staphylococcus simulans* con PM 26.94. Se muestran 4 cadenas de la molécula unidas entre sí. Cada cadena presenta dos átomos de Zn (esferas de color rojo). Código del PDB (Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/>) 4LXC. En la parte de abajo, una mirada a las características de la molécula.

Ventajas de las bacteriocinas

Las bacteriocinas presentan varias características ventajosas como antimicrobianas, además de su baja toxicidad para las células eucariotas, tienen concentraciones inhibitorias mínimas contra varias cepas bacterianas, generalmente en el rango nanomolar (nM), y tienen estabilidad a altas temperaturas (Preciado et al., 2016; Prudêncio et al., 2015); en conjunto, estas cualidades han llamado la atención sobre las bacteriocinas como posibles agentes antibacterianos. Actualmente, la nisina, la pediocina y el Micocin® (que es producto de la combinación de carnociclina A (CclA), carnobacteriocina B1 (cbnB1) y la piscicolina 126 (PisA)) (Zou et al., 2018) son las únicas bacteriocinas aprobadas por la FDA para su uso como conservantes de alimentos y agentes anti-deterioro, las cuales están disponibles comercialmente en Estados Unidos y Canadá. Algunas

bacteriocinas también presentan una actividad antimicrobiana de amplio espectro, y son prometedoras para abordar la crisis de las bacterias resistentes a múltiples antibióticos (Preciado et al., 2016). Las bacteriocinas también se han destacado por sus aplicaciones biomédicas (Shin et al., 2016). La nisina por ejemplo, es una bacteriocina terapéutica eficaz para el cáncer oral, evitando las células y tejidos normales (Baindara et al., 2018; Shin et al., 2016). Se ha demostrado que la nisina a bajas concentraciones (2.5%) reduce la proliferación e induce la detención del ciclo celular y la apoptosis en el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC); se identificó que este procesos se llevaba a cabo sin afectar significativamente los queratinocitos normales primarios, in vitro e in vivo (Joo et al., 2012). Los autores demostraron además que una vía dependiente e independiente

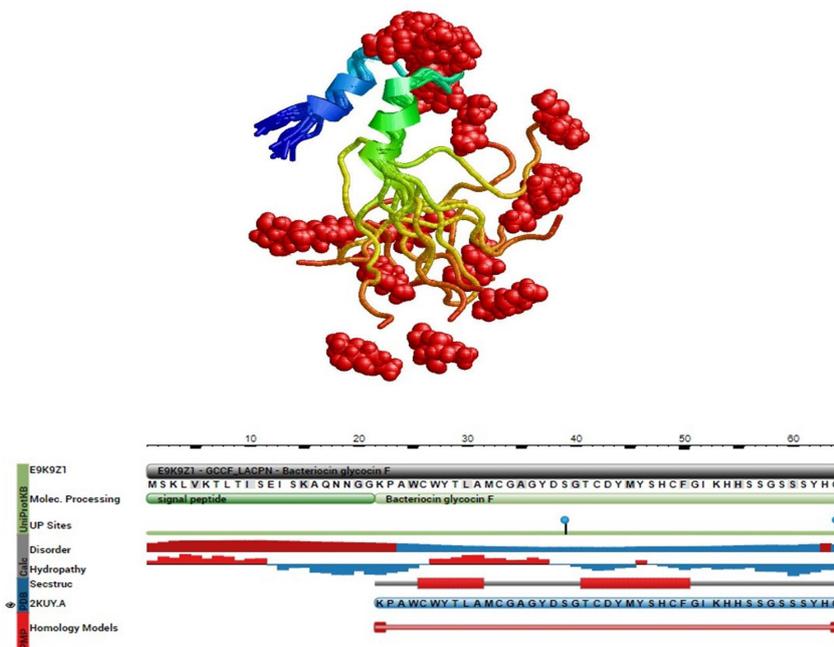


Figura. 10. Estructura de la glicocina F en *Lactobacillus plantarum* con PM de 5.25 kDa. Se observan moléculas de N acetil glucosamina en color rojo. Código del PDB (Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/>) 2KUY. En la parte de abajo, una mirada a las características de la molécula.

del regulador de transporte de cationes proapoptóticos (es decir, CHAC1) fue la responsable de la reducción de la tumorigénesis de HNSCC. También se ha demostrado que el alto contenido de nisina ZP (95%) induce apoptosis a través de una vía dependiente de la calpaína en HNSCC, pero no en los queratinocitos in vitro (Kamarajan et al., 2015). Los autores demostraron además que la nisina a altas concentraciones redujo la tumorigénesis de HNSCC y extendió la supervivencia in vivo, sin evidencia de inflamación, fibrosis o necrosis en el hígado, pulmón o riñones. Estos hallazgos demuestran la posible aplicación biomédica de bacteriocinas, especialmente en el tratamiento del cáncer.

Desventajas de las bacteriocinas

Las bacteriocinas también tienen inconvenientes, por ejemplo, el uso de bacteriocinas ha llevado al desarrollo de resistencia por parte de bacterias patógenas y encargadas de la descomposición de alimentos. Esto representa una problemática, especialmente con respecto a la seguridad alimentaria en la industria, ya que esta ha sido la aplicación primaria de las bacteriocinas (Zou et al., 2018). Por ejemplo, la resistencia natural a las bacteriocinas de Clase I ya se ha reportado en *Lactobacillus casei* (Breuer & Radler, 1996), *Streptococcus thermophilus* (Garde et al., 2004), *Streptococcus bovei* (Mantovani & Russell, 2001), *Streptococcus pneumoniae* (Kovács et al., 2006), *Pediococcus acidilactici* (Lacroix, 1998), *Listeria monocytogenes* (Collins et al., 2010), *Listeria innocua* (Maisnier-Patin & Richard, 1996), *Bacillus cereus* (Jarvis & Farr, 1971), *Bacillus subtilis* (Mascher et al., 2004), *Staphylococcus aureus* (Blake et al., 2011), *Clostridium botulinum*

(Mazzotta & Montville, 1999) y *Clostridium difficile* (McBride & Sonenshein, 2011). Además, la resistencia natural a las bacteriocinas de clase IIa, se ha reportado de igual manera en 1-8% de las cepas de tipo silvestre probadas (Preciado et al., 2016). Además, la resistencia natural a las bacteriocinas de clase IIa, se ha reportado en 1-8% de las cepas de tipo silvestre probadas (Preciado et al., 2016). Se ha identificado que existen cinco mecanismos de resistencia principales, descritos para las bacteriocinas en bacterias Gram positivas:

- Modificaciones de la pared celular, como la neutralización de carga negativa neta de la pared celular (McBride & Sonenshein, 2011; Vadyvaloo et al., 2004).
- Modificaciones de la composición de fosfolípidos de membrana, tal como una disminución en los fosfolípidos aniónicos en la membrana (Mazzotta & Montville, 1999)
- Inactivación enzimática de las bacteriocinas, tales como por la nisinasa (Jarvis, 1967) o la proteína de resistencia a la nisina (NRP) (Kramer et al., 2006)
- A través de transportadores de tipo ABC (Collins, Curtis, et al., 2010)
- A través de redes reguladoras de envoltente celular, como los sistemas de dos componentes VanRS y LiaRS (Blake et al., 2011; Collins, Curtis, et al., 2010; Mascher et al., 2004).

En contraste, las bacterias Gram negativas, como resultado de su membrana externa, son naturalmente más resistentes a las bacteriocinas que las bacterias Gram positivas (Prudêncio et al., 2015). Debido a esto, estrategias relevantes como: La adición de EDTA, se ha utilizado para

desestabilizar la membrana externa bacteriana, permitiendo así a las bacteriocinas poder entrar para llevar a cabo su acción (Gálvez et al., 2007; Martin-Visscher et al., 2011; Prudêncio et al., 2015). Sin embargo, varios factores pueden afectar la sensibilidad a este tratamiento, por ejemplo, la actividad de EDTA es sensible al pH, siendo más eficaz a un pH neutro, mientras que las bacteriocinas, como la nisina, son más eficaces a un pH ácido (Prudêncio et al., 2015). Debido a su naturaleza proteica, la mayoría de las bacteriocinas son sensibles a las proteasas, como la proteinasa K y la pepsina (Ansari et al., 2018), por lo tanto, uno de los evidentes mecanismos de resistencia a la bacteriocina es mediante la degradación proteolítica. Por ejemplo, enzimas específicas pueden degradar la nisina (nisinasa o NRP) (Jarvis & Farr, 1971; Kramer et al., 2006), lo que hace que la nisina sea más propensa a la degradación enzimática que otras bacteriocinas. Finalmente, aún existen grandes preocupaciones sobre la seguridad de las bacteriocinas para su uso en diferentes terapias de manera amplia en comparación, con la ya demostrada, para aquellas moléculas pequeñas que funcionan como drogas. Actualmente, hay estudios limitados sobre la farmacocinética, farmacodinámica, toxicidad e inmunogenicidad de las bacteriocinas (de Almeida Vaucher et al., 2011; Sahoo et al., 2017). La Farmacocinética y farmacodinámica de los medicamentos es un factor clave a considerar para cualquier uso terapéutica in vivo (Mathur et al., 2017). Generalmente, los péptidos cortos (<50 aminoácidos) tienen perfiles farmacocinéticos limitados debido a su incapacidad para cruzar las barreras biológicas (p. ej., membranas plasmáticas), esto debido a filtración renal

y/o pueden unirse/escindirse mediante proteínas séricas (Jallouk et al., 2015). Por ejemplo, se ha podido demostrar que el Lantibiótico MU1140 se une significativamente (92.7%) a los componentes del suero sanguíneo, disminuyendo la biodisponibilidad de esta bacteriocina, y por lo tanto, inhibiendo su actividad contra *Streptococcus pneumoniae* (Ghobrial et al., 2010). Este problema puede agravarse para ciertas bacteriocinas, que son inestables a pHs bajos a fisiológicos, reduciendo aún más su distribución y biodisponibilidad (Mathur et al., 2017). Sin embargo, la literatura sobre farmacocinética y farmacodinámica de bacteriocinas es muy limitada, por lo que estudios en estas líneas son necesarios.

Con respecto a la seguridad de las bacteriocinas, se sabe que los PAM en general, pueden actuar como sensibilizadores/alérgenos, y que pueden conducir a la sensibilización inmune del hospedero (inmunogenicidad), particularmente después de inyecciones repetidas (Bradshaw, 2003), en este sentido, las bacteriocinas podrían provocar una respuesta similar, principalmente porque son subproductos bacterianos. Reportes anteriores muestran que la bacteriocina TSU4 (Sahoo et al., 2017) y BLSP (de Almeida Vaucher et al., 2011; Kramer et al., 2006) administradas con el adyuvante completo de Freund resultaron en un aumento significativo de anticuerpos, en los días 21 y 42 para TSU4 y solo en el día 42, para BLSP (Field et al., 2019), en comparación con ratones de control, sin embargo, esto no fue observado cuando se usaron las bacteriocinas libres, por lo tanto, estos resultados indican una reacción inmune leve in vivo, aunque no probado por los autores. De esta manera, el uso de varias inyecciones de

bacteriocina podría provocar una mayor respuesta inmune, ya que el sistema se ha sensibilizado con la primera inyección. Otros reportes han demostrado que la nisina, tiene una dosis letal 50 (DL-50) en ratones de 6,950 mg/kg (de Almeida Vaucher et al., 2011; World Health Organization, 2014), por otro lado esta bacteriocina no tiene toxicidad en las células orales in vitro (Shin et al., 2015) ni en el intestino, riñón e hígado de ratones (de Almeida Vaucher et al., 2011; Kamarajan et al., 2015), y no tiene teratogenicidad in vivo (Gupta et al., 2008). Sin embargo, aún se necesitan más estudios para demostrar la seguridad de las bacteriocinas.

Usos biotecnológicos de las bacteriocinas

Existen beneficios potencialmente significativos al emplear bioingeniería moderna de vanguardia para avanzar en el descubrimiento, descripción y producción de péptidos tradicionalmente codificada por genes de bacterianos. Una de las mayores ventajas de la bioingeniería en el campo de los lantibióticos implica la creación de cepas que producen mayores cantidades de péptidos lantibióticos (Suda et al., 2010). Otra estrategia para mejorar las cepas productoras de lantibióticos es conjugar múltiples plásmidos codificadores de bacteriocinas grandes en una sola cepa (Collins et al., 2010), por lo que es capaz de tener tanto rango estrecho como amplio de acción siendo así más afectiva que el tipo silvestre (O'Sullivan, 2003). También es posible lograr este objetivo a través de la amplificación y clonación de genes codificadores de lantibióticos en vectores lanzadera y producción heteróloga en otras cepas, tal enfoque ha sido utilizado para mejorar la producción de lacticina 3147 por

Enterococcus (Ryan et al., 2001). La bioingeniería de los péptidos existentes también podría conducir a la creación de lantibióticos con potencia mejorada y/o adecuados para aplicaciones específicas (Collins et al., 2010). Varios estudios han permitido una mejor comprensión de las relaciones estructura/función de los lantibióticos específicos y han resaltado la importancia de la región de bisagra en la nisina y los péptidos relacionados, las alteraciones moderadas en esta región resultaron en mutantes sin actividad de mutacina II (Chen et al., 1998), o actividad mejorada de nisina Z, o incluso estabilidad mejorada a alta temperatura y/o en condiciones neutras o alcalinas (Yuan et al., 2004). Además, para mejorar la actividad o el espectro inhibitorio, se han desarrollado péptidos con características mejoradas. Por ejemplo, los estudios de nisina Z, han logrado que la solubilidad y la estabilidad mejoraran significativamente mediante la ingeniería de péptidos sin reducir de manera drástica la actividad específica (Rollema et al., 1995). También es posible transformar drásticamente los péptidos lantibióticos y no lantibióticos alterando las modificaciones existentes o introduciendo nuevas modificaciones postraduccionales mediante la aplicación de enzimas específicas. Para proporcionar algunos ejemplos, la ciclasa de nisina (NisC) se utilizó para ciclar y proteger péptidos no lantibióticos contra peptidasas y proteasas (Rink et al., 2007), una propiedad que es particularmente útil desde el punto de vista del diseño del fármaco, mientras que la deshidratasa de nisina (NisB) se ha usado para introducir residuos tipo cisteína que facilitan la formación de puentes de tioéter en varios péptidos (Kluszens et al., 2005). Según Mills y colaboradores

(2011) (Mills et al., 2011), la bioingeniería de bacteriocinas no se limita a los lantibióticos, por lo que han dedicado mucho esfuerzo al estudio de la subclase IIa de bacteriocinas para determinar las relaciones de estructura y función. Aunque las variantes generadas en este tipo de estudios son útiles desde un punto de vista académico, ninguna de ellas muestra una mayor actividad contra varios microorganismos (Kazazic et al., 2002).

• **Control de bacterias multidrogo resistentes:**

Los antibióticos fueron aprobados por primera vez por la US-FDA en 1951, y se utilizaron en la alimentación animal, lo que redujo significativamente el número de muertes debido a casos de infección bacteriana. Sin embargo, el problema con patógenos que presentan múltiples resistencia a los medicamentos se ha vuelto cada vez más grave, debido a las preocupaciones sobre el abuso de antibióticos (Joerger, 2001). El uso de bacteriocinas para reemplazar los antibióticos usados en la producción avícola y porcina debido a la resistencia a los antimicrobianos desarrollados por las bacterias patógenas. Por ejemplo, se han realizado diferentes investigaciones y ensayos para la implementación de bacteriocinas, como CBE V24 producida por *E. faecalis* para reducir el número de bacterias patógenas humanas en el estiércol (Lagha et al., 2017). De igual manera, se han realizado investigaciones debido a la aparición de infecciones urinarias que han presentado problemas de resistencia a los antibióticos, en estas se han usado bacteriocinas producidas por *Lactobacillus fermentum* contra infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* MRSA, *Proteus* spp, y otras bacterias (Mokoena, 2017).

• **Preservación alimentos:**

El uso de preservantes en alimentos surge por la necesidad de conservar los alimentos y retrasar su deterioro (Agencia Española de seguridad alimentaria, 2003). Para el uso de preservantes se debe tener en cuenta el tipo de alimento y si este permite su adición de este tipo de moléculas. La implementación de estos preservantes se usa regularmente en alimentos perecederos como leche, carne, entre otros; La dosis de uso es regulada por la norma de cada alimento en cuestión, y este debe tener un uso justificado, que brinde una ventaja y no sea un riesgo para el consumidor, además de que proporcione una mejor calidad nutricional y no cause cambios negativos en las propiedades organolépticas al alimento (Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura., 2018). Se ha documentado el uso de bacteriocinas en este campo, por ejemplo, la actividad antimicrobiana de las bacteriocinas de clase IIa contra el patógeno de alimentos *Listeria monocytogenes* en alimentos refrigerados, la pediocina PA-1 se ha estudiado de igual manera para el Nham, una salchicha de cerdo tradicional tailandesa se ha identificado que la bacteriocina fue capaz de controlar efectivamente el crecimiento de *Listeria monocytogenes* sin comprometer la calidad del Nham. En otros casos, se conoce el uso de la enterocina producida por *Enterococcus faecalis* para la biopreservación de salchichas principalmente contra *Staphylococcus aureus*; Nisina producida por *Lactococcus lactis* para el control de *Brochothrix thermosphacta* en cerdo y de *Listeria monocytogenes* en leche fermentada (Balciunas et al., 2013). Adicionalmente, se ha evaluado la adición de bacteriocinas a películas

de empaques y envases para alimentos con el fin de proteger los alimentos y evitar su refrigeración, proceso que en algunos casos encarece de manera significativa el producto alimentario (Kingcha et al., 2012; Perez et al., 2014).

• **Enfermedades asociadas a patógenos:**

Se ha documentado que las bacteriocinas inhiben importantes patógenos animales y vegetales, como *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (MRSA), VRE, *Agrobacterium* y *Brenneria* spp. (Cotter et al., 2013; Grinter et al., 2012). El mecanismo bactericida de las bacteriocinas se encuentra principalmente en la unión al receptor de las superficies de las bacterias, y luego a través de la membrana, lo que causa la citotoxicidad de las bacterias.

• **Salud humana y animal:**

Teniendo en cuenta que las bacteriocinas se agregan de forma natural y legal en los alimentos, las bacteriocinas pueden ser adecuadas como posibles candidatos a fármacos antitumorales. Algunas bacteriocinas, como la colicina A y E1 formadoras de poros, inhibieron el crecimiento de una línea de fibroblastos estándar humana MRC5 y 11 líneas de células tumorales humanas (Smarda, 2003). Por el contrario, la colicina formadora de poros y la actividad de colicina E3 ARNasa no mostraron esta capacidad de inhibición del crecimiento. La colicina D, E2, E3 y la colicina A formadora de poros pueden inhibir la viabilidad de las células de leucemia murina P388, mientras que la colicina E1 y la colicina E3 formadoras de poros suprimieron los monoblastos de pollo transformados en v-myb (Fuska et al., 1978; Lancaster et al., 2007).

En un estudio se aisló *E. coli* de las heces de 77 pacientes con carcinoma colorrectal, en este estudio se encontró que 32 pacientes (41,6%) tenían *E. coli* productora de bacteriocinas (Bures et al., 1986). Otro reporte identificó que, en las heces de 160 personas sanas, 102 personas (63.8%) tenían *E. coli* productora de bacteriocinas, lo que también mostró que las colicinas de bacterias en el intestino pueden ser uno de los factores para reducir el carcinoma colorrectal humano. Las colicinas podrían actuar como un medicamento contra el cáncer de potencial moderado, de igual manera, los suplementos de probióticos productores de bacteriocina pueden ser otra forma de prevenir potencialmente la aparición de este.

El posible uso de las bacteriocinas contra enfermedades del tracto intestinal es una idea que viene en proceso de investigación, donde se plantea usar bacteriófagos como moduladores de diversidad y abundancia en la flora intestinal y a su vez las bacteriocinas inhibirían las cepas competidoras al influir en el nicho, permitiendo así la supervivencia de las comunidades específicas en el tracto gastrointestinal (Lopetuso et al., 2019). Estudios en el área descubrieron que 20 tipos de *E. coli* podían expresar colicina, la cual inhibía a su vez cinco tipos de *E. coli* productoras de toxina Shiga (O26, O111, O128, O145 y O157:H7), las cuales pueden causar diarrea y síndrome urémico hemolítico en humanos (Knapen & Lipman, 2001).

En un ambiente simulado del rumen de ganado, las colicinas E1, E4, E8-J, K y S4 producidas por *E. coli* pueden inhibir significativamente el crecimiento de STEC (Stahl et al., 2004). Para esta investigación, los autores utilizaron colicina E1 purificada y

colicina N con el fin de tener una actividad efectiva contra las E. coli enterotoxigénicas F4 (K88) y F18, las cuales causan diarrea después del destete en lechones, el tratamiento llevó a una notoria mejoría en el crecimiento de los lechones evaluados (Cutler et al., 2007). Józefiak y colaboradores (Józefiak et al., 2013) utilizaron la dieta de aves suplementada con nisina, para alimentar pollos de engorde, y encontraron un número reducido de Bacteroides y Enterobacteriaceae en la digestión ileal de pollos suplementados con nisina. La acción de la nisina fue similar a la de la salinomicina, después de un crecimiento de 35 días, el aumento de peso corporal promedio de los pollos suplementados con nisina (2.700 UI de nisina/g) fue de 1918 g/ave, que fue mayor que los 1.729 g con los suplementos sin nisina o los 1.763 g de suplementos de salinomicina. Stern y colaboradores (Stern et al., 2006) informaron que la bacteriocina de clase II de bajo peso molecular, OR-7, se purificó de la cepa NRRL B-30514 de *Lactobacillus salivarius*, identificándose que esta bacteriocina presenta actividad contra el patógeno de gastroenteritis humana *Campylobacter jejuni*. Se identificó, adicionalmente, que OR-7 presenta estabilidad cuando era tratada con lisozima, lipasa, temperatura 90°C, y con rangos de pH de 3,0 a 9,1. La bacteriocina OR-7 se encapsuló en polivinilpirrolidona para alimentación de pollos, mediante este tratamiento se identificó que las poblaciones de *C. jejuni* se redujo al menos un millón de veces en la materia fecal de pollos tratados. Estos resultados sugieren que la nisina, OR-7 y otras bacteriocinas, poseen un gran potencial cuando se aplica para reemplazar los antibióticos en aves y otros alimentos para animales.

Bases de datos de bioinformática para bacteriocinas

En la actualidad existen diversas bases de datos de consulta para el tema de bacteriocinas, en ellas se pueden realizar diversos tipos de análisis para estas moléculas, por ejemplo, análisis filogenéticos, identificación moléculas, predicción de estructura, y evaluación a nivel genómico de la presencia de genes codificantes de este tipo de moléculas, entre estas tenemos:

- **NucleBact** <https://pubmlst.org/nuclebact/>: Esta base de datos permite el análisis filogenético de las bacteriocinas tipo nucleasas y secuencias de inmunidad junto con la predicción de la susceptibilidad de la bacteriocina entre las proteobacterias
- **BactiBase** <http://bactibase.hamamamilab.org/main.php>: Esta base de datos contiene estadísticas sobre propiedades fisicoquímicas calculadas o predichas de 227 bacteriocinas producidas por bacterias Grampositivas (206) y Gramnegativas (19). Adicionalmente, esta base de datos permite una rápida predicción de la estructura/función respecto a la relación con el organismo objetivo y, por lo tanto, una mejor explotación de su actividad biológica en los sectores médico y alimentario.
- **LABiocin** <https://labiocin.univ-lille.fr/>: Es una base de datos gratuita desarrollada por la Universidad de Lille, la cual se centra en el tema de las bacterias del ácido láctico (LAB) y sus bacteriocinas. Esta base de datos contiene una gran cantidad de información extraída de bases de datos como pubmed y Uniprot, además, de proporcionar un enlace para BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) que permite al usuario consultar bases de datos de proteínas y recuperar

similitudes, construir árboles filogenéticos tanto para las bacterias productoras de bacteriocina como para las secuencias de bacteriocina peptídica.

- En el portal web <http://ocins.cftri.com/> Instituto Central de Investigación Tecnológica de los Alimentos desarrollado por el Ministerio de ciencia y tecnología del gobierno de India ofrece una herramienta de consulta y con enlace a BLAST para alineamientos de los QSTs (proteínas quinasas Serina/ Treonina) de algunas bacterias gram positivas como las LAB.
- El software **Bagel4** <http://bagel4.molgenrug.nl/> permite a partir de una secuencia de ADN bacteriano y RiPP obtener la bacteriocina, este software cuenta con una base de datos de más de 400 registros de bacteriocinas y una colección de genomas de más de 120 mil.
- El Instituto Mediterráneo de Infección <https://www.mediterranee-infection.com/acces-ressources/base-de-donnees/bur-bacteriocins-database-urmitte/> diseño un sistema que implementa el mismo algoritmo que usa BLAST, sin embargo este lo hace mediante alineamientos entre secuencias de bacteriocinas llamándolo así BLASTBACTERIOCINES <https://ifr48.timone.univ-mrs.fr/blast/blastbacteriocines.html> que compara con bases de datos incluidas las cuales cuentan con 1984 registros de secuencias de bacteriocinas pertenecientes a 79 géneros diferentes.

Mercado de bacteriocinas a nivel mundial.

El mercado de la terapéutica de péptidos posee el 2-3% de la participación en el mercado farmacéutico global. El mercado mundial de los péptidos antimicrobianos está altamente fragmentado y valorado en 1.060 millones de dólares para el 2015 y se prevé que el

mercado mundial de péptidos antimicrobianos crecerá a una tasa compuesta anual del 7,5% durante el período 2017-2030. Europa y América del Norte son las regiones líderes en el mercado mundial de péptidos antimicrobianos debido a la gran inversión en I + D. Colectivamente, Europa y América del Norte tenían aproximadamente el 80% del mercado mundial de péptidos antimicrobianos en 2016. El mercado de péptidos antimicrobianos de América del Norte presento un valor de 0,44 mil millones de dólares para el 2016. El mercado de péptidos antimicrobianos de Asia Pacífico fue valorado en 0,18 mil millones de dólares para el 2016 y se espera que muestre un crecimiento potencial del mercado en un futuro próximo. Es probable que la creciente inversión en I+D para desarrollar nuevos péptidos antimicrobianos en países como Australia, Japón, Singapur y Corea del Sur contribuya al crecimiento del mercado de péptidos antimicrobianos en la región. Sin embargo, América Latina y el Ministerio de Asuntos Externos (MEA) en conjunto tienen solo una participación del 2-4% del mercado mundial de péptidos antimicrobianos debido a la falta de disponibilidad de servicios médicos en la región. Específicamente, el ecosistema para el mercado global de nisina consiste en proveedores clave, incluidos los fabricantes de conservantes naturales e ingredientes de alimentos naturales. Estos son participantes importantes en el ecosistema, ya que juegan un papel crucial en las industrias de aplicaciones. Varias empresas, como Danisco A/S (Europa), Royal DSM NV (Países Bajos), Siveele BV (Países Bajos), Galactic (Alemania), Shandong Freda Biotechnology Co., Ltd. (China), Zhejiang Silver-Elephant Bio-engineering Co. Ltd. (China) y.

Chihon Biotechnology Co., Ltd. (China) son los actores clave en este mercado. El mercado de nisina se valoró en USD 442.3 millones en 2015, y se proyecta que crezca a una tasa compuesta anual de 4.3% de 2015 a 2020, para alcanzar USD 545.5 millones en

2020. Hasta la fecha, solo las bacteriocinas producidas comercialmente son la Nisina (*Lactococcus lactis*) y la Pediocina (*Pediococcus acidilactici*) y otras aún están en proceso de obtener un estado comercial para ser utilizadas como conservantes de alimentos.

Tabla 1. Bacteriocinas producidas comercialmente

Bacteriocina	Nombre comercial	Productor cepa	Fabricación
Nisin	Nisaplin	<i>Lactococcus lactis</i>	Danisco, Copenhagen Denmark
Pediocin	PA1ALTA 2431	<i>Pediococcus acidilactici</i>	Kerry Biosciences Carrigaline Ireland
Nisin	MAYNISIN	<i>Lactococcus sp.</i>	MAYSA GIDA San ve Tic. A.S Turkey
Nisin	Nisitrol	<i>Lactococcus sp.</i>	Bimal Pharma Pvt. Ltd. India
Nisin	SAFRESHTM	<i>Lactococcus sp.</i>	Wuhan Amth Biotechnology Co., Ltd. China
Nisin	YP-1000 Nisin	<i>Lactococcus lactis</i>	China (National) Abrasives Corp

Conclusiones

Las bacteriocinas son uno de los muchos mecanismos de defensa naturales que las bacterias usan para competir contra los microorganismos en el mismo ambiente. Desde el descubrimiento de la nisina, se han descrito muchas bacteriocinas con estructuras únicas y diferentes modos de acción, y se han reportado los genes que codifican la producción, secreción e inmunidad de la mayoría de ellas. Durante la última década, muchos investigadores cambiaron su enfoque en las bacteriocinas para la conservación de alimentos al tratamiento de infecciones y de bacterias que causan enfermedades resistentes a los antibióticos. En esta nueva era de investigación en bacteriología la cual indudablemente, conducirá a nuevos inventos y nuevas aplicaciones.

Actualmente, la producción de todas las bacteriocinas, excepto las más pequeñas, solo es imaginable mediante el cultivo de organismos productores naturales o genéticamente modificados. Con la velocidad a la que las secuencias del genoma están disponibles, la extracción de genes se vuelve más fácil, y con las últimas técnicas en síntesis de genes y expresión de proteínas, podemos esperar nuevas bacteriocinas con aplicaciones muy especializadas. Se puede esperar que las inversiones en investigación y desarrollo sean altas, y el tamaño del mercado es difícil de predecir, pero el hecho de que la nisina haya encontrado usos comerciales indica que los aspectos económicos no son barreras insuperables para las aplicaciones de bacteriocinas.

6. Referencias bibliográficas

- Agencia Española de seguridad alimentaria. (2003). Seguridad Alimentaria.
- Ansari, A., Zohra, R. R., Tarar, O. M., Qader, S. A. U., & Aman, A. (2018). Screening, purification and characterization of thermostable, protease resistant Bacteriocin active against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *BMC Microbiology*, 18(1), 192. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1337-y>
- Baindara, P., Korpole, S., & Grover, V. (2018). Bacteriocins: perspective for the development of novel anticancer drugs. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(24), 10393–10408. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9420-8>
- Balciunas, E. M., Castillo Martinez, F. A., Todorov, S. D., Franco, B. D. G. de M., Converti, A., & Oliveira, R. P. de S. (2013). Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. *Food Control*, 32(1), 134–142. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.025>
- Bastos, M. do C. de F., Coutinho, B. G., & Coelho, M. L. V. (2010). Lysostaphin: A Staphylococcal Bacteriolysin with Potential Clinical Applications. *Pharmaceuticals*, 3(4), 1139–1161. <https://doi.org/10.3390/ph3041139>
- Blake, K. L., Randall, C. P., & O'Neill, A. J. (2011). In Vitro Studies Indicate a High Resistance Potential for the Lantibiotic Nisin in *Staphylococcus aureus* and Define a Genetic Basis for Nisin Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(5), 2362–2368. <https://doi.org/10.1128/AAC.01077-10>
- Bradshaw, J. P. (2003). Cationic Antimicrobial Peptides. *BioDrugs*, 17(4), 233–240. <https://doi.org/10.2165/00063030-200317040-00002>
- Braun, V., Pilsel, H., & GroB, P. (1994). Colicins: structures, modes of action, transfer through membranes, and evolution. *Archives of Microbiology*, 161(3), 199–206. <https://doi.org/10.1007/BF00248693>
- Breuer, B., & Radler, F. (1996). Inducible resistance against nisin in *Lactobacillus casei*. *Archives of Microbiology*, 165(2), 114–118. <https://doi.org/10.1007/s002030050305>
- Bures, J., Horák, V., Fixa, B., Komárková, O., Zaydlar, K., Lonský, V., & Masurka, V. (1986). Colicinogeny in colorectal cancer. *Neoplasma*, 33(2), 233–237. Retrieved from <http://europepmc.org/abstract/MED/3520352>
- Cascales, E., Buchanan, S. K., Duche, D., Kleanthous, C., Lloubes, R., Postle, K., ... Cavard, D. (2007). Colicin Biology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(1), 158–229. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00036-06>
- Cascales, Eric, Buchanan, S. K., Duché, D., Kleanthous, C., Lloubès, R., Postle, K., ... Cavard, D. (2007). Colicin Biology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(1), 158–229. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00036-06>
- Chen, P., Novak, J., Kirk, M., Barnes, S., Qi, F., & Caufield, P. W. (1998). Structure-activity study of the lantibiotic mutacin II from *Streptococcus mutans* T8 by a gene replacement strategy. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(7), 2335–2340. <https://doi.org/9647795>
- Chikindas, M., Weeks, R., Drider, D., Chistyakov, V., & Dicks, L. (2018). Functions and emerging applications of bacteriocins. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.07.011>
- Collin, F., & Maxwell, A. (2019). The Microbial Toxin Microcin B17: Prospects for the Development of New Antibacterial Agents. *Journal of Molecular Biology*, 431(18), 3400–3426. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.05.050>
- Collins, B., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, P. (2010). Applications of Lactic Acid

- Bacteria-Produced Bacteriocins. In *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria* (pp. 89–109). <https://doi.org/10.1002/9780813820866.ch5>
- Collins, B., Curtis, N., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2010). The ABC Transporter AnrAB Contributes to the Innate Resistance of *Listeria monocytogenes* to Nisin, Bacitracin, and Various β -Lactam Antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(10), 4416–4423. <https://doi.org/10.1128/AAC.00503-10>
- Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2005). Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology*, 3(10), 777–788. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1273>
- Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2013). Bacteriocins — a viable alternative to antibiotics? *Nature Reviews Microbiology*, 11(2), 95–105. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2937>
- Cutler, S. A., Lonergan, S. M., Cornick, N., Johnson, A. K., & Stahl, C. H. (2007). Dietary Inclusion of Colicin E1 Is Effective in Preventing Postweaning Diarrhea Caused by F18-Positive *Escherichia coli* in Pigs. 51(11), 3830–3835. <https://doi.org/10.1128/AAC.00360-07>
- de Almeida Vaucher, R., de Campos Velho Gewehr, C., Folmer Correa, A. P., Sant'Anna, V., Ferreira, J., & Brandelli, A. (2011). Evaluation of the immunogenicity and in vivo toxicity of the antimicrobial peptide P34. *International Journal of Pharmaceutics*, 421(1), 94–98. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.09.020>
- Duquesne, S., Petit, V., Peduzzi, J., & Rebuffat, S. (2007). Structural and Functional Diversity of Peptides from Enterobacteria. 200–209. <https://doi.org/10.1159/000104748>
- Field, D., Blake, T., Mathur, H., Connor, P. M. O., Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2019). Bioengineering nisin to overcome the nisin resistance protein. 111(February), 717–731. <https://doi.org/10.1111/mmi.14183>
- Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L., & Omar, N. Ben. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1–2), 51–70. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.001>
- Garde, S., Ávila, M., Medina, M., & Nuñez, M. (2004). Fast induction of nisin resistance in *Streptococcus thermophilus* INIA 463 during growth in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 96(2), 165–172. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.023>
- Ghequire, M. G. K., & De Mot, R. (2014). Ribosomally encoded antibacterial proteins and peptides from *Pseudomonas*. *FEMS Microbiology Reviews*, 38(4), 523–568. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12079>
- Ghobrial, O., Derendorf, H., & Hillman, J. D. (2010). Human serum binding and its effect on the pharmacodynamics of the lantibiotic MU1140. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41(5), 658–664. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2010.09.005>
- Grinter, R., Milner, J., & Walker, D. (2012). Bacteriocins active against plant pathogenic bacteria. *Biochemical Society Transactions*, 40(6), 1498–1502. <https://doi.org/10.1042/BST20120206>
- Guasch, J., Enfedaque, J., Fer, S., Gargallo, D., & Regué, M. (1995). Bacteriocin 28b, a chromosomally encoded bacteriocin produced by most *Serratia marcescens* biotypes. 477–483.
- Gupta, S. M., Aranha, C. C., & Reddy, K. V. R. (2008). Evaluation of developmental toxicity of microbicide Nisin in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 598–603. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.006>

- Heng, N. C., Wescombe, P. A., Burton, J. P., Jack, R. W., & Tagg, J. R. (2007). The Diversity of Bacteriocins in Gram-Positive Bacteria. In *Bacteriocins* (pp. 45–92). https://doi.org/10.1007/978-3-540-36604-1_4
- J. Fuska, Alzbeta Fuskova, J. S. and J. M. (1978). Effect of colicin E3 on leukemia cells P 388 in vitro . (1), 406–407.
- Jallouk, A. P., Palekar, R. U., Pan, H., Schlesinger, P. H., & Wickline, S. A. (2015). Modifications of Natural Peptides for Nanoparticle and Drug Design. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2014.12.001>
- Jarvis, B. (1967). Resistance to Nisin and Production of Nisin-Inactivating Enzymes by Several Bacillus Species. *Journal of General Microbiology*, 47(1), 33–48. <https://doi.org/10.1099/00221287-47-1-33>
- Jarvis, B., & Farr, J. (1971). Partial purification, specificity and mechanism of action of the nisin-inactivating enzyme from *Bacillus cereus*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Enzymology*, 227(2), 232–240. [https://doi.org/10.1016/0005-2744\(71\)90056-8](https://doi.org/10.1016/0005-2744(71)90056-8)
- Jenssen, H., Hamill, P., & Hancock, R. E. W. (2006). Peptide Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 491–511. <https://doi.org/10.1128/CMR.00056-05>
- Joerger, R. D. (2001). Alternatives to Antibiotics: Bacteriocins, Antimicrobial Peptides and Bacteriophages. *Poultry Science*, 82(4), 640–647. <https://doi.org/10.1093/ps/82.4.640>
- Joo, N. E., Ritchie, K., Kamarajan, P., Miao, D., & Kapila, Y. L. (2012). Nisin, an apoptogenic bacteriocin and food preservative, attenuates HNSCC tumorigenesis via CHAC1. *Cancer Medicine*, 1(3), 295–305. <https://doi.org/10.1002/cam4.35>
- Józefiak, D., Kierończyk, B., Juśkiewicz, J., Zduńczyk, Z., Rawski, M., Sip, A., & Højberg, O. (2013). Dietary Nisin Modulates the Gastrointestinal Microbial Ecology and Enhances Growth Performance of the Broiler Chickens. 8(12), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085347>
- Kamarajan, P., Hayami, T., Matte, B., Liu, Y., Danciu, T., Ramamoorthy, A., ... Kapila, Y. (2015). Nisin ZP, a Bacteriocin and Food Preservative, Inhibits Head and Neck Cancer Tumorigenesis and Prolongs Survival. *PLOS ONE*, 10(7), e0131008. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131008>
- Kazazic, M., Nissen-Meyer, J., & Fimland, G. (2002). Mutational analysis of the role of charged residues in target-cell binding, potency and specificity of the pediocin-like bacteriocin sakacin P. *Microbiology*, 148(7), 2019–2027. <https://doi.org/10.1099/00221287-148-7-2019>
- Kingcha, Y., Tosukhowong, A., Zendo, T., Roytrakul, S., Luxananil, P., Charonpornsook, K., ... Visessanguan, W. (2012). Anti-listeria activity of *Pediococcus pentosaceus* BCC 3772 and application as starter culture for Nham, a traditional fermented pork sausage. *Food Control*, 25(1), 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.005>
- Kleanthous, C. (2010). Swimming against the tide: progress and challenges in our understanding of colicin translocation. *Nature Reviews Microbiology*, 8(12), 843–848. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2454>
- Kluskens, L. D., Kuipers, A., Rink, R., de Boef, E., Fekken, S., Driessen, A. J. M., ... Moll, G. N. (2005). Post-translational modification of therapeutic peptides by NisB, the dehydratase of the lantibiotic nisin. *Biochemistry*, 44(38), 12827–12834. <https://doi.org/10.1021/bi050805p>
- Knapen, F. Van, & Lipman, L. J. A. (2001). Sensitivity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains

- for colicins under different experimental conditions. 204.
- Kovács, M., Halfmann, A., Fedtke, I., Heintz, M., Peschel, A., Vollmer, W., ... Brückner, R. (2006). A Functional *dlt* Operon, Encoding Proteins Required for Incorporation of d-Alanine in Teichoic Acids in Gram-Positive Bacteria, Confers Resistance to Cationic Antimicrobial Peptides in *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Bacteriology*, 188(16), 5797–5805. <https://doi.org/10.1128/JB.00336-06>
- Kramer, N. E., van Hijum, S. A. F. T., Knol, J., Kok, J., & Kuipers, O. P. (2006). Transcriptome Analysis Reveals Mechanisms by Which *Lactococcus lactis* Acquires Nisin Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(5), 1753–1761. <https://doi.org/10.1128/AAC.50.5.1753-1761.2006>
- Lacroix, F. G. M. (1998). Characterization of nisin-resistant variants of *Pediococcus acidilactici* UL5, a producer of pediocin. *Journal of Applied Microbiology*.
- Lagha, A. Ben, Haas, B., Gottschalk, M., & Grenier, D. (2017). Antimicrobial potential of bacteriocins in poultry and swine production. *Veterinary Research*, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0425-6>
- Lancaster, L. E., Wintermeyer, W., & Rodnina, M. V. (2007). Colicins and their potential in cancer treatment. 38, 15–18. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2006.10.006>
- Lopetuso, L. R., Giorgio, M. E., Saviano, A., Scaldaferri, F., Gasbarrini, A., & Cammarota, G. (2019). Bacteriocins and bacteriophages: Therapeutic weapons for gastrointestinal diseases? *International Journal of Molecular Sciences*, 20(1). <https://doi.org/10.3390/ijms20010183>
- M.C. Rea, R.P. Ross, P.D. Cotter, C. H. (2011). Classification of bacteriocins from gram-positive bacteria. In *Prokaryotic Antimicrobial Peptides* (pp. 29–53). Maisnier-Patin, S., & Richard, J. (1996). Cell wall changes in nisin-resistant variants of *Listeria innocua* grown in the presence of high nisin concentrations. *FEMS Microbiology Letters*, 140(1), 29–35. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1996.tb08310.x>
- Mantovani, H. C., & Russell, J. B. (2001). Nisin Resistance of *Streptococcus bovis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(2), 808–813. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.2.808-813.2001>
- Martin-Visscher, L. A., Yoganathan, S., Sit, C. S., Lohans, C. T., & Vederas, J. C. (2011). The activity of bacteriocins from *Carnobacterium maltaromaticum* UAL307 against Gram-negative bacteria in combination with EDTA treatment. *FEMS Microbiology Letters*, 317(2), 152–159. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02223.x>
- Mascher, T., Zimmer, S. L., Smith, T.-A., & Helmann, J. D. (2004). Antibiotic-Inducible Promoter Regulated by the Cell Envelope Stress-Sensing Two-Component System LiaRS of *Bacillus subtilis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(8), 2888–2896. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.8.2888-2896.2004>
- Mathur, H., Field, D., Rea, M. C., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2017). Bacteriocin-Antimicrobial Synergy: A Medical and Food Perspective. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01205>
- Mazzotta, A. S., & Montville, T. J. (1999). Characterization of fatty acid composition, spore germination, and thermal resistance in a nisin-resistant mutant of *Clostridium botulinum* 169B and in the wild-type strain. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(2), 659–664. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9925597>

- McBride, S. M., & Sonenshein, A. L. (2011). The dlt operon confers resistance to cationic antimicrobial peptides in *Clostridium difficile*. *Microbiology*, 157(5), 1457–1465. <https://doi.org/10.1099/mic.0.045997-0>
- Medine Güllüce, M. K. and Ö. B. (2015). Bacteriocins : Promising Natural Antimicrobials Bacteriocins : Promising Natural Antimicrobials. (January 2013). <https://doi.org/10.13140/2.1.5014.5606>
- Mills, S., Stanton, C., Hill, C., & Ross, R. P. (2011). New Developments and Applications of Bacteriocins and Peptides in Foods. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2(1), 299–329. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022510-133721>
- Mokoena, M. P. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins : Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>
- Netz, D. J. A., Pohl, R., Beck-Sickinger, A. G., Selmer, T., Pierik, A. J., Bastos, M. do C. de F., & Sahl, H.-G. (2002). Biochemical Characterisation and Genetic Analysis of Aureocin A53, a New, Atypical Bacteriocin from *Staphylococcus aureus*. *Journal of Molecular Biology*, 319(3), 745–756. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(02\)00368-6](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(02)00368-6)
- Netz, D. J. A., Sahl, H.-G., Marcolino, R., dos Santos Nascimento, J., de Oliveira, S. S., Soares, M. B., & do Carmo de Freire Bastos, M. (2001). Molecular characterisation of aureocin A70, a multi-peptide bacteriocin isolated from *Staphylococcus aureus*11 Edited by M. Yaniv. *Journal of Molecular Biology*, 311(5), 939–949. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.4885>
- Nissen-Meyer, J., Rogne, P. A., Oppegard, C., Haugen, H., & Kristiansen, P. E. (2009). Structure-Function Relationships of the Non-Lanthionine-Containing Peptide (class II) Bacteriocins Produced by Gram-Positive Bacteria. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 10(1), 19–37. <https://doi.org/10.2174/138920109787048661>
- O’Sullivan, L., Ryan, M. P., Ross, R. P., & Hill, C. (2003). Generation of Food-Grade Lactococcal Starters Which Produce the Lantibiotics Lacticin 3147 and Lacticin 481. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(6), 3681–3685. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.6.3681-3685.2003>
- Oman, T. J., Boettcher, J. M., Wang, H., Okalibe, X. N., & van der Donk, W. A. (2011). Sublancin is not a lantibiotic but an S-linked glycopeptide. *Nature Chemical Biology*, 7(2), 78–80. <https://doi.org/10.1038/nchembio.509>
- Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. (2018). Norma general para los aditivos alimentarios.
- Perez, R. H., Zendo, T., & Sonomoto, K. (2014). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): Various structures and applications. *Microbial Cell Factories*, 13(Suppl 1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S3>
- Preciado, G. M., Michel, M. M., Villareal-Morales, S. L., Flores-Gallegos, A. C., Aguirre-Joya, J., Morlett-Chávez, J., ... Rodríguez-Herrera, R. (2016). Bacteriocins and Its Use for Multidrug-Resistant Bacteria Control. In *Antibiotic Resistance* (pp. 329–349). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803642-6.00016-2>
- Prudêncio, C. V., dos Santos, M. T., & Vanetti, M. C. D. (2015). Strategies for the use of bacteriocins in Gram-negative bacteria: relevance in food microbiology. *Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 5408–5417. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1666-2>
- Radaic, A., de Jesus, M. B., & Kapila, Y. (2020). Bacterial anti-microbial peptides

- and nano-sized drug delivery systems: The state of the art toward improved bacteriocins. *Journal of Controlled Release*, 321, 100–118. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.02.001>
- Rea, M., Ross, P., Cotter, P., & Hill, C. (2011). Classification of Bacteriocins from Gram-Positive Bacteria. In *Prokaryotic Antimicrobial Peptides* (pp. 29–53). https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7692-5_3
- Rebuffat, S. (2012). Microcins in action: amazing defence strategies of Enterobacteria. *Biochemical Society Transactions*, 40(6), 1456–1462. <https://doi.org/10.1042/BST20120183>
- Riley, M. A., & Wertz, J. E. (2002). Bacteriocins: Evolution, Ecology, and Application. *Annual Review of Microbiology*, 56(1), 117–137. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.161024>
- Rink, R., Kluskens, L. D., Kuipers, A., Driessen, A. J. M., Kuipers, O. P., & Moll, G. N. (2007). NisC, the Cyclase of the Lantibiotic Nisin, Can Catalyze Cyclization of Designed Nonlantibiotic Peptides †. *Biochemistry*, 46(45), 13179–13189. <https://doi.org/10.1021/bi700106z>
- Rios, A. C., Moutinho, C. G., Pinto, F. C., Del Fiol, F. S., Jozala, A., Chaud, M. V., ... Balcão, V. M. (2016). Alternatives to overcoming bacterial resistances: State-of-the-art. *Microbiological Research*, 191, 51–80. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.04.008>
- Rollema, H. S., Kuipers, O. P., Both, P., de Vos, W. M., & Siezen, R. J. (1995). Improvement of solubility and stability of the antimicrobial peptide nisin by protein engineering. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(8), 2873–2878. <https://doi.org/7487019>
- Ryan, M. P., McAuliffe, O., Ross, R. P., & Hill, C. (2001). Heterologous expression of lacticin 3147 in *Enterococcus faecalis*: comparison of biological activity with cytolysin. *Letters in Applied Microbiology*, 32(2), 71–77. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2001.00864.x>
- Sahoo, T. K., Jena, P. K., Prajapati, B., Gehlot, L., Patel, A. K., & Seshadri, S. (2017). In Vivo Assessment of Immunogenicity and Toxicity of the Bacteriocin TSU4 in BALB/c Mice. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(3), 345–354. <https://doi.org/10.1007/s12602-016-9249-3>
- Shin, J.M., Gwak, J. W., Kamarajan, P., Fenno, J. C., Rickard, A. H., & Kapila, Y. L. (2016). Biomedical applications of nisin. *Journal of Applied Microbiology*, 120(6), 1449–1465. <https://doi.org/10.1111/jam.13033>
- Shin, Jae M., Ateia, I., Paulus, J. R., Liu, H., Fenno, J. C., Rickard, A. H., & Kapila, Y. L. (2015). Antimicrobial nisin acts against saliva derived multi-species biofilms without cytotoxicity to human oral cells. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00617>
- Simons, A., Alhanout, K., & Duval, R. (2020). Bacteriocins, Antimicrobial Peptides from Bacterial Origin: Overview of Their Biology and Their Impact against Multidrug-Resistant Bacteria. *Microorganisms*, 8(5), 639. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050639>
- Smarda, J. C. J. (2003). Human Tumor Cells Are Selectively Inhibited by Colicins. 48(1), 111–115.
- Stahl, C. H., Callaway, T. R., Lincoln, L. M., Lonergan, S. M., & Genovese, K. J. (2004). Inhibitory Activities of Colicins against *Escherichia coli* Strains Responsible for Postweaning Diarrhea and Edema Disease in Swine. 48(8), 3119–3121. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.8.3119>
- Stepper, J., Shastri, S., Loo, T. S., Preston, J. C., Novak, P., Man, P., ... Norris, G. E.

- (2011). Cysteine S -glycosylation, a new post-translational modification found in glycopeptide bacteriocins. *FEBS Letters*, 585(4), 645–650. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2011.01.023>
- Stern, N. J., Svetoch, E. A., Eruslanov, B. V., Pereygin, V. V, Mitsevich, E. V, Mitsevich, I. P., ... Al, S. E. T. (2006). Isolation of a *Lactobacillus salivarius* Strain and Purification of Its Bacteriocin , Which Is Inhibitory to *Campylobacter jejuni* in the Chicken Gastrointestinal System. *50*(9), 3111–3116. <https://doi.org/10.1128/AAC.00259-06>
- Suda, S., Westerbeek, A., O'Connor, P. M., Ross, R. P., Hill, C., & Cotter, P. D. (2010). Effect of Bioengineering Lacticin 3147 Lanthionine Bridges on Specific Activity and Resistance to Heat and Proteases. *Chemistry & Biology*, 17(10), 1151–1160. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2010.08.011>
- Vadyvaloo, V., Arous, S., Gravesen, A., Héchard, Y., Chauhan-Haubrock, R., Hastings, J. W., & Rautenbach, M. (2004). Cell-surface alterations in class IIa bacteriocin-resistant *Listeria monocytogenes* strains. *Microbiology*, 150(9), 3025–3033. <https://doi.org/10.1099/mic.0.27059-0>
- World Health Organization. (2014). Safety evaluation of certain food additives and contaminants.
- Yuan, J., Zhang, Z.-Z., Chen, X.-Z., Yang, W., & Huan, L.-D. (2004). Site-directed mutagenesis of the hinge region of nisinZ and properties of nisinZ mutants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64(6), 806–815. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1599-1>
- Zou, J., Jiang, H., Cheng, H., Fang, J., & Huang, G. (2018). Strategies for screening, purification and characterization of bacteriocins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 781–789. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.233>

**BIOEMPAQUES PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA A PARTIR DE
NANOCOMPUESTOS Y POLÍMEROS NATURALES**

**BIO-PACKAGES FOR THE FOOD INDUSTRY FROM NANO-COM-
POUNDS AND NATURAL POLYMERS.**

Ricardo Vizúete García¹. Isabel Cristina López Villacis². Andrea Verónica Delgado Ramos³. Giannine Alexandra Sánchez López⁴.

Docente Carrera Nutrición y Dietética, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Ambato¹.

Docente Carrera Ingeniería Agronómica, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Ambato².

Docente Carrera Ingeniería Agropecuaria, Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales, Universidad Politécnica Estatal del Carchi³.

Ingeniera en Biotecnología Ambiental, Empresa de Agua Potable y Alcantarillado de Ambato EP- EMAPAA⁴.

ra.vizúete@uta.edu.ec¹. ic.lopez@uta.edu.ec². andrea.delgado@upec.edu.ec³. gsanchez@emapa.gob.ec⁴

Recibido: 27 de enero de 2021

Aceptado: 31 de mayo de 2021

Abstract

The systematic increase in consumption in the world has affected the amount of packaging used in the food industry. In this context, most of the materials used for food packaging are not biodegradable, which is a danger to the environment, as the number of landfills increases and the waste that fills them does not spontaneously disintegrate. In order to address this problem and develop ecological materials, different biopolymers are investigated, but due to their poor mechanical and barrier properties, they have not been used to replace common materials such as plastics. As an alternative for obtaining biomaterials are nanomaterials, which have a larger surface area, which favors interactions with the polymer matrix and its performance. Therefore, this recent development of polymer-based nano-biocomposites are known as “green nanocomposites” and are profiled as the materials of the future. For the above reasons, this project is of great interest to develop new materials for use in the food industry, and with the use of these natural polymers to reduce the impact on the environment.

Keywords: Natural Polymers, Nanocomposites, Bio-packaging, Food

1. Introducción

El uso de envases para alimentos a nivel mundial contribuye en gran medida a garantizar la inocuidad del producto, a disminuir las pérdidas y desperdicio de los alimentos lo que incrementa y fortalece el comercio mundial y fomenta el desarrollo económico de las distintas economías (Manalili. N, 2011) El incremento sistemático de consumo causa el aumento de la cantidad de envases utilizados para uso alimentario lo que conlleva un peligro inminente para el medio ambiente, en donde el número de vertederos aumenta y los residuos que lo llenan tienen un tiempo de degradación amplio, por lo que no se desintegran con facilidad, una cantidad significativa de estos residuos son envases de alimentos (Kaczmarek, H. 2003)

Los plásticos son los más utilizados en la industria alimentaria ya que presentan características como transparencia, propiedades mecánicas y estabilidad térmica. Estos plásticos se elaboran a partir de productos petroquímicos como el tereftalato de polietileno (PET), cloruro de polivinilo (PVC), polietileno (PE), polipropileno (PP), poliestireno (PS) y poliamida, los cuales no son biodegradables por lo que impactan de forma negativa al medio ambiente (Elizondo et al., 2011). Entre los efectos en el medio ambiente, está que generan residuos peligrosos como yodo, cloro, mercurio y arsénico (Pérez, C. 2012).

En las últimas dos décadas, se ha generado un creciente interés por el desarrollo de polímeros a partir de materiales biodegradables para reducir la dependencia y producción de materiales sintéticos no degradables que representan la generación de desechos a nivel mundial, también se busca añadir propiedades activas en

los sistemas de envasado de alimentos como propiedades antimicrobianas, prevención de humedad entre otros (Cáseres, C. Caracheo, M. 2017)

Los polímeros naturales o biopolímeros son compuestos orgánicos de variado peso molecular, formados por unidades repetitivas conocidas como monómeros (Elmore et al., 2015), su desarrollo difiere de los plásticos sintéticos ya que están hechos de materiales orgánicos y su degradación se produce por microorganismos bajo condiciones adecuadas de temperatura, humedad, disponibilidad de oxígeno lo cual evita la producción de toxinas dañinas para el ambiente (Cáseres, C. Caracheo, M. 2017)

Mediante la aplicación de nanotecnología se abren nuevas posibilidades para mejorar no sólo las propiedades del material sino también la relación costo-precio-eficiencia, estos nanomateriales son un material híbrido que tiene una matriz biopolimérica reforzada con una fibra de escala nanométrica, por lo que le confiere al producto final una notable mejora en sus propiedades mecánicas, térmicas, fisicoquímicas y ambientales (Elizondo et al., 2011).

Entre los nanomateriales tenemos por ejemplo el almidón, que es usado para desarrollar películas para embalaje amigables con el ambiente, de bajo costo, biodegradable y renovable; aunque con ciertas limitaciones como la baja propiedad de barrera contra el agua y mecánicas.

Por otro lado, la quitina es un biopolímero abundante en el medio no es tóxico, es biocompatible con facilidad, pruebas realizadas con este nanocompuesto provee propiedades mecánicas y propiedades de barrera en las películas fabricadas (Elizondo et al., 2011).

2. Desarrollo

Polimeros

Desde el año 1930 la ciencia de los polímeros ha venido surgiendo, de acuerdo a su origen puede ser naturales o sintéticos, donde los sintéticos contienen normalmente entre uno y tres tipos diferentes de unidades que se repiten y los polímeros naturales o biopolímeros pueden formar estructuras mucho más complejas, cabe recalcar que todos ellos son considerados de gran importancia, son indispensables para la humanidad, como por ejemplo para su vestido, transporte, habitación y comunicación (Gomis, 2012).

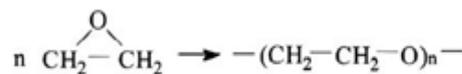
Es así como podemos considerar a un polímero como una gran molécula que está conformada por la repetición de pequeñas unidades químicas simples; pueden ser lineales y también ramificados que pueden formar retículos tridimensionales (Billmeyer, 2020). Cada unidad repetitiva que conforma un polímero se denomina monómero; el grado de polimerización es la longitud de la cadena de un polímero donde está especificada por el número de unidades que se repiten en la cadena. Hablamos de homopolimerización o de homopolímero cuando parte de un único tipo de molécula y si parte de dos o más moléculas diferentes que se repiten en la cadena hablamos de copolimerización, comonómeros y copolímero (Castaños, 2018).

Dentro de las reacciones de polimerización tenemos: Reacciones de adición: Con estas reacciones se logra obtener polímeros de adición cuya unidad estructural de repetición posee la misma composición que la de su monómero de partida, como podemos observar en la tabla 1 (Gomis, 2012).

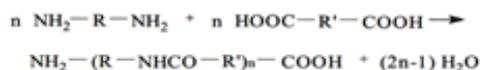
Los más importantes son los que están formados a partir de monómeros que contienen un doble enlace carbono-carbono por ejemplo la polimerización del policloruro de vinilo (PVC):



Ejemplo de polímeros de adición que se obtienen a partir de monómeros cíclicos tenemos al poli (óxido de etileno) (POE) (Gomis, 2012).



Reacciones de Condensación: En cuanto a los polímeros de condensación se forman a partir de monómeros polifuncionales por diversas reacciones con la posible eliminación de una pequeña molécula, como por ejemplo puede ser el agua (Billmeyer, 2020). Así tenemos como un ejemplo típico la formación de poliamidas que se forman a partir de una reacción entre diaminas y ácidos carboxílicos:



En donde R y R' son considerados como grupos alifáticos o aromáticos. Otros ejemplos se presentan en la tabla 2.

Tabla 1. Polímeros de adición de uso frecuente

Polímero	Abreviatura	Unidad de repetición
Poli(etileno)	PE	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$
Poli(propileno)	PP	$-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-$
Poli(estireno)	PS	$-\text{CH}_2-\underset{\text{C}_6\text{H}_5}{\text{CH}}-$
Poli(cloruro de vinilo)	PVC	$-\text{CH}_2-\underset{\text{Cl}}{\text{CH}}-$
Poli(acrilonitrilo)	PAN	$-\text{CH}_2-\underset{\text{C}\equiv\text{N}}{\text{CH}}-$
Poli(metacrilato de metilo)	PMMA	$-\text{CH}_2-\underset{\text{COOCH}_3}{\overset{\text{CH}_3}{\text{CH}}}-$
Poli(butadieno (1,4-cis))	PB	$-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}=\text{CH}}{\text{CH}}-\text{CH}_2-$

Fuente. Gomis, 2012

Tabla 2. Polímeros de condensación

Polímero	Abreviatura	Unidad de repetición
Poli(éster)		$-\text{R}-\text{OCO}-\text{R}'-\text{COO}-$
Poli(amida)	PA	$-\text{NH}-\text{R}-\text{NHCO}-\text{R}'-\text{CO}-$
Poli(carbonato)	PC	$-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\underset{\text{CH}_3}{\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CO}-$
Poli(etilenterftalato)	PET	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OCO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{COO}-$
Poli(uretano)	PU	$-\text{NH}-\text{COO}-\text{R}-\text{OCO}-\text{NH}-\text{R}'-$
Resina de fenol-formaldehído	PF	$\begin{array}{c} \text{OH} \quad \text{OH} \\ \quad \\ \text{C}_6\text{H}_3 \quad \text{C}_6\text{H}_3 \\ \quad \\ \text{CH}_2 \quad \text{CH}_2 \end{array}$

Fuente. Gomis, 2012

CLASIFICACIÓN DE POLÍMEROS

Según la fuente de donde provienen estos se clasifican en: no renovables y renovables. En las figuras 1 y 2 se muestra su clasificación (Charo, 2015).

POLÍMEROS BIODEGRADABLES

Son aquellos capaces de ser degradados medioambientalmente. Representan una nueva generación de materiales que reducen significativamente el impacto ambiental en términos de consumo de energía y generación de residuos después de su utilización, estos deben comportarse en

principio como los materiales plásticos tradicionales procedentes de fuentes fósiles (petróleo) (Charo, 2015).

Los polímeros biodegradables se pueden clasificar en función de la fuente de la que proviene como se evidencia en la Figura 2 o también a partir de su proceso de fabricación, como:

- Polímeros extraídos o removidos directamente de la biomasa: polisacáridos como almidón, celulosa y quitina.
- Polímeros producidos por síntesis química clásica utilizando monómeros biológicos de fuentes renovables como: ácido poli-

láctico (LLA) ácidos glicoles (PGA) y policaprolactonas (PCL).

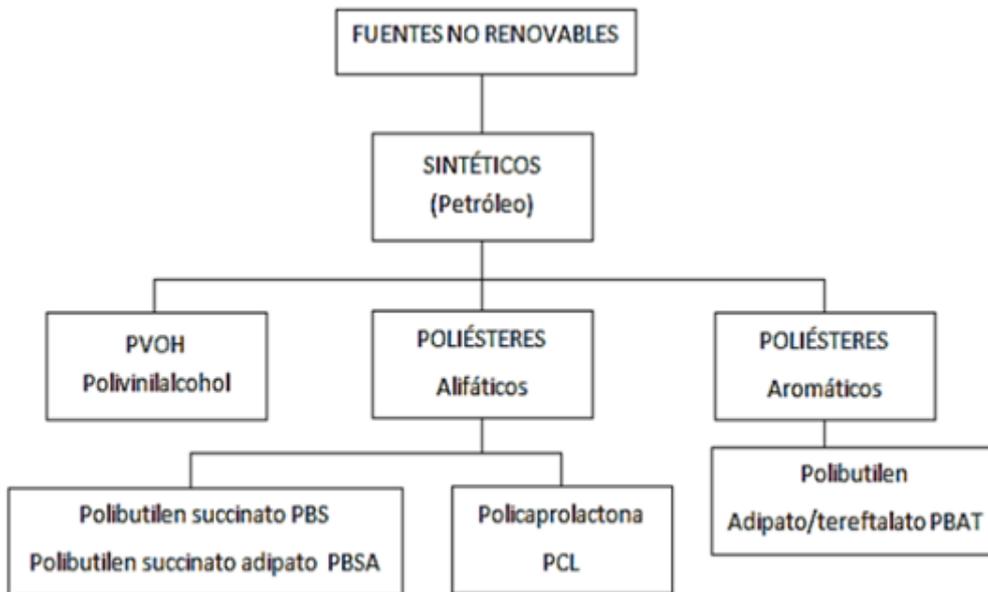


Figura 1. Polímeros provenientes de fuentes no renovables
Fuente: Charo, 2015

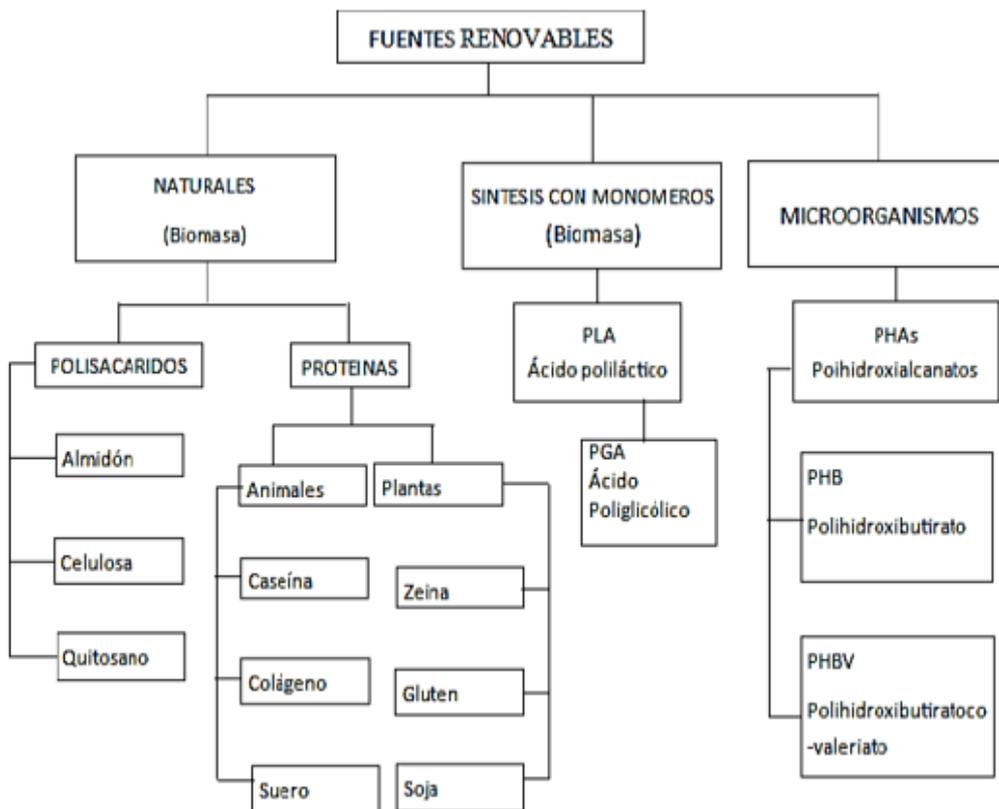


Figura 2. Polímeros provenientes de fuentes renovables
Fuente: Charo, 2015

- Polímeros producidos por microorganismos, bacterias productoras nativas o modificados genéticamente, en el cual se engloba a: Polihidroxialcanoatos (PHA), poli-3-hidroxibutarato (PHB).
- Polímeros producidos por mezcla de polímeros biodegradables como: Polivinilalcohol (PVOH) y polica-prolactonas (PCL) (Charo, 2015).

Para que los materiales poliméricos sean considerados biodegradables, es indispensable que contengan en la cadena principal grupos que se puedan romper con facilidad por la acción de agentes externos de la naturaleza física o química. La biodegradación puede ser parcial, la cual consiste en la alteración en la estructura química del material y la pérdida de propiedades específicas o total cuando el material es degradado totalmente por la acción de microorganismos con la producción de CO₂ (bajo condiciones aeróbicas) y metano (bajo condiciones anaeróbicas), agua, sales minerales y biomasa (Rosales, 2016).

FUENTES DE QUITINA

La quitina (del griego tunic, envoltura) se encuentra distribuida ampliamente en la naturaleza y, después de la celulosa (materia base del papel), es el segundo polisacárido en abundancia. Sus fuentes principales son el exoesqueleto (caparazón) de muchos crustáceos, alas de insectos (escarabajos, cucarachas), paredes celulares de hongos, algas, etc. Sin embargo, la producción industrial de este biomaterial prácticamente se basa en el tratamiento de las conchas de diversos tipos de crustáceos (camarones, langostas, cangrejos y krill) debido a la facilidad de encontrar estos materiales como desecho de las plantas procesadoras de estas especies (Velásquez, 2006). Por su parte, el quitosano se puede

encontrar de forma natural en las paredes celulares de algunas plantas y hongos, por ejemplo, en el *Mucor rouxii* llega a representar hasta un tercio de su peso (Velásquez, 2006).

La fuente más importante de quitosano, a nivel industrial, lo constituye la quitina, la cual, mediante un proceso de desacetilación química o enzimática, ha permitido producirlo a gran escala. Desde el punto de vista químico, los procesos para obtener la quitina y el quitosano son relativamente sencillos, aunque el tratamiento con álcali concentrado a temperaturas relativamente altas implica riesgos importantes para los operadores de las plantas de producción y hostilidad hacia el ambiente. Adicionalmente, ambos procesos pueden concatenarse fácilmente como se aprecia en la siguiente figura (Velásquez, 2006).

FUENTES DE ALMIDÓN

El almidón es una materia prima con un amplio campo de aplicaciones que van desde la impartición de textura y consistencia en alimentos hasta la manufactura de papel, adhesivos y empaques biodegradables (Hernandez, et.al, 2008).

Estructuralmente, el almidón consiste en dos polisacáridos químicamente distinguibles: la amilosa y la amilopectina. La amilosa es un polímero lineal de unidades de glucosa unidas por enlaces α (1-4), en el cual algunos enlaces α (1-6) pueden estar presentes (Hernandez, et.al, 2008).

Las fuentes convencionales más importantes para la extracción de este polisacárido son los granos de cereales como el maíz, trigo, arroz y sorgo; tubérculos como la papa, yuca, boniato y sagú; encontrándose también en hojas, semillas de leguminosas y frutas.

Entre las materias primas que pueden ser utilizadas como nuevas fuentes de extracción de este polímero se encuentran los tubérculos, cuyos cultivos más importantes a nivel mundial son la yuca (*Manihot esculenta*), batata (*Ipomea batata*), papa (*Solanum tuberosum*), ñame (*Dioscorea spp.*), ocumo (taro, ayutia = *Colocasia esculenta*) y tannia (*Xanthosoma spp.*). (Hernandez, et.al, 2008).

Este carbohidrato, de reserva de los vegetales, se obtiene comercialmente de los tubérculos, raíces y de los granos de cereales, de las raíces y de los tubérculos. Consiste en un polímero de D-glucosa. En la Tabla 2 se muestra el contenido de almidón de algunos tipos de papa (Charo, 2015).

Tabla 3. Porcentaje de almidón presentes en varios tipos de papa (Charo, 2015).

Variedad de papa	% Almidón en base húmeda	% Almidón en base seca
Yema de huevo	13,99	55,51
Superchola	19,41	75,87
Roja	14,69	71,39
Violeta	14,04	47,91
Esperanza	10,73	48,59

Fuente: (Villareal, 2012)

La estructura del almidón se encuentra constituido por dos moléculas: de la amilosa y la amilopectina

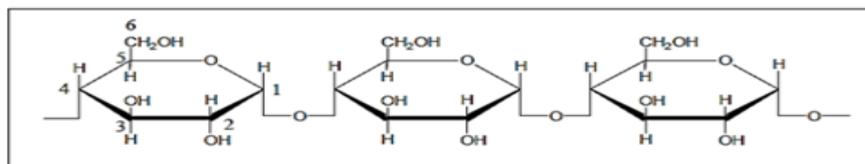


Figura 4. Amilosa, polímero de unidades por enlace α 1-4.
Fuente: Charo, 2015

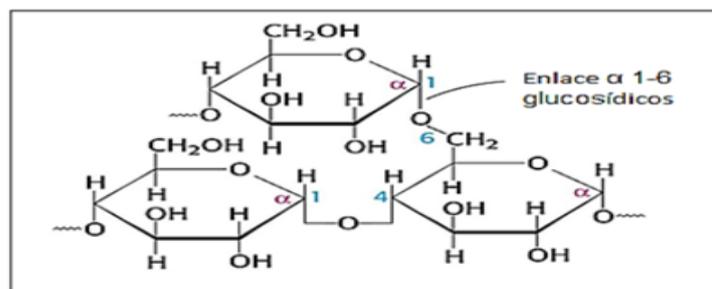


Figura 5. Amilopectina, enlaces α 1-4 y enlace α 1-6 glucosídicos
Fuente: Charo, 2015

NANOMATERIALES

La nanotecnología nace de las ideas de Richard Feynman, quien es considerado el padre de la "nanociencia", premio Nóbel de Física, quien en 1959 propuso fabricar productos en base a un reordenamiento de átomos y moléculas (Díaz, 2012).

Si hablamos desde el punto de vista de la ciencia de los materiales, a los nanomateriales se los considera como un material (natural o fabricado) que puede contener partículas sueltas o estar formando un agregado y además presentar una o más dimensiones externas con tamaños comprendidos entre 1 a 100 nm (Camacho & Zapata, 2017) en donde dichas estructuras presentan una alta proporción de superficie-volumen, siendo ideal para diversas aplicaciones que involucran materiales compuestos, reacciones químicas, transporte de drogas, liberación controlada de sustancias en tecnologías de envase activo, entre otras (INSHT, 2015).

Otro motivo de interés respecto a estos materiales es que cuando se manipula la materia a la escala de átomos y moléculas, demuestra fenómenos y propiedades totalmente nuevas, lo que ha permitido el desarrollo de una gran variedad de materiales, aparatos y sistemas novedosos (Díaz, 2012).

Muchos de estos nanomateriales son utilizados para la elaboración de pinturas hecho a base de "nanopigmentos", también se utiliza en la elaboración de "nanofármacos", los cuales ingresan y viajan de forma más rápida y efectiva por el cuerpo, en fin, las aplicaciones que tienen estos nanomateriales son en gran cantidad, abarcan los campos desde la electrónica hasta la medicina. Cabe recalcar que investigaciones recientes han demostrado

que estos nanomateriales presentan características como: son excepcionalmente duros, fuertes, dúctiles a altas temperaturas, resisten el desgaste, la corrosión, la erosión y además son químicamente muy activos (Lizarazo, González, Arias, & Guarguati, 2018).

MÉTODOS DE FABRICACIÓN DE NANOMATERIALES

Para la fabricación de nanomateriales se puede utilizar procesos de molienda del material a granel (métodos top-down), es una técnica descendente que consiste en la división de un material macroscópico o puede ser de un grupo de materiales sólidos hasta llegar a un tamaño nanométrico; el otro método de síntesis (método bottom-up), es una técnica ascendente que consiste en la fabricación de nanopartículas que poseen una capacidad de autoensamblarse o de autoorganizarse a través de la condensación de átomos o de entidades moleculares en una fase gaseosa o en una fase líquida (Gómez, 2018). Estos dos métodos son los más comunes para fabricar nanomateriales y se pueden llevar a cabo en fase gaseosa o en fase líquida o también en fase coloidal (INSHT, 2015).

NANOMATERIALES Y NANOCOMPUESTOS PARA EMPAQUES

Dependiendo de las dimensiones nanométricas, los nanomateriales se clasifican en tres tipos:

- De dos dimensiones (nanofibras y nanotubos de carbono) para conferir propiedades físicas como resistencia y rigidez para los empaques en distintas industrias.
- Nanocapas delgadas, para mayor rendimiento de las propiedades de barrera. El recubrimiento

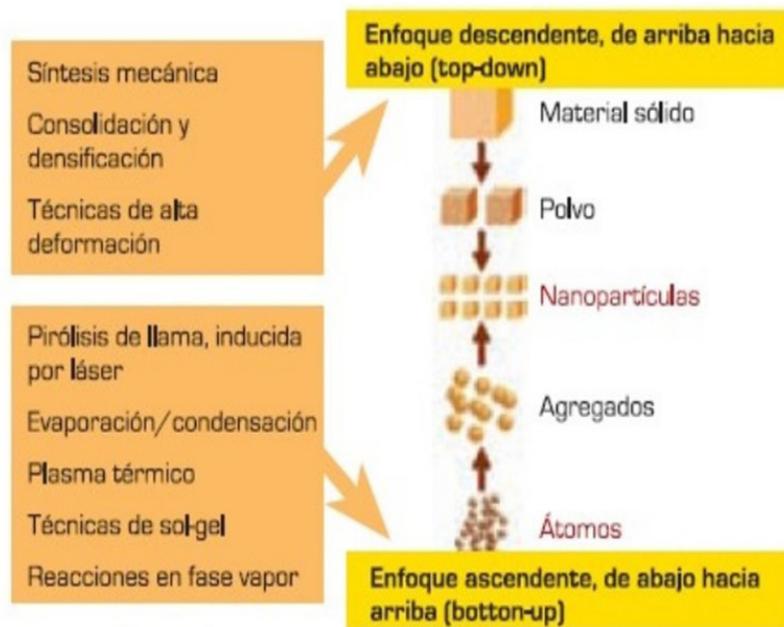


Figura 6. Métodos de fabricación de nanomateriales.
Fuente: INSHT, 2015.

puede ser alrededor de 50 nm de espesor, considerado entonces como nanomaterial de una dimensión.

- De tres dimensiones, como las nanopartículas que tienen gran potencial para liberar o capturar productos químicos, como las usadas para la recolección de residuos en la eliminación de oxígeno o de productos químicos (Elizondo, et.al, 2011).

PROPIEDADES DE POLÍMEROS CON NANOMATERIALES

Las propiedades de los polímeros se modifican en función: Compuesto, forma, tamaño de polímeros con nanomateriales, cantidad añadida, dispersión y condiciones de adición.

Nuevas propiedades gracias a los nanomateriales: Anti-olor, retardante de llama, protección UV, resistencia al agua, anti-rayado y Propiedades barrera (Campos, 2014).

PELÍCULAS BIODEGRADABLES

En general, los biopolímeros se utilizan en forma de películas. Sólo los biopolímeros de alto peso molecular se utilizan debido a que proporcionan una gran fuerza de cohesión y capacidad de fusión. El grado de cohesión de la matriz de biopolímero afecta las propiedades de este, tales como: la densidad, compacidad, porosidad, permeabilidad, flexibilidad y fragilidad. El principal mecanismo de formación de las películas de polisacáridos es la ruptura de los segmentos del polímero y la reformación de la cadena como película por la evaporación de un disolvente hidrófilo. (Elizondo Camacho, Vega Baudrit & Campos Gallo, 2011).

La película biopolimérica es una extensa red de interacción del mismo biopolímero en una estructura tridimensional. Tiene una matriz de polímeros reordenada

especialmente con todos los materiales incorporados a la película, como: biopolímeros, plastificantes, solventes y otros aditivos (otros plásticos de base petroquímica). Al igual que otros plásticos de origen petroquímico, las películas biopoliméricas naturales pueden ser procesadas por varios métodos, sin embargo, existen dos procesos base: seco y húmedo, que se utilizan para su preparación (Rhim & Ng, 2007)

Proceso Seco

Según Rhim & Ng (2007), este proceso se basa en las propiedades termoplásticas de algunos biopolímeros. En este método, los biopolímeros termoplásticos en condiciones de bajo contenido de humedad se calientan por encima de su temperatura de transición vítrea mediante extrusión o métodos de termocompresión formándose las películas después del enfriamiento. Las películas que usan proteína y almidón han sido procesadas por este método. Teniendo en cuenta el tipo de polímero algunas deben ser plastificados antes de su procesamiento.

La extrusión de biopolímeros es la preferida para la producción de alto rendimiento destinada a aplicaciones como el envasado. El método de termocompresión es también útil como método de procesamiento debido a su simplicidad y capacidad para producir películas sin solubilización. En estos procesos, la energía mecánica específica, el impacto de cizallamiento, la presión, el tipo de plastificante, tiempo y temperatura son parámetros importantes para determinar las propiedades de la película. Todos determinan el alcance de los cambios de conformación, agregación y la química de los enlaces cruzados que se producen (Rhim & Ng, 2007).

Aunque el método en seco requiere de más equipo, tiene algunas ventajas importantes como la disminución de la solubilidad de las películas resultantes mediante la creación de una red altamente reticulada (Elizondo Camacho et al., 2011)

Proceso Húmedo

A veces también llamado método de fundición con disolvente. Se basa en el secado de la solución formadora de la película, lo que implica los pasos de solubilización, colado y secado. El primer paso es preparar una solución formadora de película (SFP) disolviendo un biopolímero en un disolvente apropiado como: el agua, alcohol o un disolvente orgánico. Sin embargo, los sistemas de disolventes de grado alimentario para películas comestibles y los recubrimientos se limitan al agua, etanol o solventes que no generen residuos tóxicos en el producto. A veces la solución disuelta que forma la película se calienta o se ajusta el pH para mejorar la formación de la película o las propiedades de esta. Posterior a ello, la solución se seca para hacer una matriz de película por fundición en una superficie plana o en un secado de tambor calentado. Para la formación efectiva de una película cohesiva, las interacciones son fundamentales para formar una red tridimensional continua. La naturaleza, el tipo y el alcance de la interacción depende de los polímeros involucrados y de las condiciones de formación de la película, como la temperatura y la velocidad de secado, el contenido de humedad, el tipo de disolvente, la concentración del plastificante y el pH (Rhim & Ng, 2007).

MODIFICACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE LA PELÍCULA

La aplicación específica de los biopolímeros naturales requiere que los materiales tienen suficiente rigidez y fuerza durante su vida útil, pero eventualmente se biodegrada. Lograr la combinación necesaria de propiedades de los biopolímeros es muy difícil debido a su inherente sensibilidad al agua y a su relativa baja rigidez y resistencia, especialmente a los ambientes húmedos. Las películas biopoliméricas preparadas a partir de polisacáridos o hidrocoloides forman películas fuertes, pero tienen baja resistencia al agua que los polímeros sintéticos por que tienden a absorber humedad se abultan y pierden las propiedades mecánicas (Rhim & Ng, 2007).

Actualmente, la importancia de una investigación de este tipo radica en mejorar las propiedades físicas de las películas basadas en biopolímeros donde tenga baja hidrofiliidad y mejores propiedades mecánicas. De lo investigado podemos establecer que los métodos de modificación física incluyen laminación, adición de partículas o emulsiones, perforación, recubrimiento, recocido o curado (Santiago, 2015).

Uno de los métodos más utilizados para mejorar las propiedades de barrera a la humedad de las películas de biopolímeros es incluir aditivos que son de naturaleza hidrófoba. En consecuencia, puede adicionarse materiales lípidos como lípidos neutros, ácidos grasos o ceras para mejorar la humedad y las propiedades de barrera de estas películas. También se adiciona polímeros sintéticos o agentes reticulantes con sales de Ca y Zr para mejorar la resistencia al agua. Las ventajas de estas películas es que tiene baja permeabilidad al oxígeno, lo que puede reducir la tasa de respiración de los productos que en estos se almacenen (Santiago, 2015).

Aunque el método en seco requiere las películas deben tener requerimientos funcionales en tres aspectos: los referidos a sus propiedades de barrera, es decir, debe ser una barrera selectiva contra transmisión de gases, vapores y solutos. Los requerimientos deben estar enfocadas en sus propiedades sensoriales (transparente, inodoros e insípidos) y de sus propiedades mecánicas (manejabilidad, tensión y elasticidad) (Hernández, 2010)

MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

EXTRACCIÓN DEL POLÍMERO

Extracción del Almidón

1. Selección de la variedad de papa, con base a estudios previos referentes al contenido de almidón en diferentes variedades de papa se selecciona a la papa superchola por poseer mayor contenido de almidón como se muestra en la tabla 3.
2. Clasificación de la papa y lavado. Con ayuda de un estropajo rugoso se limpia las papas y se seleccionan las más homogéneas.
3. Pelado y rallado. Se pelan y pesan las papas peladas hasta obtener 1 kilogramo. Luego se ralla cada una de las papas y se coloca en agua para evitar su oxidación.
4. Lavado y filtrado. Se coloca la papa rallada en la tela filtrante y se realiza varias lavadas con agua hasta observar que el agua de lavado sea lo más transparente posible. Recoger las aguas de lavado en la tina plástica, dejar decantar por 12 horas y eliminar el agua.
5. Secado. Recoger el precipitado (almidón) en bandejas de vidrio resistentes al calor. Dejar en la estufa a 30 °C, 60 °C, 80 °C y de 95 a 105 °C, por un tiempo de 6 horas

a cada temperatura (Charo, 2015).

En el siguiente diagrama de flujo (Figura 7) se resumen los procesos para la obtención del almidón:

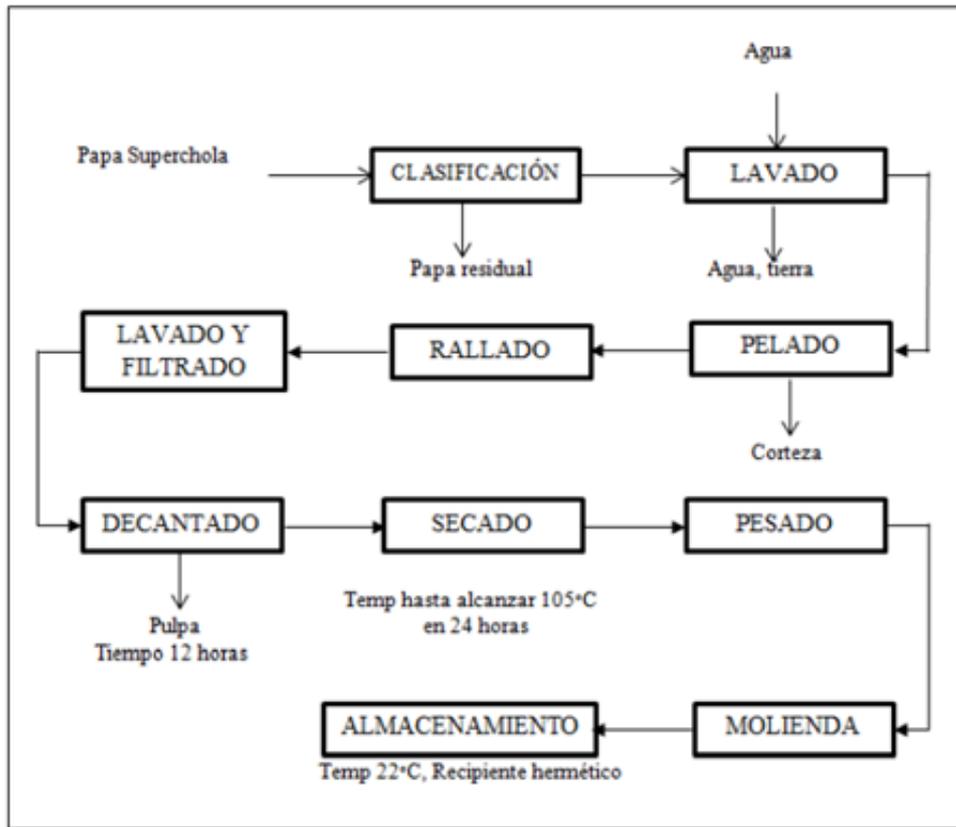


Figura 7. Diagrama de flujo de la obtención de almidón de papa
Fuente: Charo, 2015

Tabla 4. Rendimiento del almidón en papa

Variedad de papa	% Almidón base húmeda	% Almidón base seca
Superchola	19,41	75,87

Fuente: Villarreal, 2012

1. Preparación de la materia prima: Se parte de los caparazones de crustáceos, especialmente de langosta, cangrejo y mejillón recolectados en industrias procesadoras de productos marinos y en restaurantes. Cada caparazón se lava con agua potable para retirar la materia orgánica, se seca en una estufa a 40 °C por 2 horas y finalmente se tritura y tamiza hasta obtener tamaños de partícula entre 0,8 mm y 1,5 mm.

2. Desproteínización: Utilizando una solución de hidróxido de sodio (NaOH, grado analítico), a concentraciones de 3%, 3,5% y 4%, se remueve las proteínas existentes en una relación sólido: líquido 1:10, a una temperatura a 95°C, bajo agitación constante durante 1, 2 y 3 horas. Posteriormente se filtra al vacío y se neutraliza con agua desionizada.

3. Desmineralización: Para remover los carbonatos de calcio de los caparazones se realiza mediante inmersión de la muestra en solución de HCl, a concentraciones de 0,5N, 1N y 2N en una relación sólido: líquido 1:5 a temperatura ambiente, bajo agitación constante, por tiempos de 1 y 2 horas. Posteriormente la muestra se filtra y se lava.

4. Purificación: Para obtener una quitina completamente libre de residuo de carbonato de calcio, se realiza una inmersión de las muestras desmineralizadas en una solución de hidróxido de sodio (NaOH grado analítico) a concentraciones de 3% y 3,5%, en una relación sólido: líquido 1:5, a una temperatura de 100°C por 1 hora. Seguidamente las muestras se filtran, se lavan y secan a 80°C por 30 minutos. Terminada esta etapa se obtiene la quitina (Escobar, et.al. 2013).

Rendimiento

A partir de 10 gramos de cáscaras secas se obtiene 2 gr. de

quitina con un rendimiento aproximado del 20 % (Barra, 2012).

ELABORACIÓN DEL NANOMATERIAL

Para la elaboración de nanomateriales de almidón y quitina se utiliza el método de la nanoprecipitación y ultrasonido que son considerados como métodos muy simples y fiables para la producción de nanopartículas con el tamaño deseado.

El método de nanoprecipitación: esto implica la adición gota a gota de una solución diluida de almidón en un solvente y el método de ultrasonido reduce el tamaño al romper los enlaces covalentes en el material polimérico, esto se produce debido a las intensas fuerzas de corte o los efectos mecánicos asociados con el colapso de las microburbujas por las ondas sonoras, es un procedimiento sencillo, eficaz y respetuoso con el medio ambiente. Esta técnica es simple y conveniente en términos de seguridad, costo y permite obtener un mejor rendimiento con el tamaño de partícula deseado (Urrejola, y otros, 2018).

Para la síntesis de las nanopartículas de almidón se utiliza una solución de almidón al 1,5%, se precalienta a 80 °C en una solución de NaOH 0,1M y se agitaron continuamente durante 30 minutos con un agitador magnético. La solución de almidón obtenida luego es sonicada a 40 KHz usando un sonicador de sonda fxd (Q55-Qsonica) por 30 minutos en intervalos de 5 minutos para evitar el calentamiento excesivo. Luego la solución resultante fue entonces co-precipitada por el etanol en la proporción de 1:2 bajo agitación magnética continua. El precipitado obtenido luego se centrifuga a 8000 rpm durante 15 minutos

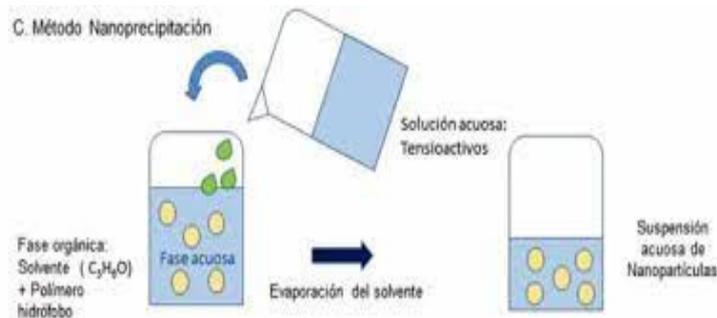


Figura 8. Método de nanoprecipitación.
Fuente: Urrejola, y otros, 2018.

y luego se liofiliza utilizando un secador de congelación (Telstar-Cryodos). Las muestras de polvo se almacenaron a 4 °C para su posterior análisis (Mudasir, Ifra, Quingrong, & Hassan, 2020). De la misma forma se procede para la obtención de nanomateriales de quitina.

Los nanomateriales actúan como una barrera física que retrasa el paso del oxígeno a través de la matriz polimérica del nanomaterial. El retraso resultante en la velocidad de difusión permite que el alimento mantenga sus propiedades organolépticas por más tiempo, aumentando así su vida útil.

ELABORACIÓN DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES

Se elaboran las películas bajo un proceso húmedo de formación, como se explicó anteriormente, se requiere la formación de soluciones formadoras de películas (SFP). Para ello el polisacárido nanoestructurado (almidón o quitina) se disuelve en un compuesto polar para el caso del almidón se disuelve en 100 mL de agua destilada y el quitosano se disuelve en 300 mL de solución al 3% de ácido acético o 300 mL de solución al 1% de ácido láctico. Las suspensiones se homogenizan el almidón por 10 minutos a temperatura

ambiente y posteriormente se calienta a 85°C durante 20 minutos; y, el quitosano por su parte se disuelve a 60°C durante 60 minutos, se enfría hasta 25°C y se filtra para eliminar cualquier impureza presente.

Se adiciona 0,3 mL/g de glicerol como plastificante y se agita durante 15 minutos hasta obtener una dispersión total. Con las SFP se procede a la elaboración de películas mediante la técnica de moldeo. Los moldes son platos de acrílico con marco cerrado de 10 x 20 cm. Las finas películas se dejan secar durante 72 horas a 25°C sobre láminas de papel de cera y en un desecador.

El diagrama general para la obtención de películas biodegradables por proceso húmedo se encuentra en la figura 9.

Según Santiago (2015) las películas obtenidas se deberán evaluar en función de sus:

- Propiedades mecánicas: Pruebas de esfuerzo y deformación entre ellas las más comunes y principales que se caracterizan son: tensión a la fractura (TF), el porcentaje de elongación (%E), el módulo de elasticidad (ME) a través de la prueba de Creep y tiempos de relajación longitudinal.

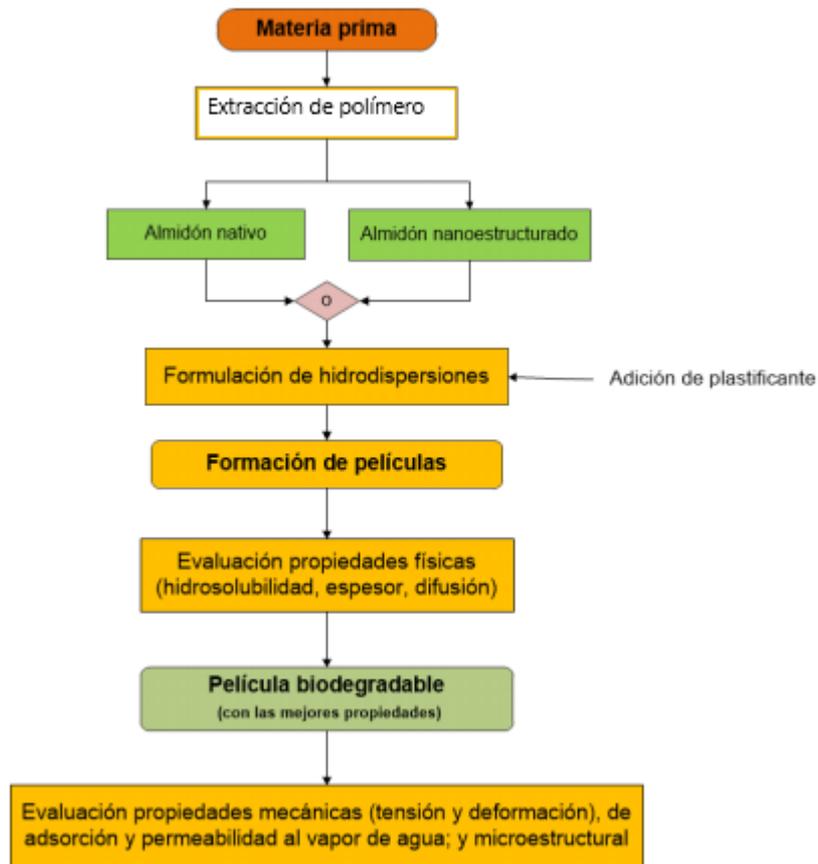


Figura 9. Diagrama general de elaboración de películas
Fuente: Santiago, 2015

- Propiedades de adsorción.
- Propiedades de permeabilidad al vapor de agua (PVA).
- Propiedades nanoestructurales.

APLICACIONES

INDUSTRIA ALIMENTARIA

Una de las industrias que ha presentado un crecimiento significativo en las últimas décadas es la de los polímeros, la misma que ha diversificado su portafolio de productos plásticos incursionando en todos los sectores. La mayor parte de su producción la dedican a la producción y comercialización de productos plásticos como fundas utilizadas para el contacto de alimentos y de uso doméstico

a base de polietileno de baja densidad (Boletín mensual sectorial de MIPYNES, 2019).

Sin embargo, el uso de materiales plásticos de uso doméstico también representa un problema de contaminación incontrolable que afecta al planeta, de acuerdo a información de la Organización Mundial de Salud (OMS, 2019) la contaminación generada afecta al medio ambiente por su vertido a fuentes vivas como ríos, lagos, océanos, también la quema de éstos materiales genera contaminación a nivel atmosférico por la presencia de sustancias nocivas (Benalcázar D., 2019).

Ante esta situación, la tecnología actual presenta la oportunidad de investigar

compuestos orgánicos mediante la extracción de nanomateriales para su uso en la fabricación de productos de empaques con propiedades ecológicas que son considerados como los polímeros de la nueva generación. Estos materiales con características biodegradables pueden ser descompuestos de forma aerobia o anaerobia por la acción de microorganismos o por la acción enzimática de los mismos a través de condiciones normales que permiten su degradación. Estos materiales plásticos obtenidos por extracción de nanomateriales a partir de productos orgánicos se los conoce como biopolímeros y que generalmente son obtenidos de fuentes naturales a partir de almidón de maíz o trigo y son fabricados en pequeña escala debido a su alto valor, la obtención de estos biopolímeros se realiza mediante la extracción de polímeros de biomasa y su síntesis fermentación microbiana (Oliva G., 2012).

Existen otras fuentes naturales para la obtención de biopolímeros principalmente aquellos que contienen compuestos como la quitina y quitosano, éstos son abundantes en la naturaleza y su fuente principal son los crustáceos y hongos, caracterizándose por poseer una estructura polimérica lineal de alto peso molecular. La extracción y aplicación de estos biopolímeros es muy amplia, entre ellos en la industria de alimentos como espesantes, gelificantes y emulsificantes, en el tratamiento de agua como coagulantes en procesos de potabilización, en la elaboración de películas biodegradables para la fabricación de empaques, recubrimientos, envolturas, bolsas, etc, (Zulay M. et al., 2011).

DISCUSIÓN

Los polisacáridos de origen natural como el almidón y la quitina se encuentran abundantemente en la naturaleza. El almidón se encuentra principalmente en raíces de plantas, cultivos básicos y cereales, por su parte la quitina se encuentra en los caparazones de crustáceos y moluscos. La forma nativa de estos polímeros tiene muchas limitaciones, tales como: escasa solubilidad, retrogradación, digestibilidad limitada y propiedades funcionales deficientes. Por esta razón se ha estudiado sobre cómo mejorar estas limitaciones o agregar nuevos atributos a estas estructuras. Un enfoque es la aplicación de nanopartículas de almidón o quitina que ayuden a mejorar la calidad y otorguen aplicaciones más amplias por ejemplo en el área de los alimentos.

El método para la extracción del almidón se lo hace por métodos convencionales de decantación y secado. Para la preparación de nanopartículas se utiliza el método de nanoprecipitación y la ecografía, estos son métodos rentables, simples y fiables para la obtención de nanopartículas con el tamaño deseado. El proceso de precipitación implica la adición gota a gota de una solución diluida del polisacárido en un no solvente y el ultrasonido reduce el tamaño al romper los enlaces covalentes en el material polimérico debido a las intensas fuerzas de corte o los efectos mecánicos asociados con el colapso de las microburbujas por las ondas sonoras. Incluso este método se considera amigable con el medio ambiente.

Posterior a ello se forman las películas biodegradables en donde se obtiene por proceso húmedo, sobre un solvente polar y con adición de un plastificante (glicerol) se lleva a secado para obtener el producto final.

Santiago (2015) en su investigación caracteriza películas biodegradables obtenidas a partir de almidón de maíz, basándonos en esta investigación podemos dar un estimado de las propiedades a obtener.

- *Apariencia física de las películas biodegradables:* Tiene una apariencia homogénea y traslúcida, flexibles a la manipulación y fáciles de desprender de la superficie sobre la que se formaron como se observa en la figura 10. La caracterización fisicoquímica de los materiales a base de polímeros nanoestructurados debe mostrar mejores propiedades funcionales con respecto a las películas originadas por polímeros nativos.

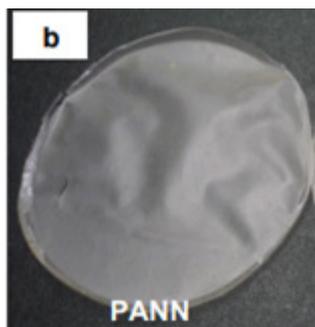


Figura 10. Apariencia física de las películas obtenidas con almidón nanoestructurado
Fuente: Santiago (2015)

- *Topografía de Materiales:* La topografía de los materiales se obtiene a partir de un microscopio de fuerza atómica, se puede observar que los picos y valles del almidón nativo es muy irregular en cambio en el almidón nanoestructurado se encuentra pequeños picos de tamaño nanométrico muy regulares entre sí. Esto es importante porque en las nanocavidades se encuentra moléculas de agua adsorbidas que poseen un máximo grado de ordenamiento

y que incrementan la estabilidad del alimento (Montano, 2013).

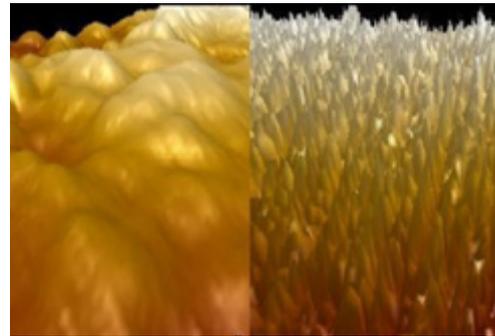


Figura 11. Topografía del material nativo (izq.) y nanomaterial (der.)
Fuente: Santiago (2015)

- *Espesor de películas:* Se espera que los espesores de las películas biodegradables con nanomateriales están directamente relacionados con la concentración de almidón en la formulación. Esperando que los nanoestructurados tengan un espesor muy pequeño debido a la matriz estructural.

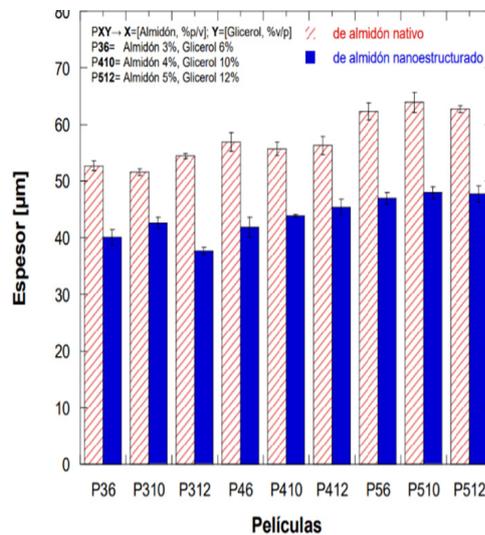


Figura 12. Espesor de películas obtenidas con almidón de maíz nativo y nanoestructurado
Fuente: Santiago, 2015

- *Análisis de difusión:* Para el análisis de difusión se debe levantar la información acerca de las cinéticas de adsorción de vapor de agua de las películas, en donde

con el transporte de agua a través de las películas y el cálculo de los valores de difusión se realiza las curvas de adsorción de vapor de agua. Posterior a ello, se entiende el mecanismo de transferencia de vapor de agua para luego calcular el coeficiente de difusión Fickiana. Se espera que las películas con adición de nanopartículas tengan menor coeficiente de difusión que los polímeros con polisacáridos nativos. Esto debido a su afinidad por el agua y la adsorción desordenada propia de estos últimos.

● *Solubilidad en agua:* Las películas nativas pueden presentar porcentajes mayores de solubilidad significativos con respecto a las nanoestructuradas. Esta característica tendrá relación directa con la concentración del almidón y del plastificante.

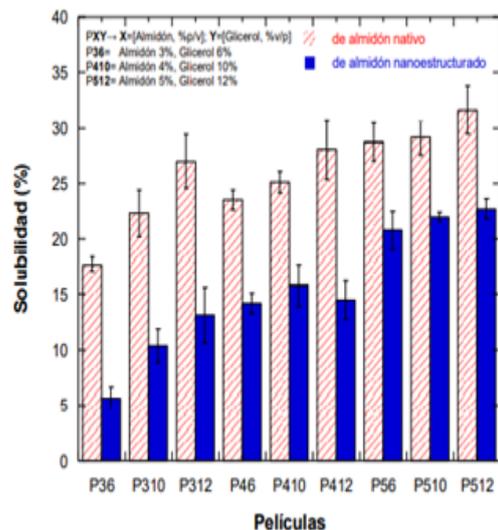


Figura 13. Porcentaje de solubilidad en agua de películas obtenidas de maíz. Fuente: Santiago (2015)

● *Propiedades mecánicas:* Se espera que las películas nanoestructuradas sean más elásticas, menos deformable a humedades relativas altas y menos viscosas que

las provenientes de polímeros nativos.

● *Microscopía electrónica de barrido:* Para identificar la superficie y la microestructura de la película. Se espera que la superficie de los dos biopolímeros sea homogénea y continua. En la micrografía se puede encontrar algunas micropartículas del material plastificante (fig. 14-izq) o algunas “imperfecciones” (fig. 14-der.), pequeños huecos que pudieran favorecer el movimiento y difusión de moléculas de gas.

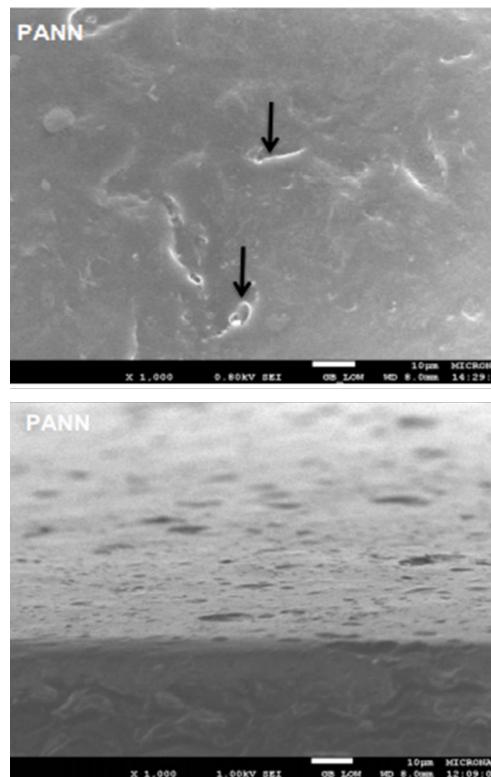


Figura 14. Micrografías de la microestructura (izq.) y de la superficie (der.) de películas de almidón nanoestructurado. Fuente: Santiago (2015)

CONCLUSIONES

- El uso de biopolímeros en la industria alimentaria a través del tiempo se ha visto afectado por problemas relacionados principalmente con su

alto costo de producción el cual ha afectado directamente al rendimiento del producto en comparación a la producción de los polímeros sintéticos, sin embargo la seguridad alimentaria, la calidad, el impacto ambiental han tomado mucha fuerza en los últimos años es por eso que muchas industrias están interesadas en el desarrollo sostenible, el costo de producción de biopolímeros ha disminuido permitiendo que esta clase de materiales se vayan desarrollando cada vez mejor.

- La obtención de nanomateriales a partir de biopolímeros es una gran alternativa para reemplazar polímeros sintéticos derivados del petróleo como PET, PVC, PE, PP, PS, etc., que no son biodegradables y que generan un alto índice de contaminación a nivel mundial.

- De acuerdo con los objetivos de desarrollo sostenible establecidos por las Naciones Unidas, existen proyectos para reducir, reutilizar y racionalizar el uso de plásticos de un solo uso, lo que representa una oportunidad para fortalecer la investigación de biopolímeros que permitan desplazar en parte los polímeros de uso alimentario.

- Si bien las propiedades mecánicas individuales de los biofilms son reducidas respecto a los polímeros sintéticos, estudios demuestran que la combinación de estos compuestos como materiales híbridos, podrían mejorar sus propiedades fisicoquímicas y mecánicas que le otorgarían mejor resistencia y permeabilidad.

- La disponibilidad de recursos naturales y variedad de tubérculos para la extracción de almidón, el exoesqueleto de crustáceos para la extracción de quitina y el rendimiento que puede obtenerse se convierten en una alternativa

viable para la fabricación a escala de biopelículas a nivel industrial.

7. Referencias bibliográficas

- Alvarado, J. de D., Arancibia, M., Carvalho, R., & Sobral, P. (2007). Direct method of chitosan extraction from shrimp waste for production of biodegradable films. *Afinidad*, 64(531), 605–611..
- Barra, A., Romero, A. y Beltramino, J. (2012). Obtención de quitosano.
- Benalcázar D., (2019). “Contaminación por empaques a partir de Polímeros en la ciudad de Ambato”. Proyecto de Investigación Universidad Técnica de Ambato.
- Billmeyer, E. (2020). *Ciencia de los polímeros*. Reverté. Obtenido de https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=Fe0FEAAA-QBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=pol%C3%ADmeros&ots=e3r4oUhfIG&sig=pVuihgkBgInIodLN1eDIV5X-bU0s&redir_esc=y#v=onepage&q=pol%C3%ADmeros&f=false.
- Cáceres, Claudia. Caracheo, María José. (2017). *Bioempaque: El Futuro de la Industria Alimentaria*. Facultad de Ciencias Biológicas. Biotecnología. Universidad Autónoma de Puebla. México.
- Campos, Esther. (2014). “Características y aplicaciones de los nanomateriales”, recuperado de: <https://www.insst.es/Caracteristicas+y+aplicaciones+nanomateriales.pdf>.
- Carrasco (2009). “Metodología de Investigación científica”. Pautas metodológicas para diseñar y elaborar el proyecto de investigación. Lima. Editorial San Marcos, pág. 226.
- Charro, M. (2015). *OBTENCIÓN DE PLÁSTICO BIODEGRADABLE A PARTIR DE ALMIDÓN DE PATATA*. Tesis de pregrado. Universidad Central del Ecuador. Recuperado de <http://www.dspace.uce.edu.ec:8080/bitstream/25000/3788/1/T-UC E-0017-97.pdf>
- Díaz, Felipe. (2012). “INTRODUCCIÓN A LOS NANOMATERIALES”, recuperado de: http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/pagina_ingenieria/mecanica/mat/mat_mec/m6/Introduccion%20a%20los%20nanomateriales.pdf.
- Elizondo, M. C., Baudrit, J. V., & Gallo, A. C. (2011). USO DE NANOMATERIALES EN POLÍMEROS PARA LA OBTENCIÓN DE BIOEMPAQUES EN APLICACIONES ALIMENTARIAS. *Rev Soc Quím Perú.*, 15.
- Elmore, M. H., McGary, K. L., Wisecaver, J. H., Slot, J. C., Geiser, D. M., Sink, S., O'Donnell, K., & Rokas, A. (2015). Clustering of Two Genes Putatively Involved in Cyanate Detoxification Evolved Recently and Independently in Multiple Fungal Lineages. *Genome Biology and Evolution*, 7(3), 789-800. <https://doi.org/10.1093/gbe/evv025>
- Escobar, D., Ossa, C., Quintana, M. y Ossipina, W. (2013). Optimización de un protocolo de extracción de quitina y quitosano desde caparazones de crustáceos.
- Gómez, M. (2018). *Nanomateriales, nanopartículas*. Repertorio de Medicina y Cirugía, 27(2), 75-80. Obtenido de <https://www.fucsalud.edu.co/sites/default/files/2018-08/Art-1.pdf>
- Gomis, A. (2012). *Tecnología de polímeros*. Procesado y propiedades. Universidad de Alicante. Obtenido de https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=jxilUUn4_QAC&oi=fnd&pg=PA15&dq=pol%C3%ADmeros&ots=eC-Jy6rixuz&sig=hXDtnpIq9m-P85Lraq19iUwQmiCk&re

- Hernández, Marilyn; Torruco, Juan; Chel, Luis; Betancur, David, (2008). "Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México" Barra, A., Romero, A. y Beltramino, J. (2012). Obtención de quitosano.
- Hinojosa, M. G. V. (2014). OBTENCIÓN DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES A PARTIR DE MEZCLAS DE QUITOSANO DE CÁSCARAS DE CAMARÓN Y AGENTES PLASTIFICANTES. 162. Billmeyer, E. (2020). Ciencia de los polímeros. Reverté. Obtenido de https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=Fe0FEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=pol%C3%ADmeros&ots=e3r4oUhflG&sig=pVuihgkBgInIodLN1eDIV5XbU0s&redir_esc=y#v=onepage&q=pol%C3%ADmeros&f=false.
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT), (2015). "Nanomateriales" Campos, Esther. (2014). "Características y aplicaciones de los nanomateriales", recuperado de: <https://www.insst.es/Caracteristicas+y+aplicaciones+nanomateriales.pdf>.
- Kaczmarek, Halina. (2003). Materiales para el envasado de alimentos. Miembro ECO-PAC. NCU Polonia. Torún
- Manalili, M. Nerlita. (2011). Soluciones apropiadas para el envasado de alimentos en los países en desarrollo. SAVE FOOD. Interpack. Dusseldorf- Alemania.
- Mudasir, A., Ifra, H., Quingrong, H., & Hassan, S. (2020). Production and characterization of starch nanoparticles by mild alkali hydrolysis and ultra-sonication process. Scientific Records. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60380-0>
- Oliva G. (2012). "Plásticos Biodegradables". Escuela Universitaria de Ingeniería Industrial. Zaragoza. España. <https://zaguan.unizar.es/re>
- Pérez, Carmen. (2012). Empaques y Embalajes. Red Tercer Milenio. ISBN 978-607-733-106-3.
- Pérez J. (2007). "Las variables en el método científico". Revista Sociedad Química. Perú. Vol. 73.
- Rosales, A. (2016). Obtención de biopolímero plástico a partir del almidón de malanga (Colocasia esculenta), por el método de polimerización por condensación en el laboratorio 110 de la UNAN-Managua, Mayo – Abril 2016. Tesis de pregrado. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua
- Rhim, J. W., & Ng, P. K. W. (2007). Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47(4), 411–433..
- Rose, S. (2019). José Sebastián Ponce Rodríguez Doris Alejandra Zambrano Real. 194. Soluciones apropiadas para el envasado de alimentos en los países en desarrollo. (2011). 44.
- Saenz M., (2011). "Boletín mensual de análisis sectorial de MIPY-MES. Elaboración de Productos Plásticos. Flacso - Ecuador.
- Santiago, M. (2015). Elaboración y caracterización de películas biodegradables obtenidas con almidón nanoestructurado (Universidad Veracruzana). <https://www.flacso.edu.ec/portal/contenido/paginas/boletin-de-analisis-sectorial-y-de-mipymes.41>

- Santiago, M. (2015). Elaboración y caracterización de películas biodegradables obtenidas con almidón nanoestructurado (Universidad Veracruzana). Hinojosa, M. G. V. (2014). OBTENCIÓN DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES A PARTIR DE MEZCLAS DE QUITOSANO DE CÁSCARAS DE CAMARÓN Y AGENTES PLASTIFICANTES. 162. Billmeyer, E. (2020). Ciencia de los polímeros. Reverté. Obtenido de https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=Fe0FEAAA-QBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=pol%C3%ADmeros&ots=e3r4oUhflG&sig=pVuihgkBgInIodLN1eDIV5XbU0s&redir_esc=y#v=onepage&q=pol%C3%ADmeros&f=false.
- Urrejola, C., Zumarán, L., Peñaloza, J., Alvarez, V., Fuentevilla, I., & Haidar, Z. (2018). Sistemas de Nanopartículas Poliméricas II: Estructura, Métodos de Elaboración, Características, Propiedades, Biofuncionalización y Tecnologías de Auto-Ensamblaje Capa por Capa (Layer-by-Layer Self-Assembly). *International Journal of Morphology*, 36(4), 1463-1471..
- Velásquez, C. L. (2006). Quitina y quitosano: Materiales del pasado para el presente y el futuro. *Avances en Química*, 8.
- Villareal, A. (2012). Hidrólisis enzimática y fermentación alcohólica de papa de desecho proveniente de la provincia del Carchi para la obtención de alcohol etílico”. Tesis de grado. Ingeniería Química. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ingeniería Química. Quito 2012. p.12.
- Zulay M., et al (2011). “Quitina y Quitosano, polímeros amigables. Revisión a sus Aplicaciones”. *Revista tecnocientífica URU*. ISSN: 2247-775X/depósito legal pp201102ZU3863.

**CREMA DE LICOR SABOR A UVILLA (PHYSALIS PERUVIANA)
CREAM LIQUEUR UVILLA FLAVOR (PHYSALIS PERUVIANA)**

Dayana Paspuel¹; Lady Guerrero²; Carolina González¹; Ana Cisneros²

1. Universidad Politécnica Estatal del Carchi jamilethpaspuel@hotmail.com

2. Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales

Recibido: 31 de agosto de 2020

Aceptado: 15 de abril de 2021

Abstract

The uvilla is a fruit that expands in the agricultural field of Ecuador; this fruit is marketed fresh and a minimum percentage in processed fruits such as jam, puree and frozen pulp. The purpose of this project is to produce a liqueur cream flavored with uvilla, as a new alternative for industrialization in the province of Carchi; for which the drink is made by fermenting the uvilla juice for a period of 15 days, which was subsequently subjected to the simple distillation process, the degrees of alcohol were measured, then the uvilla sauce was made at a medium temperature. Once the alcohol is acquired, it is mixed with the other inputs (milk cream, uvilla sauce, uvilla alcohol), therefore, three treatments are carried out with different formulations, which a sensory analysis was applied to all treatments by means of 50 semi-trained tasters from the Universidad Politécnica Estatal del Carchi, a food engineering degree, he is able to determine which formulation has the greatest acceptance. The final product has 14 degrees of alcohol, which indicates that it is within the rules of the INEN 2802 STANDARDS; also a pH of 4.72 and 36 ° Brix; However, it is not a totally harmful drink, since it contains 40% milk cream and 30% uvilla sauce, which provide nutritional properties and health benefits.

Keywords: Alcohol, distillation, fermentation, uvilla

1. Introducción

La uvilla es una fruta que se está expandiendo en el campo agrícola del Ecuador, actualmente se producen 700 hectáreas para la exportación, la cuales en un mayor porcentaje se producen en la provincia de Carchi, Imbabura y Cotopaxi. (EL COMERCIO,2011). Sin embargo, esta fruta se la comercializa en fresco y un mínimo porcentaje en frutas procesadas como mermelada, conservas, deshidratadas, puré y pulpa congelada.

La investigación tiene como finalidad la elaboración de licor de uvilla como una nueva alternativa de industrialización; debido a que no existe una diversificación de bebidas alcohólicas a base de esta fruta en la provincia del Carchi, con esto se pretende dar un valor agregado a esta fruta en el área industrial, además de fomentar su cultivo para brindar nuevas alternativas económicas a sectores agricultores.

Según Urrutia Villarroel (2012). Su contenido vitamínico y mineral es considerado muy beneficioso para la salud porque ayuda a la restauración del nervio óptico, cura y previene las afecciones de la garganta, ayuda a la purificación de la sangre, así mismo es ideal para las personas que padecen de diabetes por su consumo sin restricciones, de la misma manera por su contenido en fósforo y magnesio, favorece a la concentración y la actividad cerebral.

La uvilla se encuentra dentro del grupo de frutas frescas la cual genera una gran demanda en el mercado nacional e internacional por presentar una variedad de cualidades a los sentidos de las personas como su sabor dulce y agridulce, su aroma agradable y por poseer beneficios nutricionales se ha considerado a

aprovechar esta fruta para de cierta manera aportar a la salud del consumidor y crear una fuente de ingresos rentable.

2 Materiales y Métodos.

Materiales, equipos y reactivos

Cabeza de destilación, Termómetro, Tubo refrigerante, Balón de 250 ml, vasos de precipitación de 1000ml, adaptador, adaptador de termómetro, estufa, olla con tapa, agua, tamiz

Métodos

Localización del experimento

La investigación se llevó a cabo en los laboratorios de análisis de alimentos de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, del cantón Tulcán, perteneciente a la provincia de Carchi.

Variables evaluadas

Las variables evaluadas fueron olor, calor, sabor, textura y grado de dulzura mediante una escala hedónica. Además de su pH, grados brix y alcohólicos.

Esquema del Experimento

Se evaluó la aplicación de distintos porcentajes de crema de leche, salsa y alcohol de uvilla. Como se detallan en tabla 1.

Análisis sensorial

Se aplicó un diseño compuesto de 4 tratamientos con un tratamiento denominado testigo, se aplicó un análisis sensorial a todos los tratamientos mediante 50 catadores semientrenados de la Carrera de ingeniería de alimentos que cursan niveles superiores y que están familiarizados con el análisis sensorial, los cuales evaluaron los tres tratamientos valorando los atributos de olor, calor, sabor, textura y grado de dulzura en una escala hedónica de 5 niveles.

Tabla 1. Análisis fisicoquímicos fermentación de la uvilla

Tratamiento	Salsa de uvilla (%)	Crema de leche (%)	Alcohol de uvilla (%)
1	20	50	30
2	25	50	25
3	30	40	30

- 1 me gusta
- 2 me gusta poco
- 3 no me gusta ni me disgusta
- 4 me disgusta poco
- 5 me disgusta

Métodos de evaluación

Los métodos de evaluación: químico, microbiológico en el producto terminado para cada tratamiento fueron los siguientes:

Análisis químico:

- Sólidos solubles totales, fueron evaluados utilizando un refractómetro manual con escala de 52 – 90 °Brix. Cada tratamiento fue evaluado tres veces, obteniendo una lectura promedio.
- pH, fue analizada por el pHmetro HANNA, donde cada tratamiento fue evaluado tres veces obteniendo una lectura promedio.
- Grados de alcohol, se empleó un alcoholímetro de Gay-Lussac, midiendo en cada tratamiento los grados de alcohol que contiene.

Procedimiento

- Se procedió a colocar la uvilla triturada al proceso de fermentación en un bol de aluminio con tapa a temperatura ambiente durante 15 días.
- Posteriormente se filtró el líquido para poder pasar a la extracción de alcohol mediante destilación simple.
- Una vez obtenido el alcohol se midieron los grados de alcohol que contiene.
- En una olla y estufa se realizó la salsa de uvilla, donde la uvilla licuada se colocó a fuego lento con sacarosa, controlando la temperatura mediante un termómetro.
- Finalmente se procedió a la estandarización de cada tratamiento con crema de leche, salsa de uvilla y alcohol de uvilla.

3. Resultados

Análisis fisicoquímicos fermentación de la uvilla

Para determinar el análisis fisicoquímico de la fermentación de la uvilla se trabajó con los parámetros tiempo, temperatura, °Brix, y pH, mismos que están representados en la tabla 1, el análisis se lo realizó por triplicado.

Tabla 2. Análisis fisicoquímicos fermentación de la uvilla

Tiempo	Temperatura	°Brix	pH
Inicial	20	23	4.24
Final	19	6	3.75

Nota: se describen los resultados obtenidos durante el proceso de fermentación de la uvilla

Análisis fisicoquímicos salsa de uvilla.

Se trabajó mediante los parámetros °Brix, pH y acidez los análisis fueron realizados por triplicado, la tabla 2 señala los valores obtenidos.

Análisis fisicoquímicos crema de leche

La tabla 3 establece los resultados que fueron obtenidos mediante los análisis fisicoquímicos realizados a la crema de leche en donde se trabajó con parámetros de pH, °Brix y acidez los análisis fueron realizados por triplicado.

Tabla 3. Análisis fisicoquímicos salsa de uvilla

Tratamientos	pH	°Brix	Acidez %
T1	3.9	45	3.5
T2	4,3	52	3.8
T3	3.8	44	3.0

Nota: Se describen los resultados de los análisis fisicoquímicos realizados por triplicado

Tabla 4. Análisis fisicoquímicos crema de leche

Tratamientos	pH	°Brix	Acidez %
T1	4,8	3	16
T2	5,2	2,8	15
T3	4,5	3,2	16

Nota: Se presentan los resultados de los análisis fisicoquímicos obtenidos de la crema de leche

Análisis fisicoquímicos realizados al mejor tratamiento de la crema de licor de uvilla

Para determinar los análisis fisicoquímicos de la crema de licor de uvilla se trabajó con parámetros de pH, acidez, ° Brix, grados de alcohol. Los análisis fueron realizados por triplicado la tabla 4 señala los valores que fueron obtenidos.

Análisis sensorial

Para la realización del análisis sensorial a los diferentes tratamientos de la crema de licor de uvilla se realizó una prueba de nivel de agrado mediante escala hedónica fue necesario realizarla por medio de 50 catadores a los cuales se les entregó 3 muestras de crema de licor de uvilla por catador obteniéndose 3 valoraciones por cada tratamiento. Después de obtener dichos valores se procedió a realizar un análisis de varianza para poder determinar si existió o no diferencia entre los tratamientos de acuerdo con los criterios de los catadores.

Tabla 5. Análisis fisicoquímicos realizados al mejor tratamiento

Parámetros	Tratamiento 1	Testigo crema de licor de cacao
pH	4.72	5.1
°Brix	36	28
Grados de alcohol	14	19

Nota: Se evidencian los valores obtenidos mediante los análisis fisicoquímicos realizados al mejor tratamiento.

Tabla 6. Análisis sensorial

Tratamiento	Olor	Color	Sabor
T1	2.385 ± 1.261 ^a	2.385 ± 0.961 ^b	3.231 ± 1.641 ^{ab}
T2	3.385 ± 1.193 ^a	3.308 ± 1.032 ^{ab}	3.615 ± 0.961 ^a
T3	3.231 ± 0.927 ^a	3.692 ± 0.855 ^a	3.077 ± 0.954 ^a

Nota: Se presentan los valores obtenidos del análisis sensorial

Como se puede observar en la tabla 5 con respecto al atributo de olor en la crema de licor de uvilla no hay diferencia que sea significativa entre los tratamientos, mientras que en el color el tratamiento 2 y el tratamiento 3 son similares existiendo diferencia significativa con el resto de los tratamientos y en el sabor el tratamiento 1 difiere del resto.

4. Discusión

Según la Norma INEN 2802 sobre las bebidas alcohólicas, cocteles o bebidas alcohólicas mixtas y los aperitivos establece que: “Los cocteles o bebidas alcohólicas mixtas y los aperitivos deben tener una fracción volumétrica hasta el 15% de alcohol, deben garantizar la estabilidad física, química y microbiológica y pueden ser gasificados. Además, deben declarar cualquier condición especial que se requiera para la conservación, si de ellos dependiera

la validez de la fecha de vencimiento”. Según el CODEX STAN 78-1981 menciona que: Los criterios de calidad que se deben tomar en cuenta son: color normal, con la salvedad aceptable, sabor normal característico de la fruta y de toda la mezcla, la textura no deberá ser ni demasiado firme ni demasiado blanda. Dicho esto, para la elaboración del producto final fue necesario una serie de procesos como la fermentación y destilación donde se controlaron parámetros como temperatura, °Brix, pH, y grados de alcohol, ya que estos son importantes para la calidad del producto final, el cual presenta 14° de alcohol lo que indica que está dentro de las normas INEN 2802, un valor de 36 °Brix y 4.72 de pH, esto se define que es un producto que contiene un bajo porcentaje de alcohol y por ende es aceptable por el consumidor.

Análisis fisicoquímicos fermentación de la uvilla

En la tabla 1 se observa que el resultado del pH en la fermentación inicial es de 26 y el final es de 6. Para Fuentala (2014) en el proceso de fermentación de la uvilla presentó un pH inicial de 32 y el final de 4 el cual favorece al proceso de fermentación y la exposición a tratamientos térmicos, mientras el °Brix final es de 6 lo cual favorece al proceso ya que establece los sólidos solubles totales que deben estar presentes en la fermentación de la uvilla. Para lo cual se establece que la fermentación de la uvilla fue realizada dentro de los parámetros establecidos.

Análisis fisicoquímicos realizados al mejor tratamiento de la crema de licor de uvilla

En la tabla 4 se establece que en el tratamiento 1, de la crema de licor de uvilla se encuentra con parámetros de grados de alcohol de 14°, mientras que el testigo se halla con 17° Gl. Miranda y Tula (2014) en la elaboración de un licor de awaymanto (uvilla) obtuvieron un valor de 24 °, valor que tiene una diferencia de 10 ° con respecto al que fue obtenido en la investigación. En los °Brix se obtuvieron valores de 21 en el tratamiento 1 mientras que el testigo se encuentra con 24. Miranda y Tula obtienen un valor de 24,9 que en relación con el tratamiento 1 aumenta en 3,9 °Brix. Con los valores obtenidos se pueden clasificar tanto al tratamiento 1 como al licor de awaymanto como licores secos. En el tratamiento 1 se obtuvo un pH de 4,72 y en el testigo de 5,1. Miranda y Tula (2014) obtuvieron un pH de 4,5, valor que no presenta diferencia significativa con el tratamiento 1. Esto se debe a que en el tratamiento 1 se usó aguardiente de caña en su elaboración mientras que en el licor de

awaymanto se usó alcohol extra neutro.

Análisis sensorial

Según los datos que se obtuvieron del análisis sensorial se realizó una prueba del nivel de agrado mediante la utilización de una escala estructurada con una validación de cinco puntos. En la tabla 5 mediante el análisis estadístico demuestra en el atributo olor entre todos los tratamientos no existe diferencia significativa; en el atributo color los tratamientos 2 y 3 son iguales existiendo así diferencia significativa con el tratamiento 1, en el sabor el tratamiento 1 es significativamente diferente con los tratamientos 2 y 3.

5. Conclusiones.

La elaboración del producto fue exitosa, ya que tuvo un gran porcentaje de aceptación por parte de los catadores, por otra parte la bebida contiene un grado de alcohol bajo de 14%.

A través de los datos obtenidos de la evaluación sensorial se realizó un análisis estadístico en donde se pudo definir que no es una bebida totalmente perjudicial, ya que contiene 40% de crema de leche y 30% de salsa de uvilla, quienes aportan propiedades nutricionales y beneficios para la salud.

6. Agradecimiento.

A la Universidad Politécnica Estatal del Carchi por facilitarnos materiales y equipos de laboratorio para poder llevar a cabo la investigación, al docente MSc. Alonso Chandi por brindarnos las bases principales para elaborar nuestro trabajo.

7. Referencias bibliográficas

- Angulo, J y Apugllón C. (2016). Proyecto de exportación de mermelada de uvilla (Tesis de grado), Escuela Superior Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- Codex Stan 78-1981, c. s. (2020 de 08 de 30). Norma del Codex para coctel de frutas en conserva Codex Stan 78-1981. Obtenido de norma del Codex para coctel de frutas en conserva CodexStan781981:file:///c:/users/zsyste~1/appdata/local/temp/cxs_078s.pdf
- De la Torre, N. (2017). Destilación, teoría y Tipos. Montilla (Córdoba). Copyright. Recuperado de: http://www.alambiques.com/tecnicas_destilacion.htm
- EL COMERCIO. (2011, 13 de agosto). El cultivo de la uvilla crece en el país. <https://www.elcomercio.com/actualidad/negocios/cultivo-de-uvilla-crece-pais.html> <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/7412/10.C06.001401>.
- Fueltala, F. (2014). Proyecto de utilización de la uvilla como alternativa gastronómica en preparaciones de salsas, vinagretas y coulis (Tesis de grado), Escuela Superior Universidad Técnica del Norte, Ibarra, Ecuador.
- INEN 2802:2015. Bebidas alcohólicas. cocteles o bebidas alcohólicas. mixtas y los aperitivos. requisitos.
- MIRANDA, J., y TULA, J. (2014). OPTIMIZACIÓN DE LA TECNOLOGÍA PARA LA FORMULACIÓN DE MACERADO DE AGUAYMANTO (*Physalis peruviana*) (Tesis de pregrado). UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN DE AREQUIPA, AREQUIPA –PERÚ. Recuperado de: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/4191/1Amiapja017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS MICROENCAPSULADAS DE MORA (RUBUS GLAUCUS BENTH)

EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE CONTENT OF MICROENCAPSULATED BLACKBERRY ANTHOCYANINS (RUBUS GLAUCUS BENTH).

Vanessa Monserrath, Bastidas Bastidas¹; PhD. Orestes Darío, López Hernández ²; Lcdo. Yoel Hernández Navarro³

Grupo de Investigación AndesBioactivos¹

Universidad Técnica de Ambato (UTA), Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología (FCIAB)^{2,3}

Carrera de Ingeniería Bioquímica¹. Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato (Ecuador), Email: vanebastidas688@gmail.com

Recibido: 29 de septiembre de 2020

Aceptado: 30 de marzo de 2021

Abstract

The research presented was based on the extraction, microencapsulation and quantification of flavonoids (anthocyanins) from blackberries (*Rubus glaucus* Benth). The antioxidant properties of the plant under study were also evaluated. Three microencapsulations were obtained using 3 polymers as encapsulating agent: maltodextrin, that is a mixture in proportions (1:1) of maltodextrin-gum arabic and concentrated whey protein, where through the analysis of variances of efficiency of 90.81%, 90.64% and 89.73%, were achieved respectively. With a spectroscopic analysis it was demonstrated that the anthocyanins of blackberries were covered by the polymers, obtaining a form of microspheres. To evaluate the antioxidant properties, a live analysis was carried out using *S. cerevisiae*, where through the growth curves it was verified that each microencapsulated had antioxidant activity and that they were within the curves containing vitamin C as a strong antioxidant.

Keywords: antioxidant activity, flavonoids, anthocyanin microencapsulated, *Rubus glaucus* Benth, spray drying.

1. INTRODUCCIÓN

El ser humano consume productos alimenticios como frutas y hortalizas que por su riqueza en vitaminas, fibra y minerales los hace necesarios para obtener energía y nutrientes precisos para subsistir; a pesar de que la diversidad vegetal es extensa, las frutas y hortalizas comparten una característica en común: los flavonoides (INIAP, 2013). Los flavonoides son compuestos químicos que comparten en común un esqueleto difenilpirano, de acuerdo con sus características funcionales se clasifican en: flavanos, flavonoles, flavonas y antocianidinas (Martínez, 2015). Dentro de las antocianidinas se encuentran las antocianinas las cuales están formadas por una molécula de antocianidina que es la aglicona a la que se le une un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico (Garzón, 2008).

Las antocianinas son un grupo de pigmentos naturales ampliamente distribuidos en el reino vegetal, hidrosolubles lo que facilita su incorporación a sistemas alimentarios acuosos (Kong, 2003). El interés por estos pigmentos antociánicos ha incrementado con el pasar de los años, no solo por el color que confieren a frutas y hortalizas si no por sus propiedades antioxidantes, lo que les permite participar en la reducción de enfermedades coronarias, cáncer, diabetes, efectos antiinflamatorios, mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo (Shipp, 2010).

La mora (*Rubus glaucus* Benth) es rica en antocianinas y carotenoides, además contiene una gran cantidad de vitamina C y posee sustancias antioxidantes (Yashin, 2017). Este producto es cotizado nacional e internacionalmente y por ello se han desarrollado técnicas

en diferentes áreas industriales para lograr una extensión de vida útil de los alimentos, una de ellas es la microencapsulación que tiene como objetivo principal, lograr la estabilidad de los componentes y retener las características sensoriales y biofuncionales de la fruta, conjuntamente facilitando el transporte y el almacenamiento de las mismas (Sortino, 2016).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materia Prima

La materia prima utilizada en este proyecto de investigación fue mora (*Rubus glaucus* Benth) conjuntamente de reactivos como ácido clorhídrico (1mol/L) y etanol 96% junto con polímeros Maltodextrina DE 10 (MD), mezcla de Maltodextrina con Goma arábiga (MD-G) y proteína concentrada de suero (PCS) para las respectivas matrices de microencapsulación.

2.2. MÉTODOS

Recolección de la planta

Los ejemplares de mora (buen color, sin presentar daño físico, libres de deterioro causado por hongos e insectos) fueron recaudados de las coordenadas latitud: $-1,23333$ y longitud: $-78,6833$ pertenecientes a la parroquia Quisapincha, cantón Ambato, provincia de Tungurahua.

Preparación de materia vegetal

En el laboratorio de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología (FCIAB) de la UTA, las muestras se sometieron a secado en una estufa (Grander MTN, modelo CD-160) a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, se extendieron en mallas metálicas con el fin que tengan el espacio apropiado para eliminar la humedad. A las muestras deshidratadas se procedió a triturar en un molino

(IKA, modelo M 20 S003) hasta convertirlas en polvo fino.

Obtención extractos vegetales líquidos.

Para obtener los extractos líquidos de la muestra se realizó una extracción sólido-líquido, en el cual el sólido es la muestra de mora en polvo y el disolvente fue (EtOH: HCl 1 mol/L; relación 85:15), manteniendo la relación 1:20, es decir, por cada 100 g de muestra sólida se emplearon 2000 ml de disolvente. Posteriormente se colocó la solución en un reactor de acero inoxidable de 4 L con su respectiva tapa para evitar la evaporación del disolvente y se mantuvo en estas condiciones a 68 °C durante 60 min en una plancha de calentamiento (Corning PC-620D) con agitación constante. Seguido se procedió a centrifugar para retirar el sedimento en una centrífuga (Rotina 380) a 4000 min⁻¹ durante 15 min, se colectó el sobrenadante y se llevó a un rotoevaporador (IKA RV 8 V-C) a 60 °C y 160 min⁻¹ para la evaporación del disolvente. Se midió el volumen total obtenido de concentrado en donde se encuentran las antocianinas y se almacenó a 4 °C en botellas ámbar para evitar el contacto con la luz.

Las antocianinas aisladas suelen ser un poco inestables y susceptibles a la degradación durante el almacenamiento y el procesamiento, por lo que hay que tener especial cuidado con varios factores como temperatura de almacenamiento, concentración, luz, oxígeno, disolventes (Arrazola, 2014).

Análisis de concentración de antocianinas de mora.

La concentración de antocianinas de la muestra de mora, según Abdel-Aal (1999) consta de

realizar mediciones de la absorbancia en un espectrofotómetro (UV-visible) a una longitud de onda de 535 nm, se calculó la concentración a partir de la siguiente ecuación:

$$C = \frac{A \times MW \times DF \times V \times Wt}{\epsilon \times l}$$

Ecuación 1: Determinación de concentración de antocianinas

Donde:

C: concentración de antocianinas mg/L

A: absorbancia obtenida a 535 nm

MW: Peso molecular de cianidina 3-glucósido (449 g/L)

DF: Factor de dilución

V: Volumen final (ml)

Wt: Peso de la muestra (mg)

ϵ : Absortividad molar (cianidina 3-glucósido 25965 L cm⁻¹ mg⁻¹)

l: grosor de la cubeta (cm)

Determinación de sólidos totales

La determinación de sólidos totales se realizó por método gravimétrico en una balanza de humedad (KERN MLS 50-3), con este dato se realizaron los cálculos respectivos y se determinó la cantidad necesaria de cada uno de los componentes de la solución posterior (concentrado de antocianinas, polímero, agua destilada). Con base al valor de humedad de cada muestra se obtuvo el porcentaje de sólidos totales mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Sólidos totales} = 100 - \% \text{ humedad}$$

Ecuación 2: Determinación de sólidos totales

Análisis de varianza

Para determinar diferencias significativas de los 3 distintos polímeros en cuanto a concentración y eficiencia de las muestras microencapsuladas de mora (*Rubus glaucus* Benth) se utilizó un

software de análisis de datos estadísticos y gráficos, Statgraphics XVII 64x, empleando como variable independiente los 3 polímeros: Maltodextrina, mezcla de maltodextrina con goma arábica, y proteína concentrada de suero, y como variable dependiente se planteó el valor de la concentración.

Caracterización físico-química de la mora

Determinación de tamaño

El diámetro y la longitud de la fruta se determinaron con la ayuda de un calibrador pie de rey (marca BP GOLD), en 10 unidades de mora.

Determinación de peso

Se tomaron 10 unidades de mora y se registraron las lecturas de cada una de ellas utilizando la balanza analítica Ohauspioneer calibrada con una precisión de 0,1 mg.

Determinación de volumen

Se determinó el volumen de acuerdo al método de inmersión en líquidos, en donde el Principio de Arquímedes enuncia: un cuerpo que se encuentra sumergido total o parcialmente en un fluido experimenta una fuerza ascendente igual al empuje del peso del líquido desplazado, por lo tanto el volumen del líquido que se desplaza es igual al volumen de la parte que está sumergida del cuerpo (Zapata, 2014).

Para ello se utilizó un vaso de precipitación de 50 ml, el cual se colocó sobre un recipiente para recoger el agua desplazada, se introdujo una unidad de mora y el volumen desplazado correspondió a la unidad en cuestión.

Determinación de densidad

Obtenidos los valores de peso y volumen se aplicó la densidad mediante la ecuación:

$$\rho = m/v$$

Ecuación 3: Determinación de densidad

Donde:

ρ = densidad

m= masa en gramos

v= volumen en mililitros

Determinación de color

Para realizar la medición del color externo de la mora se requirió de 10 unidades de mora, utilizando un colorímetro marca Lovibond, previamente calibrado. La medición de color se ejecutó en 3 puntos diferentes de la misma muestra, en donde se obtuvo como datos un promedio de los valores de L* (Luminosidad), a* (componente rojo-verde), b* (componente amarillo-verde), croma (saturación) y h (tono), en base al espacio de color CIE Lab.

Determinación de pH

El potencial de Hidrógeno (pH) se determinó usando un potenciómetro digital (Mettler Toledo – G20), por medida directa en una solución de agua destilada (45 ml) con 5 g de pulpa, siguiendo la metodología descrita por (Choi, 2011).

Determinación de °Brix

El cociente total de materia seca (generalmente azúcares) se determinó por refractometría, mediante un refractómetro digital ATAGO Pocket-Japón de acuerdo a la norma (INEN-ISO, 2013).

Microencapsulación

La microencapsulación de antocianinas de mora (*Rubus glaucus*) se realizó en la UTA-FCIAB-UODIDE en el equipo Mini Spray Dryer Büchi B-290. Se revisó que el equipo se mantenga en condiciones óptimas para continuar con el estudio como:

voltaje, presión, compresión de aire, estructura física, etc, además se impusieron las condiciones de operación como: temperatura de entrada (150 °C), y temperatura de salida (90 °C) y bombeo (20 %). Se usaron tres polímeros naturales (agentes encapsulantes) cuya función es recubrir un compuesto: maltodextrina, goma arábica y proteína concentrada de suero empleando una relación antocianinas: polímeros de 20:80. Se mezclaron los extractos líquidos con el polímero y agua destilada, el cual actuó como disolvente creando una mezcla homogénea, se secó por aspersion en el spray dryer y se recolectaron las microesferas obtenidas.

Para verificar la eficiencia de microencapsulación, se mezcló 1,5 g del microencapsulado en 15 ml de agua y en 15 ml de etanol individualmente. Se filtró y al filtrado se le realizó una dilución 1/1000 para medir las absorbancias a una longitud de onda de 526 nm. La concentración de cada dilución se calculó utilizando la Ecuación 1. Para la eficiencia se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% E.E = \frac{\text{Conc en agua (total)} - \text{Conc en etanol(libre)}}{\text{Conc en agua (total)}} * 100$$

Ecuación 4: Determinación de la eficiencia de microencapsulado

Donde:

% E.E = porcentaje de eficiencia de microencapsulación.

Espectroscopía Infrarroja FT-IR

En la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Facultad de Ciencia en el Laboratorio de Química Instrumental, el análisis de antocianinas se realizó de la muestra líquida sin microencapsular, los polímeros y las muestras sólidas microencapsuladas, utilizando un espectrofotómetro infrarrojo FT-IR.

Se utilizó el programa Spectra Analysis, el mismo que ayudó a identificar y etiquetar los picos más relevantes, entre otras opciones según lo que se requiera. La longitud de onda en la cual se midió fue de 526 nm. La medición espectrofotométrica de antocianinas de absorción máxima se da entre 520-540 nm en la región visible (Aguilera & Reza, 2011).

Evaluación de la actividad antioxidante

Para evaluar la actividad antioxidante se utilizó una cepa cultivada en medio YPD cuya composición es: glucosa 2 % p/v, extracto de levadura 1 % p/v, peptona 2 % p/v y agar 2 % p/v. Se tomó la cepa de un stock de glicerol congelado, se inocularon en medio YPD líquido y se cultivaron a 28 °C con agitación constante toda la noche. Después los cultivos se diluyeron en medio YPD líquido para que tengan un mayor crecimiento a 28 °C con agitación constante toda la noche, y se inocularon en placas de agar YPD y se incubaron a 28 °C por 72 h para obtener colonias individuales.

Para determinar la concentración correcta de agente oxidante se realizaron varios experimentos.

En 5 ml de medio YPD se inoculó una única cepa de levadura y se incubó durante 6 horas a 28 °C y 40 min⁻¹. Posteriormente se realizó una dilución 1/10 del cultivo líquido, se tomó 5 µL del cultivo líquido diluido 1/10 y se inoculó en 3 ml de medio YPD, con 1 ml de microencapsulado a una concentración de 50 mg/ml (1 g de microencapsulado diluido en 20 ml de agua destilada).

Nuevamente, se tomó 5 µL del cultivo líquido diluido 1/10 y se inoculó en 3 ml de medio YPD

pero esta vez con 1 ml de microencapsulado a una concentración de 25 mg/ml (0,5 g de microencapsulado diluido en 20 ml de agua destilada).

Para el control positivo se tomó 5 µL del cultivo líquido diluido 1/10 y se inoculó en 3 ml de medio YPD y se añadió 1 ml de vitamina C a una concentración de 25 mg/ml (0,5 g de vitamina C diluido en 20 ml de agua destilada).

Para el control negativo se tomó 5 µL del cultivo líquido diluido 1/10 y se inoculó en 3 ml de medio YPD.

Se incubaron los 4 tubos durante 18 h a 28 °C y 40 min⁻¹.

Las células se recolectaron por centrifugación a 2700 min⁻¹, durante 20 min, a 20 °C y se resuspendieron los precipitados en 3 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) pH 7,4.

Se leyó la absorbancia a 600 nm hasta alcanzar un valor de 0,1 (añadiendo alícuotas de suspensión de levadura) para asegurar una concentración homogénea y se incubó durante 30 minutos a 28 °C.

Para el proceso de estrés oxidativo, una vez alcanzada la OD de 0,1 se añadió 1 ml de H₂O₂, 0,5 mmol/l para cada concentración de microencapsulado, y también se añadió 1 ml de de H₂O₂, 3 mmol/l para cada concentración de microencapsulado.

Posteriormente el peróxido se eliminó mediante centrifugación a 2700 min⁻¹, durante 20 min, a 20 °C y se realizó un lavado con PBS, el pellet se resuspendió en medio YPD fresco para su posterior crecimiento registrando la absorbancia a 600 nm.

Los cultivos se distribuyeron en placas de microtitulación de 96 pocillos con un volumen final de 250 µl por pocillo, utilizando tres replicas para

cada combinación. El crecimiento de la levadura se controló a 30 °C leyendo la absorbancia a 600 nm en un espectrofotómetro con lector de placas de 96 pocillos (Fisherbrand™ accuSkan™ GO) durante 18 h con agitación a 600 min⁻¹ antes de cada lectura.

El efecto que ejerce el peróxido de hidrógeno y los agentes oxidantes se determinaron mediante el análisis estadístico de la gráfica de curva de relación de crecimiento vs tiempo (Peláez, 2016).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de varianza

La figura 1 presenta la comparación de concentración de las antocianinas en los microencapsulados de mora.

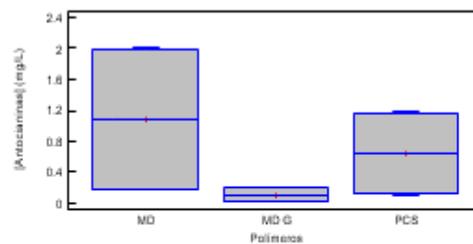


Figura 1. Comparación de concentración de antocianinas en los microencapsulados de mora (*Rubus glaucus* Benth)

De acuerdo con el análisis estadístico realizado en Statgraphics utilizando la prueba de múltiples rangos se indica que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los 3 polímeros dado que el valor P (0,0640) de la prueba F es mayor a 0,05 con un nivel de confianza del 95,0 %. Sin embargo; a través del procedimiento de diferencia menos significativa (LSD) de Fisher, MD obtuvo una media mayor respecto a los dos polímeros restantes.

Se discriminó entre los pares de medias de los gráficos indicando que existe homogeneidad entre MD

y PCS, entre MD-G y PCS, verificado por el gráfico de caja y bigotes ya que cada uno tiende a sobreponerse; sin embargo, no existe homogeneidad entre MD y MD-G.

La figura 2 presenta la eficiencia de microencapsulación de cada agente encapsulante (Maltodextrina, Maltodextrina-Goma arábiga y Proteína concentrada de suero).

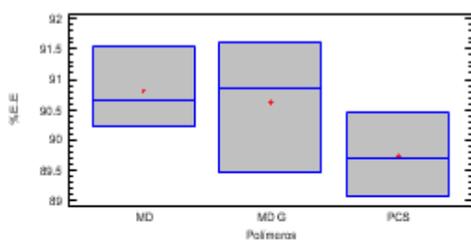


Figura 2. Comparación de la eficiencia de microencapsulación de antocianinas de mora (*Rubus glaucus*)

Como se aprecia, no existe diferencia significativa entre los distintos polímeros en cuanto a sus medias P (0,3173), pero a pesar de que no existe diferencia, se observó que con MD se alcanza un valor de eficiencia de 90,81 %, siendo este superior al que se alcanzó con MD-G de 90,64 % y al obtenido con PCS de 89,73 %, por lo que se selecciona la MD como la matriz que mayor eficiencia de microencapsulación de antocianinas proporciona.

Las eficiencias obtenidas se lograron al utilizar las condiciones correctas, siendo así entre los 3 polímeros utilizados maltodextrina la más alta con una eficiencia del 90,81 %.

La maltodextrina al ser altamente soluble forma partículas huecas en donde el polímero tiene al agente activo atrapado durante el proceso de secado por aspersión (Tonon, 2010).

Caracterización físico-química de la mora

En la tabla 1 se presentan los resultados de longitud, diámetro, peso, volumen y densidad de la mora (materia prima utilizada), los cuales fueron fundamentales para iniciar el proceso de extracción.

El diámetro de la mora de acuerdo al tamaño (grande, mediano, pequeño) se encuentra entre: >25 mm, 25-18 mm, <18 mm respectivamente; en cuanto a la longitud (grande, mediano, pequeño) se encuentra entre: >25 mm, 25-20 mm, <20 mm respectivamente (INEN, 2010).

El peso de la fruta se encuentra entre 4,16 g, y 5,48 g considerando un tamaño mediano y grande (Montalvo, 2010). El volumen y la densidad se encuentran en un rango entre $6,81 \pm 1,25 \text{ cm}^3$ y $1,01 \pm 0,07 \text{ g/cm}^3$ (Ayala, 2013). Se ha demostrado que resultados obtenidos en la investigación (Tabla 1), se encuentran en el rango presentado bibliográficamente, lo que indica que la fruta se encontraba en estado de madurez grado 4.

Determinación del color de la mora

De acuerdo a los valores presentados en la tabla 2 de los tres puntos distintos de la mora, mediante el programa Encycolorpedia que indica el porcentaje de color que posee la fruta en cuestión, se demostró que el estado de madurez al que pertenece la mora (*Rubus glaucus* Benth) es de grado 4; por medio de la Norma INEN 2427 donde indica los diferentes estados de madurez que posee la fruta a partir del color externo.

Determinación de ° Brix

Nº	Longitud (mm)	Diámetro (mm)	Peso (g)	Volumen (cm ³)	Densidad g/cm ³
1	25,3	18,2	4,60	4,5	1,02
2	24,2	19,4	4,54	4,4	1,03
3	24,3	18,5	4,51	4,5	1,00
4	24,4	18,5	5,44	5,1	1,07
5	25,2	18,4	5,24	5,1	1,03
6	24,5	19,3	4,56	4,5	1,01
7	25,4	19,3	4,46	4,4	1,01
8	24,2	18,4	4,35	4,3	1,01
9	24,4	19,5	5,35	5,2	1,03
10	25,3	18,3	5,47	5,4	1,01
Promedio	24,7	18,78	4,85	4,74	1,02

Tabla 1. Características físicas de la mora (*Rubus glaucus* Benth)

	Estándar	Muestra	Δ
L*	100,0	15,3	-84,7
	100,0	9,7	-90,3
	100,0	10,8	-89,2
a*	0,0	8,2	8,2
	0,0	9,2	9,2
	0,0	7,5	7,5
b*	0,0	5,6	5,6
	0,0	2,1	2,1
	0,0	2,2	2,2
C*	0,0	10,0	10,0
	0,0	9,4	9,4
	0,0	7,8	7,8
h*	0,0	34,5	H* 0,0
	0,0	12,6	H* 0,0
	0,0	16,4	H* 0,0

Tabla 2. Mediciones de color de *Rubus glaucus* Benth

La cantidad de azúcares que posee la mora, fue determinada a partir de los grados Brix, encontrándose como resultado un valor de 10 °Brix.

El ° Brix que se refiere según la norma es mayor o igual a 9 ° Brix, lo que demuestra que el valor especificado se cumple (INEN, 2010).

Determinación de pH

Por medio del procedimiento descrito anteriormente se obtuvo un pH de 3,16 indicando que tiene

un pH ácido. Los valores de pH de acuerdo al estado de madurez van desde 2,80 a 2,88 Ayala (2013); sin embargo la disminución de acidez presentado en este estudio (3,16) se debe a la temperatura de almacenamiento de la mora que superó los 8 °C, por lo que el deterioro de la fruta se encontraba en aumento, haciendo que la intensidad de color sea superior Guijarro (2019); provocando un falencia en la detección de grado de la madurez de la misma, sin embargo por resultados físicos se verificó que la mora ocupada tenía grado 4.

Obtención de extractos de antocianinas

Se siguió el procedimiento detallado por Aranda (2018), para obtener un extracto rico en antocianinas cuya concentración inicial fue de 20,23 mg/L, comparado con estudios realizados por Cuenca (2017), cuya concentración de mora fue 41,64 mg/L se indica que la disminución de la misma puede ser debido a la temperatura de almacenamiento que superó los 8°C y a la

exposición de la luz ya que los pigmentos son fotosensibles creando una degradación de las antocianinas y por ende una baja concentración (Ramirez, Rojas, & Correa, 2006). Se obtuvo un porcentaje de sólidos totales de 30,05.

Análisis espectroscópico de las antocianinas microencapsuladas

En la figura 3 se muestran los espectros infrarrojos de las antocianinas sin microencapsular y de las microencapsuladas.

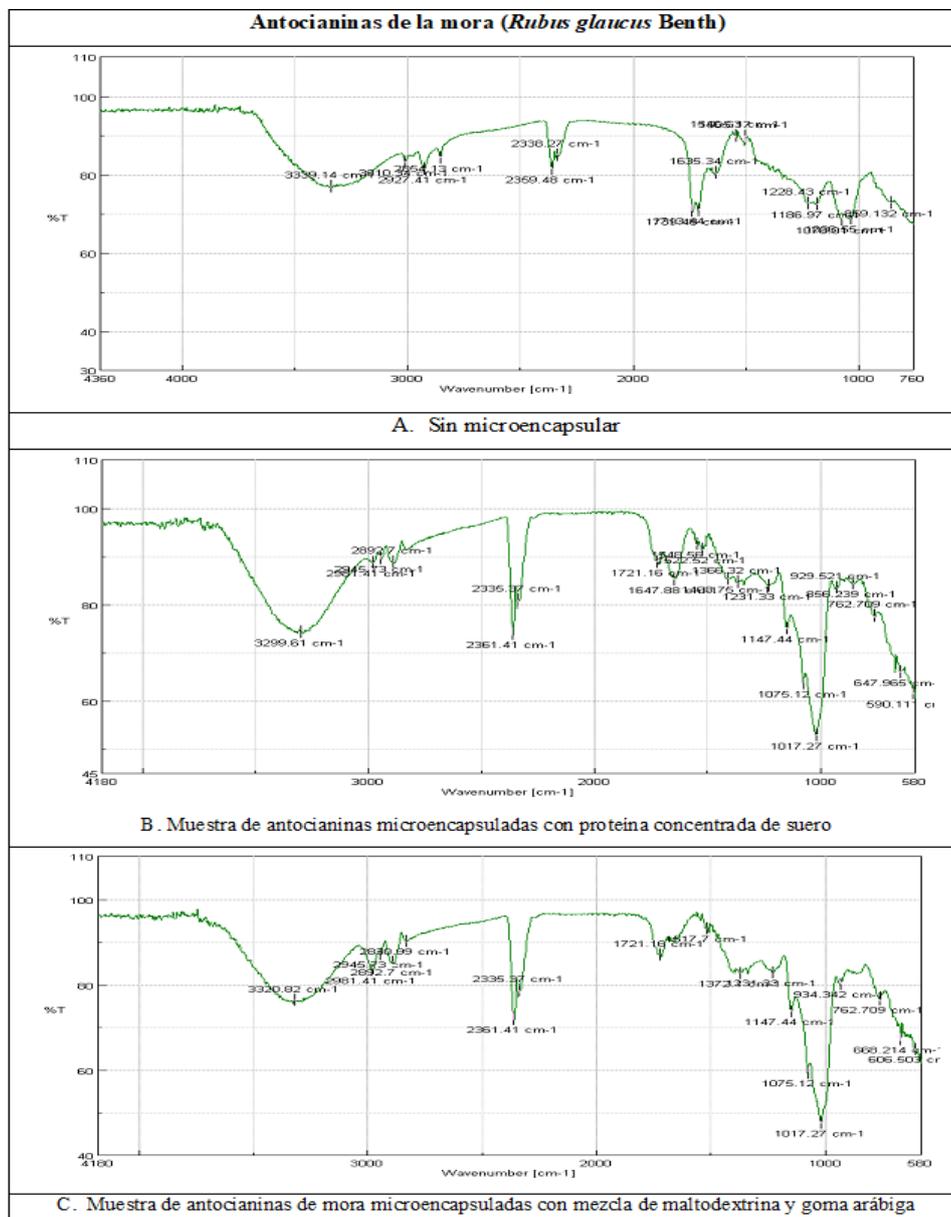


Figura 3. Comparación de los espectros del FTIR de la muestra sin microencapsular y las muestras microencapsuladas

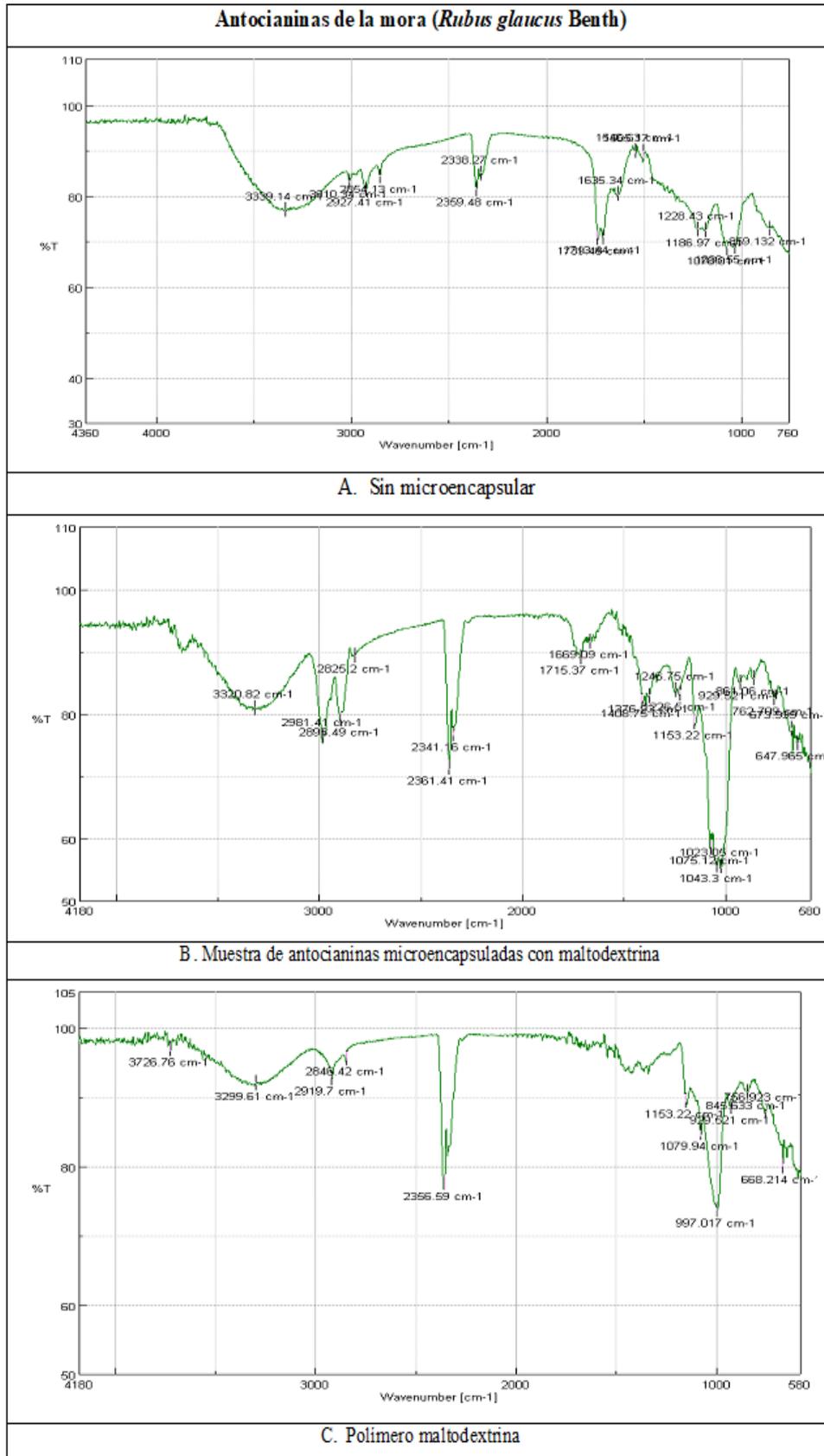


Figura 4. Comparación de los espectros de muestra sin microencapsular y con microencapsulado de maltodextrina y el polímero maltodextrina

En la figura 3 A) se observa la muestra líquida sin microencapsular, B) muestra de antocianinas de mora microencapsuladas con proteína de suero, C) muestra de antocianinas de mora microencapsuladas con mezcla de maltodextrina y goma arábica.

En la figura 4 A) se indica la muestra líquida sin microencapsular, B) polímero maltodextrina y C) polímero maltodextrina.

Como se observa en la figura 3 A), los intervalos de números de onda de los grupos funcionales (OH) de los polifenoles se encuentran entre 1710- 1635 cm^{-1} .

En el espectro de la muestra sin microencapsular se observa que las bandas correspondientes al grupo OH están más intensas a comparación con los espectros de las muestras microencapsuladas, por lo que se comprueba que las antocianinas se encuentran recubiertas por el polímero.

Los espectros pertenecientes a las antocianinas microencapsuladas con los diferentes polímeros presentan bandas más intensas en comparación con el polímero maltodextrina debido a que el porcentaje de eficiencia con dicho agente microencapsulante fue superior a la alcanzada con los otros agentes encapsulantes, por lo que se puede decir que a medida que la eficiencia aumente el pico del microencapsulado va a disminuir y será similar al del polímero.

Actividad antioxidante in vivo de microencapsulado de *Rubus glaucus* Benth

En la figura 5 se presentan las diferentes curvas de crecimiento de la levadura *S. cerevisiae* expuesta a oxidación con peróxido de hidrógeno, comparada con la vitamina C como antioxidante de referencia y los microencapsulados de

antocianinas en los tres polímeros de uso industrial.

S. cerevisiae es uno de los organismos modelos más utilizados por su conocimiento fisiológico y genético, crecimiento rápido, es accesible económicamente y puede aislarse con facilidad lo que la hace factible para el estudio en cuestión (Mager & Winderickx, 2005).

Varias investigaciones se han realizado usando *S. cerevisiae* como modelo in vivo para identificar antioxidantes naturales extraídos de fuentes vegetales, para estudiar mecanismos moleculares de acción de polifenoles y para la detección de proteínas implicadas en la respuesta al estrés oxidativo de la misma (Baba, Malik, Wani, & Mohiuddin, 2015; Gibis, Zeeb, & Weiss, 2014).

La determinación de la actividad antioxidante in vivo se realizó en base a la levadura *S. cerevisiae* como modelo, a la cual se le sometió a estrés oxidativo utilizando peróxido de hidrógeno para evaluar su capacidad de recuperación en presencia de antioxidantes.

En la figura 5 se observa el crecimiento de la levadura sin tratamiento (curva gris) la cual crece normalmente con sus respectivas propiedades en fase de adaptación, exponencial y estacionaria debido a que se encuentra en un medio rico en nutrientes para la misma como es caldo YPD; sin embargo, la curva de crecimiento que contiene peróxido de hidrógeno (curva amarilla) se oxidó y se nota la deficiencia que tiene en su desarrollo. Las levaduras contienen algunos compuestos antioxidantes como el ubiquinol ácido D-eritroascórbico, la flavohemoglobina, ácido D-eritroascórbico, el glutatión, ergosterol, las metalotioneínas, la trehalosa y poliaminas, inclusive está dotada de algunos metabolito carotenoides, además

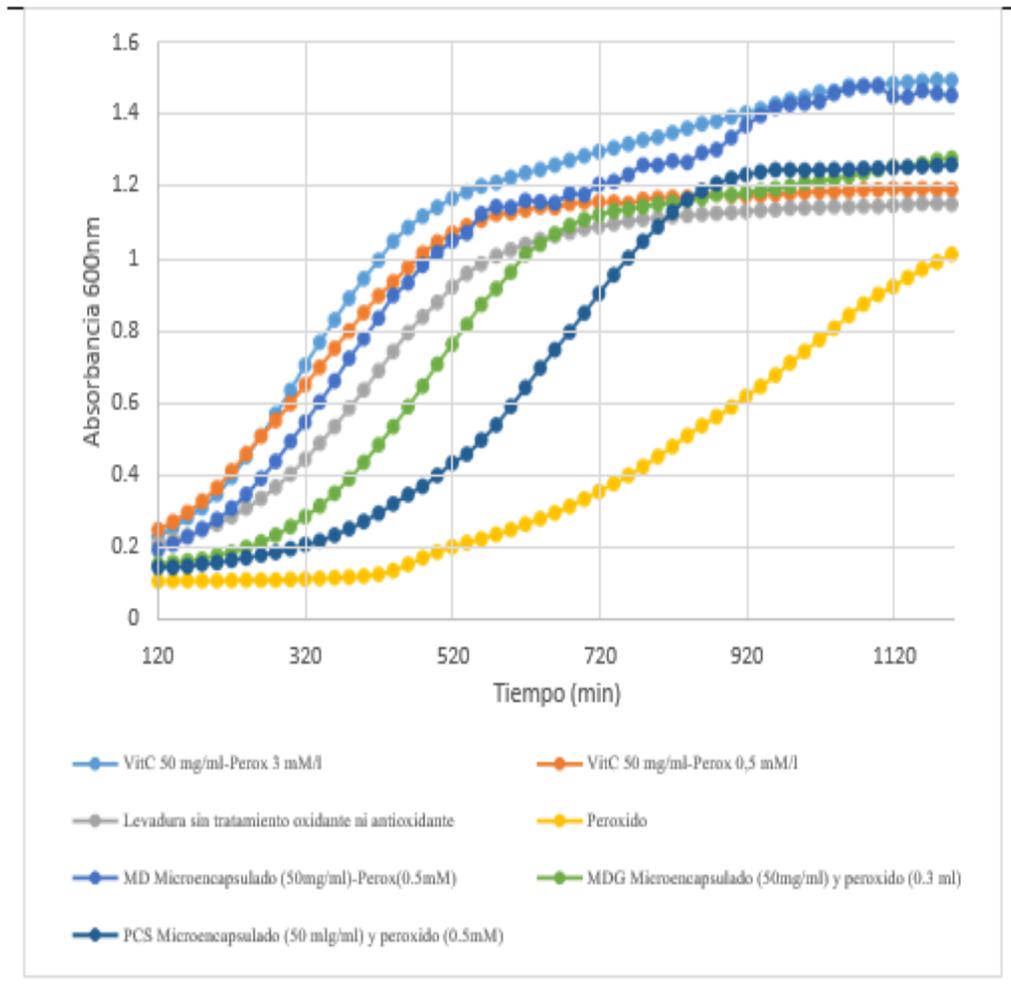


Figura 1. Curva de antocianinas microencapsuladas en base a los diferentes polímeros en el crecimiento de *S. cerevisiae*.

poseen enzimas que detoxifican el oxígeno activo, tales como la Cu/Zn superóxido dismutasa, peroxidasa, Mn superóxido dismutasa, tiorredoxina peroxidasa, citocromo C, catalasa A, glutatión reductasa, tiorredoxina reductasa, tiorredoxina, y catalasa T (Jamieson, 1988); (Gibson, 2007); (Herrero, 2008); (Kaino, 2008). A pesar que la levadura contiene peróxido como una forma de estrés oxidativo realiza su crecimiento inicial, sin embargo a medida que pasa el tiempo su crecimiento va declinando.

Las curvas control (celeste y tomate) a pesar de contener peróxido presentan un crecimiento normal ya que la presencia de vitamina C tiene la característica de ser antioxidante por su actuación en la reducción de radicales libres, disminuyendo las reacciones continuas y previniendo daños en los alimentos; además que frena el pardeamiento de las frutas y tiene un alto valor nutricional (Bastías, 2016). La curva de crecimiento de color azul pertenece al microencapsulado con maltodextrina, se nota que se encuen

tra entre las curvas con vitamina C y está creciendo normalmente similar a las curvas patrón (vitamina C) por lo que se determina que el microencapsulado posee actividad antioxidante.

La curva verde es el microencapsulado con una mezcla de maltodextrina-goma arábica y la curva azul intenso es la curva del microencapsulado con el polímero proteína concentrada de suero. Estas curvas presentan una manera similar de crecimiento comparando con las curvas patrón que contienen vitamina C, lo que indica que también presentan actividad antioxidante; a pesar de ello al comparar las tres curvas de microencapsulado se determinó que la de maltodextrina contiene mayor actividad antioxidante por su similitud más próxima a las curvas patrón, cuestión que puede atribuirse a que presenta también una mayor concentración de antocianinas y eficiencia de microencapsulación.

soriales y biofuncionales de la mora, donde el biopolímero maltodextrina tuvo un mayor porcentaje de eficiencia de microencapsulación (90,81%).

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos en cuanto a caracterización físico-química cumplen un papel importante para determinar el valor nutricional de los alimentos. Los frutos que crecen de las plantas del género *Rubus glaucus* Benth poseen actividad antioxidante, lo que se verificó a través de las curvas de crecimiento, donde se observó la adaptación y el desarrollo de la levadura *S. cerevisiae* al estar sometida en un medio nutritivo con antocianinas. Las antocianinas que son los antioxidantes en la mora, estuvieron sometidos al proceso de microencapsulación con 3 polímeros, dando a conocer que este procedimiento es una técnica favorable para lograr la estabilidad de los componentes y retener las características sen-

5. Referencias bibliográficas

- Abdel-Aal, M. &. (1999). A Rapid Method for Quantifying Total Anthocyanins in Blue Aleurone and Purple Pericarp Wheat. Obtenido de http://www.aaccnet.org/publications/cc/1999/May/Pages/76_3_350.aspx
- Aguilera, M., & Reza, M. (2011). Propiedades funcionales de las Antocianinas. Obtenido de <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/81>
- Aranda, C. (2018). Extracción y microencapsulación de antocianinas a partir de papas nativas (*Solanum tuberosum* spp) variedades Puca-shungo- y Yana Shungo. Obtenido de Aranda, C. (2018). Extracción y microencapsulación de antocianinas a partir de papas nativas (*Solanum tuberosum* spp) variedades: <http://uta.edu.ec/bitstream/123456789/27504/3/BQ%20145.pdf>
- Arrazola, G. H. (2014). Microencapsulación de antocianinas de berenjena (*Solanum melongena* L.) mediante Secado por aspersión y evaluación de la estabilidad de su color y capacidad antioxidante. Obtenido de <https://doi.org/10.4067/S0718-07642014000300006>
- Ayala, L. (2013). CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE MORA. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n2/v11n2a02.pdf>
- Baba, S., Malik, A., Wani, Z., & Mohiuddin, Z. (2015). Análisis fitoquímico y actividad antioxidante de diferentes tipos de tejidos de *Crocus sativus* y alivio del estrés oxidativo potencial del extracto de azafrán en plantas, bacterias y levaduras. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629915002562?via%3Dihub>
- Bastías, M. (2016). La vitamina C como un eficaz micronutriente. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/469/46946023012.pdf>
- Choi, Y.-S. C.-Y.-W.-S.-Y. (2011). Choi, Y.-S. C.-Y.-W. (2011). Choi, Y.-S., Choi, Effects of rice bran fiber on heat-induced gel prepared with pork salt-soluble meat proteins in model system". 88(1),59-66.
- Cuenca, J. (Febrero de 2017). Evaluación de las características físico químicas del colorante de mora, extraído con microondas a diferente niveles de tiempo y potencia. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9205/1/T-UC E-0004-10.pdf>
- Garzón, A. (2008). LAS ANTOCIANINAS COMO COLORANTES NATURALES Y COMPUESTOS BIOACTIVOS. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v13n3/v13n3a2.pdf>
- Gibis, M., Zeeb, B., & Weiss, J. (2014). Formación, caracterización y estabilidad del extracto de hibisco encapsulado en liposomas multicapa. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X13003755?via%3Dihub>
- Gibson, B. (2007). Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling. *FEMS Microbiology Reviews*,31(5):535-569..
- Guijarro, M. (2019). Retención de antocianinas en frutos de mora (*Rubus glaucus* Benth) sin espinas sometidos a diferentes tratamientos poscosecha. Obtenido de <https://www.redalyc.org/jatsRepo/813/81361553007/html/index.html>

- Herrero, E. (2008). Redox control and oxidative stress in yeast cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1780(11): 1217-1235. .
- INEN. (2010). Frutas frescas mora, requisitos. Obtenido de <https://archive.org/details/ec.nte.2427.2010/page/n3>
- INEN-ISO, N. (2013). Productos vegetales y de frutas. Determinación de sólidos solubles. Método refractométrico., 2. 1.-3. (s.f).
- INIAP. (2013). FICHA TÉCNICA DE LA VARIEDAD DE MORA SIN ESPINAS. Obtenido de <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4768/1/iniapsc359.pdf>
- Jamieson, D. (1988). Oxidative stress responses of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 14(16): 1511-1527. .
- Kaino, T. (2008). Gene expression profiles and intracellular contents of stress protectants in *Saccharomyces cerevisiae* under ethanol and sorbitol stresses. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79(2): 273-283.
- Kong, J. L. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64: 923–933. . Obtenido de Kong, J. L. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64: 923–933. Obtenido de Analysis and biologichttps://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v24n5/art11.pdf?fbclid
- Mager, W., & Winderickx, J. (2005). Yeast as a model for medical and medicinal, research. *Trends in Pharmaceutical Sciences*, 26(5), 265–273. Obtenido de [https://www.cell.com/trends/pharmaceutical-sciences/fulltext/S0165-6147\(05\)00076-3?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/pharmaceutical-sciences/fulltext/S0165-6147(05)00076-3?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fshowall%3Dtrue)
- Martínez, S. G. (2015). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Obtenido de Martínez, S. G. (2015). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria* 17(6), 271-278. Obtenido de <http://web.udlap.mx/tsia/files/2>
- Montalvo, D. (2010). Evaluación de la calidad poscosecha de las accesiones seleccionadas de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) provenientes de las provincias de Tungurahua y Bolívar . Obtenido de Montalvo, D. (2010). Evaluación de la calidad poscosecha de las accesiones seleccionadas de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) provenienthttp://scielo.senescyt.gob.ec/pdf/enfoqueute/v7n3/1390-6
- Peláez, A. (2016). VALIDACIÓN FUNCIONAL DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS DE CACAO MEDIANTE ENSAYOS IN VIVO CON ORGANISMOS MODELO. Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/75988884.pdf>
- Ramirez, M., Rojas, N., & Correa, L. (2006). Obtención de un colorante natural alimentario de mora de Castilla (*Rubus glaucus* benth). *Ciencia en Desarrollo*, 115-130.
- Shipp, J. (2010). Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients .
- Sortino, S. N. (2016). Efecto de la aplicación de tecnologías emergentes en vegetales. Obtenido de https://digital.cic.gba.gob.ar/bitstream/handle/11746/4641/11746_4641.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Tonon, R. C. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food Research International*, 43 (3): 907-914 . .
- Yashin, A. Y. (2017). Antioxidant Activity of Spices and Their Impact on Human Health: A Review. *Antioxidants* . Obtenido de Yashin, A. Y. (2017). Antioxidant Activity of Spices and Their Impact on Human Health: A Review. *Antioxidant* Obtenido de Antioxidant Activity of Spices and Their Impact on Human Health: A Review. *Antioxidants* (Basel, Switzer
- Zapata. (2014). Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/145/14532635008.pdf>

EVALUACIÓN DE LAS FORMULACIONES DE PELÍCULA COMESTIBLE DE NOSTOC SPHAERICUM APLICADAS A LA CONSERVACIÓN DE FRESAS

EVALUATION OF EDIBLE FILM FORMULATIONS OF NOSTOC SPHAERICUM APPLIED IN THE PRESERVATION OF STRAWBERRIES

Carlos Guillermo Seguil Mirones^{1*}; Zayuri Kantu Mendoza Falcon²; Enzo Martin Casimiro Soriano^{3*}

1* Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional del Centro del Perú.

Av. Mariscal Castilla 3909. Distrito El Tambo, provincia Huancayo, región Junín, Perú. Correo electrónico: cseguil60@yahoo.com

2. Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional del Centro del Perú. Correo electrónico: zayu_11_11@hotmail.com

3* Instituto General de Investigación. Universidad Nacional del Centro del Perú. Correo electrónico: ecasimiroSORIANO@gmail.com

Recibido: 23 de octubre de 2020

Aceptado: 15 de abril de 2021

Abstract

The high perishability rate in strawberries (*Fragaria x ananassa*) complicates their post-harvest storage, creating the need to develop effective means of preservation. The research studied the physicochemical qualities of strawberries coated with edible films based on Nostoc (*Nostoc Sphaericum*). The films were generated by immersing the fruit in solutions of Nostoc polysaccharides at 0,7% (A), 1,0% (B) and 1,3% (C) concentration (p/v). The product was stored for 8 days at room temperature (18 ± 2 ° C), subsequently the quality parameters were measured. The DBCA design was applied with a significance level of 5%. The texture was found to vary directly with the polysaccharide concentration in the coating. The average weight loss for treatments A, B, C and the pattern were 66,92%, 60,92%, 49,06% and 41,72%, respectively. In all cases, a variation of less than 0,3 was observed in the pH scale and greater than 0,3% for acidity, without significant differences. The variation in SST for the treatments was 4,9 (C), 5,2 (A) and 7,4 (B) ° brix. An extension of the useful life of 16% of strawberries up to two

days was determined. It was determined that the application of Nostoc films prolong the useful life of strawberries, highlighting their performance in weight loss and texture compared to the control sample, on the descending scale C> B> A.

Keywords: Edible coating, polysaccharides, Nostoc Sphaericum, strawberry, physicochemical, shelf life

1. Introducción

La fresa (*Fragaria x ananassa*) es una fruta no climatérica muy consumida debido a su sabor y características nutricionales. Se considera una fuente notable de vitaminas (A, B1, B2, B6, C y E), β -carotenos y otros componentes bioactivos como fibra soluble, antioxidantes, polifenoles, flavonoides, antocianinas y taninos (Gol et al., 2013; Luksiene y Buchovec, 2019). Los ácidos predominantes en la fresa son cítrico y málico (Parvez y Wani, 2018).

A pesar de su alto volumen de consumo, la fresa es una fruta muy perecible, con un tiempo de vida post-cosecha de 5 días entre 0-4°C (Parvez y Wani, 2018). El deterioro del fruto se debe a la susceptibilidad al daño mecánico, cortes y aplastamiento (gracias a la cáscara delgada y textura suave), desordenes fisiológicos e infecciones causadas por *Penicillium* sp, *Botrytis cinerea*, *Monilinia* sp, *Rhizopus stolonifer*, *Collectotrichum*, *Mucor*, *Phytophthora*, entre otros (Barrazueta et al., 2018; Li et al., 2017).

Las técnicas usuales para la preservación de fresas incluyen la aplicación de fungicidas, tratamientos de calor, enfriamiento (Luksiene y Buchovec, 2019; Aitboulahsen et al., 2018; Contigiani et al., 2018; Li et al., 2017), deshidratación, empacamiento en atmósfera modificada, tratamiento osmótico, ultrasonido, tratamientos químicos (Martínez et al., 2018), recubrimientos comestibles de polisacáridos (Gol et al., 2013; Guerreiro et al., 2015) y combinaciones, que llegan a alterar atributos como color, textura y olor (Romanazzi et al., 2013).

Los recubrimientos comestibles han cobrado interés debido a su uso

como conservantes naturales, ecoamigables y no tóxicos que mantienen la calidad de la fruta al igual que los métodos de preservación en atmósfera modificada, aunque con menor costo y procesamiento (Ju et al., 2019). Actúan como barreras semipermeables que reducen el intercambio gaseoso (O₂ y CO₂), reducen la velocidad de respiración celular, pérdida de agua por evaporación, pérdida de compuestos volátiles y actúan como barrera física para el acceso a microorganismos perjudiciales (Barrazueta et al., 2018).

El tratamiento se consigue agregando una capa delgada sobre la superficie del fruto hecha de material comestible basado en polisacáridos, lípidos, proteínas o sus combinaciones (Aitboulahsen et al., 2018; Martínez et al., 2018; Guerreiro et al., 2015). Se suelen incluir antibióticos y antioxidantes en las matrices poliméricas de quitosano (Luksiene y Buchovec, 2019; Pagliarulo et al., 2016; Perdonnes et al., 2012), almidón (Campos et al., 2011), metilcelulosa (Nadim et al., 2015) y similares (Li et al., 2017).

El nostoc común (*Nostoc sphaericum*) es una especie de cianobacteria de la familia Nostoceae, es consumida en Asia y Sudamérica. Crece regularmente en colonias de 10 a 25 mm de diámetros situadas en humedales andinos, lagos y lagunas sobre los 3000 msnm en Ecuador, Bolivia, Perú y el norte de Chile (Ponce, 2014). Posee elevado contenido de proteínas, aminoácidos, vitaminas, minerales, ácidos grasos poliinsaturados y pigmentos como clorofila, ficocianina y escitonemina que le brindan resistencia UV y antioxidante (Galetovic et al., 2017). Debido a su contenido de criptoficina, heteroglicanos, antioxidantes polifenólicos, se ha demostrado.

su capacidad antiinflamatoria, anti-biótica (Liao et al., 2015), conservante y anticancerígena (Li y Guo, 2018; Shen et al., 2018). La caracterización de películas de Nostoc demostró la existencia de α -D-glucopiranososa, β -D-xilopiranososa, β -D-ribopiranososa, arabinosa y derivados en las paredes celulares (Rodríguez et al., 2017).

su capacidad antiinflamatoria, anti-biótica (Liao et al., 2015), conservante y anticancerígena (Li y Guo, 2018; Shen et al., 2018). La caracterización de películas de Nostoc demostró la existencia de α -D-glucopiranososa, β -D-xilopiranososa, β -D-ribopiranososa, arabinosa y derivados en las paredes celulares (Rodríguez et al., 2017).

2. Materiales y Métodos.

2.1. Lugar de Ejecución

La preparación de soluciones de cobertura de Nostoc, recubrimiento y almacenamiento de las muestras de fresas recubiertas se realizó en el Laboratorio de Química de Alimentos de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional del Centro del Perú, ubicada en la ciudad de Huancayo, región Junín del Perú (3259 msnm, temperatura 5 - 20°C y 0% de humedad relativa).

2.2. Materiales y preparación de muestras.

Se utilizaron muestras de nostoc (*Nostoc sphaericum*) procedentes del distrito de Cullhuas, provincia de Huancayo, región Junín (3688 msnm, temperatura de 5 - 13 °C y 0% de humedad relativa). Las muestras de cianobacteria se seleccionaron, lavaron con agua, desinfectaron a 60 ppm y se almacenaron a 0 - 3 °C. Posteriormente, se extrajeron y purificaron los polisacáridos aplicando el método

modificado descrito por Jurado et al. (2014), se secaron en estufa a 60 °C, fueron molidos, tamizados y almacenados en desecador para emplearse como materia prima.

Las fresas (*Fragaria x ananassa*) fueron compradas en el mercado local, provenientes del distrito de Huaral, región Lima (186 msnm, temperatura ambiental 13-20°C y 55% de humedad relativa), seleccionadas bajo criterios de madurez, tamaño, libres de infestación y defectos físicos, luego fueron lavadas, desinfectadas y secadas a temperatura ambiente. Las muestras de fresas no tuvieron más de 2 días de almacenamiento post-cosecha antes de su adquisición.

2.3. Aplicación de Películas.

Las soluciones de nostoc se prepararon disolviendo totalmente las muestras secas de cianobacteria en agua a 40°C, luego se adicionaron cantidades proporcionales de glicerol (15,0 % m/v) como plastificante y conservante sorbato de potasio (0,1 % m/v). Las soluciones finales de polisacárido tuvieron concentraciones de 0,7 % (tratamiento A), 1,0 % (Tratamiento B) y 1,3 % (Tratamiento C) en m/v. Las mezclas coloidales para tratamiento se homogenizaron y dejaron reposar por un minuto para su uso.

Los recubrimientos se aplicaron utilizando el método de inmersión descrito por Djioua et al. (2010), se dejó drenar la solución sobrante en cada fruto para homogenizar el espesor de las capas y se secaron las películas por aire frío. Las fresas recubiertas se almacenaron por 8 días a temperatura ambiente (18 ± 2 °C), aisladas del contacto con insectos, ambiente seco y la luz del sol. Las muestras se separaron en dos grupos generales: fresas con

recubrimiento y fresas sin recubrimiento (control). El estado de conservación y cualidades de las fresas se revisaron diariamente.

2.4. Evaluación mecánica y fisicoquímica de fresa recubierta.

En todas las muestras se realizaron los análisis mecánicos y fisicoquímicos por triplicado, empleando el diseño estadístico de bloques completamente al azar (DBCA) con un análisis de varianza (ANOVA) de confiabilidad alta ($\alpha = 5\%$). Para los análisis se tomaron al azar 5 muestras de fresas recubiertas por cada tratamiento y de control seleccionadas al azar. La evaluación se realizó cada 24 h después de haberse aplicado el recubrimiento, durante 8 días seguidos. Para el análisis estadístico, procesamiento de datos, organización, gráficos y varianza se utilizó el software Statistical MINITAB 18.

Textura. Se midió por presión ecuatorial sobre el fruto utilizando un penetrómetro analógico para frutas con soporte de capacidad máxima de 1 Kg, punta de 6 mm de diámetro y se expresaron los resultados en kg/cm².

Pérdida de peso. Se evaluó por el método gravimétrico (pesado directo), utilizando una balanza analítica Adventurer OHAUS Modelo AR3130 Blanco cada 24 horas.

pH y acidez. Las muestras seleccionadas al azar se molieron con una licuadora, se filtraron con gaza y se midieron los parámetros en el jugo del fruto. El pH se determinó directamente con un potenciómetro marca Hanna Instruments calibrado, de acuerdo a lo descrito por Maraie y Elsayy (2017). La acidez se determinó por titulación de 10 mL de jugo claro del fruto diluido en 100 mL de agua desionizada con NaOH 0,1 N previamente.

estandarizada (AOAC, 1995). Los resultados se expresaron en % ácido cítrico.

Sólidos solubles totales. Este parámetro fue determinado mediante el método refractométrico a través de la lectura en un refractómetro de (0 – 32 °Brix) de acuerdo a lo descrito por Ozkurt y Altuntas (2018).

Tiempo de vida útil. Se realizó inspección visual cada 24 horas para cada fresa, identificando la presencia de hongos, levaduras o ataques patógenos de *Penicillium* sp, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* y similares.

3. Resultados y discusión.

3.1. Textura

En la figura 1 se muestra la tendencia de progresiva disminución en la firmeza de las fresas durante los 8 días de almacenamiento. El análisis ANOVA indicó ausencia de diferencias significativas entre todos los tratamientos. La media mayor correspondió al tratamiento C en el recubrimiento comestible y la menor media corresponde a la muestra control para el total de días almacenados. El tratamiento A aplicado en el pericarpio de la mostró una mejor textura durante los días 6, 7 y 8 de almacenamiento. El control sufrió las mayores pérdidas de textura, especialmente durante los días 3 y 4 de experimentación.

La textura en fresas disminuye con el tiempo de almacenamiento a pesar del uso de recubrimientos, esto se debe al propio proceso de descomposición interno del fruto (enzimas proteolíticas, respiración celular y evaporación) y por efecto de organismos (hongos y bacterias) en la superficie del fruto (Restrepo y Aristizábal, 2010). A pesar de ello, los frutos con recubrimientos poseen una textura más firme durante mayor tiempo,

a diferencia de la muestra control e independientemente de la temperatura.

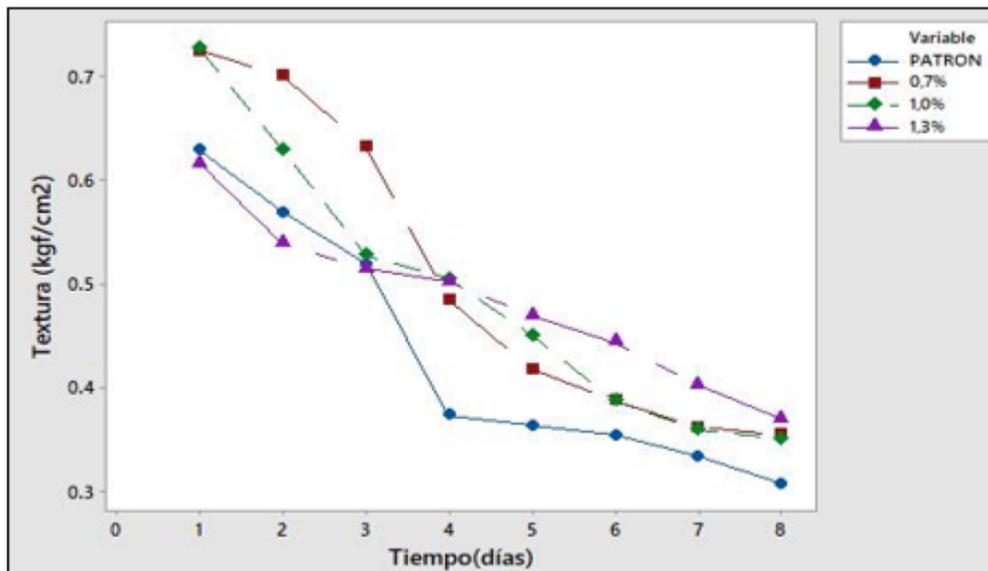


Figura 1. Pérdida de firmeza en fresas para los tratamientos de recubrimiento A(1,3%), B(1,0%), C(0,7%) y el control, durante 8 días de almacenamiento.

La textura en fresas disminuye con el tiempo de almacenamiento a pesar del uso de recubrimientos, esto se debe al propio proceso de descomposición interno del fruto (enzimas proteolíticas, respiración celular y evaporación) y por efecto de organismos (hongos y bacterias) en la superficie del fruto (Restrepo y Aristizábal, 2010). A pesar de ello, los frutos con recubrimientos poseen una textura más firme durante mayor tiempo, a diferencia de la muestra control e independientemente de la temperatura.

Las películas de polisacáridos en el nostoc, formados por unidades de glucosa, galactosa, xilosa y ácidos urónicos (Liao et al., 2015), demuestran su eficacia como recubrimiento en fresas, similar a lo descrito para quitosano, proteína de soya y almidón de yuca (Saavedra, 2010). En estos casos, se ha demostrado que los polisacáridos y proteínas.

son capaces de formar una cubierta estructural fuerte (Barrazueta et al., 2018), con cadenas moleculares de gran peso molecular, atraídas por fuerzas intermoleculares de origen polar que le brindan resistencia mecánica (Rodríguez et al., 2017). Debido a que la cubierta de nostoc también contiene antioxidantes, puede actuar como barrera química para la luz y acción de agentes descomponedores (Shen et al., 2018).

3.2. Pérdida de peso.

En la figura 2 se aprecia que durante los 8 días de almacenamiento, existió una tendencia lineal para la pérdida de peso en todos los tratamientos y la muestra control. Las pérdidas en masa de fruto fueron casi constantes durante el periodo de estudio. Se obtuvieron diferencias significativas para los tratamientos A, B, C y el control con pérdidas de $66,92 \pm 12,25\%$, $60,92 \pm 10,36\%$, $49,06 \pm 13,04\%$

y $41,72 \pm 19,13\%$, respectivamente. Los resultados indicaron que la pérdida de masa fue inversamente proporcional a la concentración de polisacáridos en el recubrimiento del fruto. En general, durante los 8 días de experimentación, la conservación en

masa fue superior para el tratamiento A y el menor para la muestra de control. Durante los días 5, 6, 7 y 8 no existió variación significativa en la masa de fresa para la muestra control, llegando a superar poco significativamente la masa del tratamiento C al final de la experimentación,

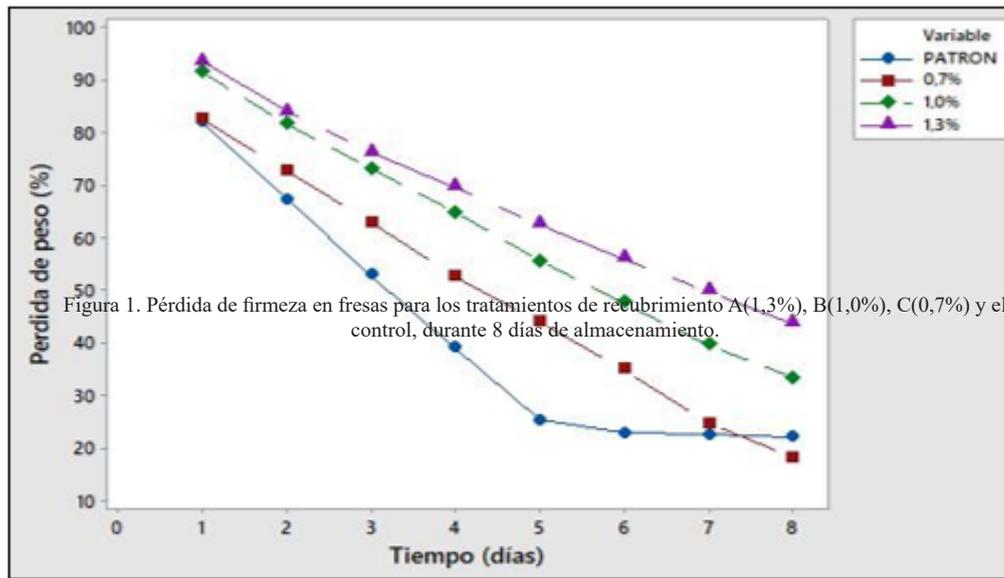


Figura 2. Pérdida de peso en fresas para los tratamientos de recubrimiento A, B, C y el control, durante 8 días de almacenamiento.

Por otra parte, la pérdida de peso registrada durante la experimentación se originó principalmente por evaporación, puesto que la fresa posee una velocidad de transpiración elevada y pericarpio delgado que no funcionan como barrera efectiva para evitar la pérdida de agua libre del fruto. La pérdida superior al 60% de masa tras el recubrimiento se asemeja a lo obtenido por Saavedra (2010) y Restrepo y Aristizábal (2010) que emplearon proteína aislada de soya y la cera de carnauba, respectivamente, para proteger fresas. En la misma línea, Tavares et al. (2019) determinó, para cubiertas de quitosano, que la pérdida de agua se reduce con el incremento

en el contenido de polisacáridos de la cobertura, debido al entrapamiento en las redes poliméricas por su naturaleza polar que puede extrapolarse a la cobertura de nostoc empleada.

3.3. pH

En todos los casos se observó una variación inferior a 0,3 en la escala de pH durante todo el periodo de estudio, como se observa en la figura 3. A partir del tercer día, se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos y el control fue más notables, aunque no siguieron una tendencia homogénea. Incluso la muestra control tendió se acidificó después del día 5 contrario al comportamiento del resto de,

tratamientos que incrementaron su pH con el paso de los días.

Al final de los días analizados, la variación en el pH fue mayor en los tratamientos B y C con incremento de

pH aproximado de 0,3 unidades. El menor incremento se dio en el tratamiento A, con $0,11 \pm 0,03$ unidades. La muestra control incrementó su pH en 0,1 unidades al día 5 y descendió 0,11 unidades hasta el día 8.

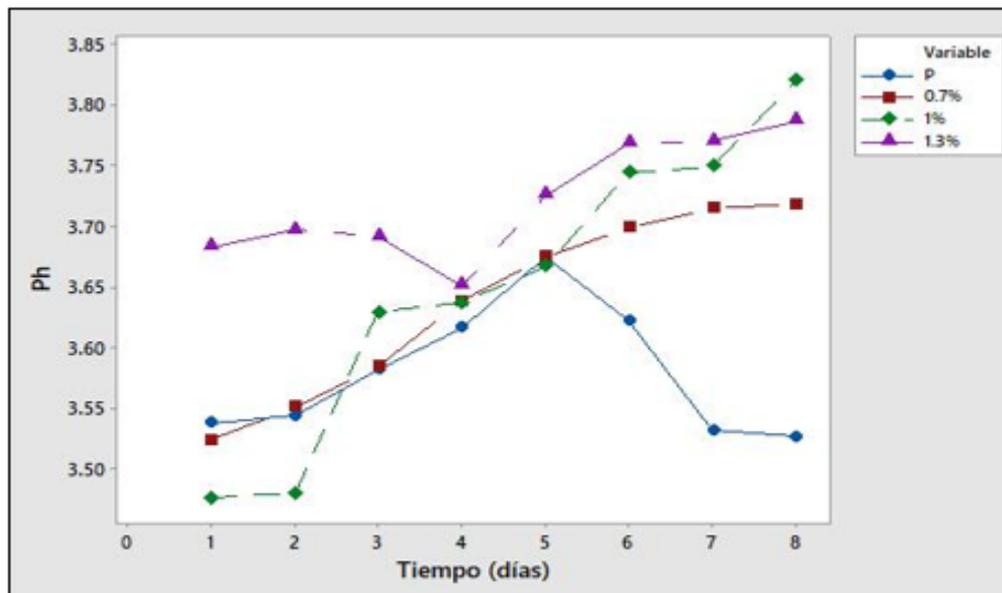


Figura 3. Variación de PH en fresas para los tratamientos de recubrimiento A, B, C y el control, durante 8 días de almacenamiento.

El pH es uno de los parámetros que presenta menor variación durante el periodo de poscosecha de la fresa. Diversos estudios muestran poco o ningún cambio con el tiempo, incluso con la modificación de factores externos (García et al., 1998). La basificación encontrada proviene de la transformación del CO₂ (resultado de la respiración celular) en ácido carbónico y posterior disociación en el agua libre del fruto, liberando protones. Debido al efecto homeostático de las células, se impide el ingreso de los protones al citoplasma a través de intercambio catiónico y empleo de sistemas amortiguadores de ácido cítrico, con el correspondiente gasto de energía (Mejía et al., 2004). La formación de iones bicarbonato le confiere la basicidad encontrada

durante el almacenamiento. Sin embargo, como se observó en la muestra control, esta capacidad de amortiguamiento finaliza cuando no la célula no posee energía suficiente o la descomposición se acelera, favoreciendo la despolimerización y plegando las paredes celulares, provocando que el pH disminuya drásticamente.

3.4. Acidez

Para las diferentes concentraciones en la formulación de recubrimientos no se encontraron diferencias significativas en la acidez, como se muestra en la figura 4. Los resultados indican una tendencia descendente durante el almacenamiento, con una variación superior del 0,30% para todos los tratamientos. La menor

fluctuación detectada se dio para A con la media $0,37 \pm 0,06\%$. La muestra control mostró una variación significativa en el contenido de acidez a partir del día 4, en concordancia con lo determinado en la

medición de pH, originada por la ausencia de preservación, heterogeneidad de tamaños y diferencia en el contenido nutrimental. En todos los casos, el balance general muestra una tendencia a la basicidad en los frutos.

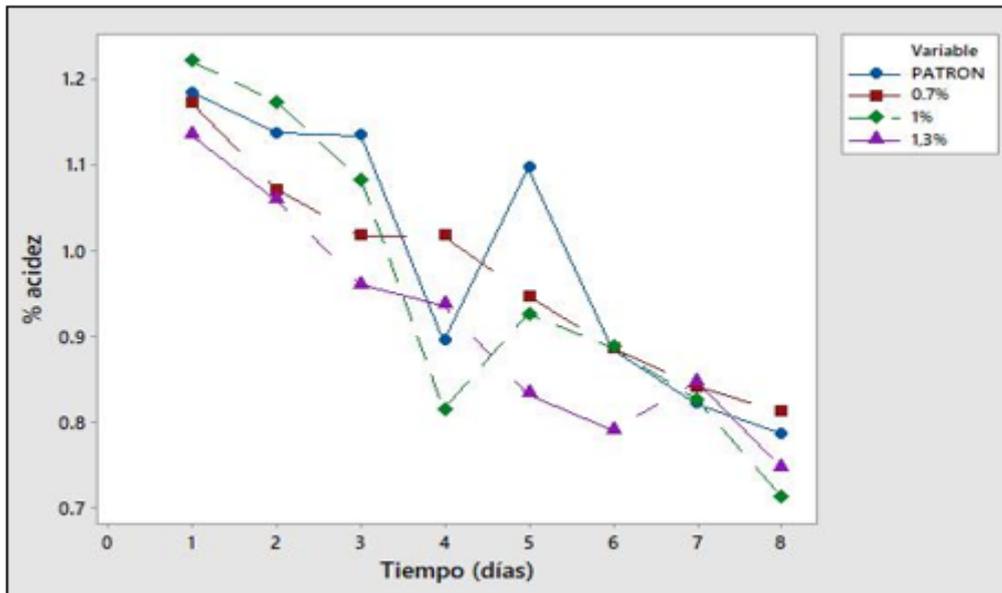


Figura 4. Variación de % acidez en fresas para los tratamientos de recubrimiento A, B, C y el control, durante 8 días de almacenamiento.

El mismo concepto se aplica para el decrecimiento de la acidez en el almacenamiento, de acuerdo a lo reportado por Restrepo y Aristizábal (2010) para recubrimiento polimérico de quitosano en fresas, con un aumento significativo a partir del día 5. Asimismo, si bien se trabajó a temperatura ambiente (18°C), Saavedra (2010) y Barrazueta et al. (2018) reportan su influencia no significativa en el % de acidez en fresas frescas a una temperatura de $13\text{-}15^{\circ}\text{C}$. Esto indica que la técnica de recubrimiento puede ser eficaz en un rango de temperaturas determinado, prescindiendo del congelamiento como técnica usual de transporte y almacenamiento. En este aspecto se debe mencionar la influencia del ácido cítrico como conservante interno del fruto,

constituyendo hasta el 60% del total de ácidos presentes en la fresa, cuya concentración puede ser muy variable en dependencia del suelo de cultivo (Milosevic et al., 2009). Es probable que el contenido inicial de ácido cítrico haya sido variable para las muestras utilizadas, por lo que la notable heterogeneidad del % de acidez en el periodo de estudio se deba a este factor.

3.5 Sólidos Solubles Totales.

Del análisis ANOVA se determinaron diferencias estadísticas significativas para los tres tratamientos, como se muestra en la figura 5. El contenido de SST siguió una tendencia al incremento con el paso de los días, en un rango de $5\text{-}8^{\circ}\text{brix}$. La menor variación en SST se encontró en el tratamiento

C en $4,9 \pm 0,9^\circ\text{brix}$, seguido de A con $5,2 \pm 1,1^\circ\text{brix}$ y B con $7,4 \pm 2,1^\circ\text{brix}$. El incremento en este parámetro se debió a la oxidación de azúcares y polisacáridos en el interior del fruto. En el caso de la muestra control, si bien

la variación general fue de $3,6^\circ\text{brix}$ hasta el final del estudio, a partir del día 5 no se registró incremento notable en el contenido de sólidos debido al estado de pudrimiento, así como el consumo de nutrientes, azúcares y fibra del fruto por acción de microorganismos.

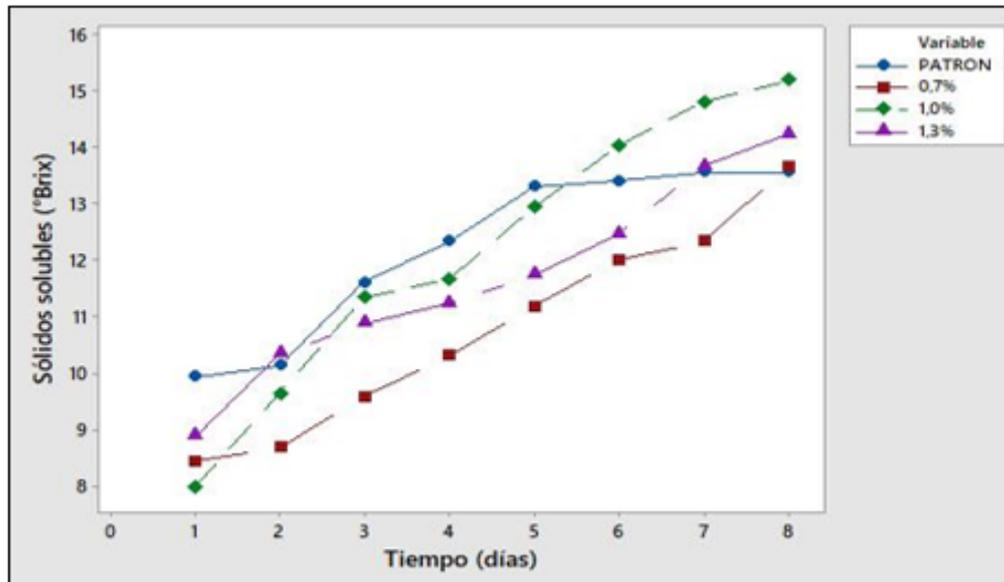


Figura 5. Variación de SST en fresas para los tratamientos de recubrimiento A, B, C y el control, durante 8 días de almacenamiento.

El incremento en la concentración de sólidos solubles totales se debe al efecto sinérgico de la evaporación del agua y la hidrólisis de azúcares, proteínas y componentes solubles de la pared celular vegetal. La liberación de sustratos al interior de la fruta incrementó su concentración y la posterior lectura del $^\circ\text{brix}$. Los resultados obtenidos muestran similitud con lo encontrado por Tavares (2019) en quitosano, determinando que el recubrimiento tiene un efecto permeable sobre el agua, incluso sin diferencias significativas para distintas concentraciones de polímero en la superficie. Debido a que no se consideraron otros factores de conservación, como la temperatura, y no existen evidencias de la aplicación de

nostoc como recubrimiento en fresas, no fue posible diferenciar el impacto efectivo del recubrimiento entre tratamientos. Restrepo y Aristizábal (2010) indicaron mejores resultados tras la aplicación adicional de refrigeración. en SST se encontró en el tratamiento.

3.6. Vida Útil.

En la figura 6 se observa que, en todos los casos estudiados, la presencia de hongos se incrementó con el paso de los días. Se obtuvieron diferencias significativas entre las muestras con recubrimiento y la muestra control, siendo el incremento en el porcentaje de frutos dañados en 84,15%, 75,12%, 70,62% y 68,25% para el control y los tratamientos A, B y C, respectivamente.

La relación indica que, conforme aumenta la concentración de polisacárido en la película aplicada, el porcentaje de infestación por hongos disminuye.

La vida útil del 50% de las fresas se determinó en diferentes periodos de

tiempo, mientras que la muestra control mostró infestación entre los días 3 y 4, las fresas recubiertas a partir del día 6. Además, no se encontraron diferencias notables al final del periodo de estudio para los tratamientos B y C.

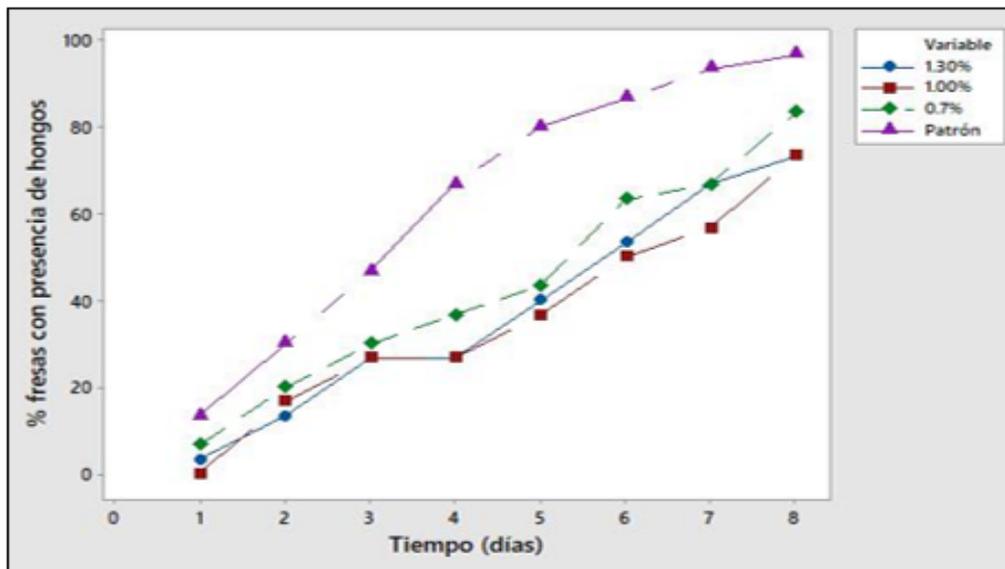


Figura 6. Porcentaje de presencia de hongos en fresas para los tratamientos de recubrimiento A, B, C y el control, durante 8 días de almacenamiento.

El principal hongo identificado en las fresas dañadas fue *Botrytis cinerea*, igual a lo reportado por Saavedra (2010), para recubrimiento de fresas con polisacáridos de yuca (*Manihot esculenta*). Sin embargo, los resultados del presente estudio fueron más eficientes ya que para el día 7 todavía se contaba con el 40% de las muestras aun en buen estado, ello se puede deber a las diferencias de la composición del recubrimiento, temperatura de almacenamiento y factores intrínsecos del fruto (Miramont, 2012). Los resultados indican que el tiempo de vida útil de los frutos se extiende cuando la concentración de la solución de cobertura es mayor. Siendo que el color, firmeza, sabor, valor nutritivo y seguridad del fruto

se relacionan con su composición al momento de la cosecha y los cambios que le suceden durante la manipulación post-cosecha, es probable que el decaimiento de la vida útil se haya gestado incluso antes de la experimentación (Parvez y Wani, 2018).

4. Conclusiones.

La aplicación de las películas a base de polisacáridos de *Nostoc sphaericum* evidencian buen desempeño como recubrimientos comestibles para la conservación de fresas a temperatura $18 \pm 2^\circ\text{C}$, resaltando un desempeño general significativo en el mantenimiento de propiedades mecánicas y fisicoquímica frente a las muestras control, directamente relacionadas con la concentración de la solución de recubrimiento.

Se determinó que la textura y pérdida de peso se conservan mejor con un recubrimiento de concentración 1,3% de polisacárido de nostoc, seguido de las concentraciones 1,0% (ligeramente significativo) y 0,7%. Esto se debe al impedimento del ingreso de microorganismos y evapotranspiración al interior del fruto. Asimismo el recubrimiento reduce significativamente el incremento del pH al interior de los frutos y contribuye a reducir la acidificación al actuar como medio de aislamiento al exterior. El principal agente de degradación fue el hongo *Botrytis cinérea* y la aplicación de películas como método de conservación demostró la extensión de más de 2 días en la vida útil del fruto y aumento del tiempo de vida medio mayor al 20%.

5. Referencias bibliográficas

- Aitboulahsen, M., Zantar, S., Laglaoui, A., Chairi, H., Arakrak, A., Bakkali, M., y Hassani Zerrouk, M. (2018). Gelatin-based edible coating combined with *Mentha pulegium* essential oil as bioactive packaging for strawberries. *Journal of food quality*, 2018(1), 1-7. Aguilera, M., & Reza, M. (2011). Propiedades funcionales de las Antocianinas. Obtenido de <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/81>
- AOAC (1995). *Official Methods of analysis* (16th edition), Washington, Estados Unidos: Association of Official Analytical Chemists International.
- Barrazueta-Rojas, S., Falconí, J., Navarro-Ojeda, M., Oleas-López, J., y Mendoza-Zurita, G. (2018). Pysicochemical properties and application of edible coatings in strawberry (*Fragaria x Ananassa*) preservation. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 71(3), 8631-8641.
- Campos, R., Kwiatkowski, A., y Clemente, E. (2011). Post-harvest conservation of organic strawberries coated with cassava starch and chitosan. *Revista Ceres*, 58(5), 554-560.
- Contigiani, E., Jaramillo-Sánchez, G., Castro, M., Gómez, P., y Alzamora, S. (2018). Postharvest quality of strawberry fruit (*Fragaria x Ananassa Duch cv. Albion*) as affected by ozone washing: fungal spoilage, mechanical properties, and structure. *Food and Bioprocess Technology*, 11(9), 1639-1650.
- Galetovic, A., E Araya, J., y Gómez-Silva, B. (2017). Composición bioquímica y toxicidad de colonias comestibles de la cianobacteria andina *Nostoc sp. Llayta*. *Revista chilena de nutrición*, 44(4), 360-370.
- García, J., Medina, R. y Olías, J. (1998). Quality of strawberry automatically packed in different plastic films. *Journal of Food Science*. 63(1): 1037-1041.
- Gol, N., Patel, P., y Rao, T. (2013). Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. *Postharvest Biology and Technology*, 85(1), 185-195.
- Guerreiro, A., Gago, C., Faleiro, M., Miguel, M., y Antunes, M. (2015). The use of polysaccharide-based edible coatings enriched with essential oils to improve shelf-life of strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 110(1), 51-60.
- Ju, J., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., y Yao, W. (2019). Application of edible coating with essential oil in food preservation. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(15), 2467-2480.
- Jurado, T., Fuertes, R., Tomas, G., Ramos, E., Arroyo, A., Cáceres, P., y Cárdenas, M. (2014). Estudio fisicoquímico, microbiológico y toxicológico de los polisacáridos del *Nostoc commune* y *Nostoc sphaericum*. *Rev. Peruana de Química e Ingeniería Química*, 17(1), 15-22.
- Li, L., Sun, J., Gao, H., Shen, Y., Li, C., Yi, P., y Liu, G. (2017). Effects of polysaccharide-based edible coatings on quality and antioxidant enzyme system of strawberry during cold storage. *International Journal of Polymer Science*, 2017(1), 1-9.
- Li, Z., y Guo, M. (2018). Healthy efficacy of *Nostoc commune* Vaucher. *Oncotarget*, 9(18), 14669.
- Liao, H., Wu, T., Tai, J., Chi, M., y Lin, L. (2015). Immunomodulatory potential of the polysaccharide-rich extract from edible cyanobacterium *Nostoc commune*. *Medical Sciences*, 3(4), 112-123.

- Luksiene, Z., y Buchovec, I. (2019). Impact of chlorophyllin-chitosan coating and visible light on the microbial contamination, shelf life, nutritional and visual quality of strawberries. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 52 (1), 463-472.
- Maraci, R., y Elsayy, K. (2017). Chemical quality and nutrient composition of strawberry fruits treated by g-irradiation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 30(1), 1-8.
- Martínez, K., Ortiz, M., Albis, A., Gutiérrez, C., Valencia, M., y Grande, C. (2018). The effect of edible chitosan coatings incorporated with *Thymus capitatus* essential oil on the shelf-life of strawberry (*Fragaria x ananassa*) during cold storage. *Biomolecules*, 8(4), 155.
- Mejía, L., Alzamora, S., Guerrero, S., Nieto, A., y Vidales, S. (2004). Conservación de frutas y hortalizas mediante tecnologías combinadas. Manual de capacitación de la División AGS de FAO. Roma, Italia: Servicio de Tecnologías de Ingeniería Agrícola y Alimentaria (AGST).
- Milosevic, T., Milosevic, N., y Glisic, I. (2009). Strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch.) yield affected by the soil pH. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 81(2), 265-269.
- Miramont, S. (2012). Recubrimientos elaborados a partir de biopolímeros para el soporte de sustancias con actividad antimicrobiana: carvacrol y sorbatos (tesis de maestría). Universidad Tecnológica Nacional, Buenos Aires, Argentina.
- Nadim, Z., Ahmadi, E., Sarikhani, H., y Amiri, R. (2015). Effect of methylcellulose-based edible coating on strawberry fruit's quality maintenance during storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(1), 80-90.
- Ozkurt, H., & Altuntas, O. (2018). Quality Parameter Levels of Strawberry Fruit in Response to Different Sound Waves at 1000 Hz with Different dB Values (95, 100, 105 dB). *Agronomy*, 8(7), 127.
- Pagliarulo, C., Sansone, F., Moccia, S., Russo, G. L., Aquino, R. P., Salvatore, P., y Volpe, M. G. (2016). Preservation of strawberries with an antifungal edible coating using peony extracts in chitosan. *Food and Bioprocess Technology*, 9(11), 1951-1960.
- Parvez, S., y Wani, I. (2018). Postharvest biology and technology of strawberry. *Postharvest Biology and Technology of Temperate Fruits*, Washington DC, Estados Unidos: Springer, Cham. 331-348
- Perdones, A., Sánchez-González, L., Chiralt, A., y Vargas, M. (2012). Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest biology and technology*, 70(1), 32-41.
- Ponce, E. (2014). Nostoc: un alimento diferente y su presencia en la precordillera de Arica. *Idesia (Arica)*, 32(2), 119-121.
- Restrepo, J., y Aristizabal, T. (2010). Conservación de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch cv. Camarosa) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel de mucilaginoso, de penca sábila (*Aloe barbadensis* Miller) y cera de carnauba. *Vitae*, 17(1), 252-263.
- Rodríguez, S., Torres, F., y López, D. (2017). Preparation and characterization of polysaccharide films from the cyanobacteria *Nostoc commune*. *Polymers from Renewable Resources*, 8(4), 133-150.
- Romanazzi, G., Feliziani, E., Santini, M., y Landi, L. (2013). Effectiveness of postharvest treatment with chitosan and other resistance inducers in the control of storage decay of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 75(1), 24-27.
- Saavedra, H. (2010). Evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas.

NOVA - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas, 8(14), 121 - 240.

Shen, S., Jia, S., Wu, Y., Yan, R., Lin, Y., Zhao, D., y Han, P. (2018). Effect of culture conditions on the physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from *Nostoc flagelliforme*. *Carbohydrate polymers*, 198(1), 426-433.

Tavares, T., Alvarenga, R., De Rezende, Q., Patto, D., De Oliveira A., y De Oliveira J. (2019). Chitosan coatings in the maintenance of strawberry quality during refrigerated storage. Brazil. *Brazilian Journal of Development*, 5(6), 5434-5448.

VOLATILIDAD SIMÉTRICA O ASIMÉTRICA EN LA PAPA DEL ECUADOR

Carlos Guillermo Seguil Mirones^{1*}; Zayuri Kantu Mendoza Falcon²; Enzo Andrés Renato, Jácome Gagñay *
Byron Rodrigo, Lozada Cherrez

*Autor de correspondencia: arjacome@uta.edu.ec; renjacome@hotmail.com

Recibido: 14 de septiembre de 2020

Aceptado: 19 de marzo de 2021

Abstract

The potato is an agricultural product produced in the Ecuadorian mountain, the producers decide to harvest due to the benefits of the last period. The prices received for the harvest fluctuates constantly, this fact brings an interest to analyze producer prices in in Ecuador. The objective of study is validated the presence of potato price volatility in a symmetric or asymmetric way. The analysis period is since january 2013 and september 2019, the methodology uses volatility models ARCH, GARCH and EGARCH (symmetric and asymmetric models). The results present an asymmetric behavior of price volatility for potatoes. The effect damages the potato market and brings facts to analyze solutions to get a profit activity for producers in the long run.

Keywords: Producer, assymetry, ARCH, GARCH, EGARCH.

1. Introducción

La papa es un importante alimento en la dieta de los ecuatorianos para la provisión y preparación de muchos platos de la gastronomía ecuatoriana (MAG, 2018), la papa es considerada la guarnición que acompaña a la proteína de los platos típicos en el país. En el Ecuador, la mayor variedad de papa que se produce y consume la población es la superchola (MAG, 2020), la variedad es ideal para la preparación de sopas, pure fritas, asadas u hornadas.

La figura 1 muestra los precios de papa a nivel productor en el Ecuador, la serie de precios muestra un comportamiento volátil para el periodo analizado (enero 2013 a septiembre 2019). El precio mínimo pagado al productor es de 0.16 USD/Kg. en abril del 2013 y un precio máximo de 0.51 USD/Kg. en octubre 2014, se tienen un precio promedio de 0.33 USD/Kg. y una desviación estándar de 0.08 USD/Kg. (MAG, 2019)..

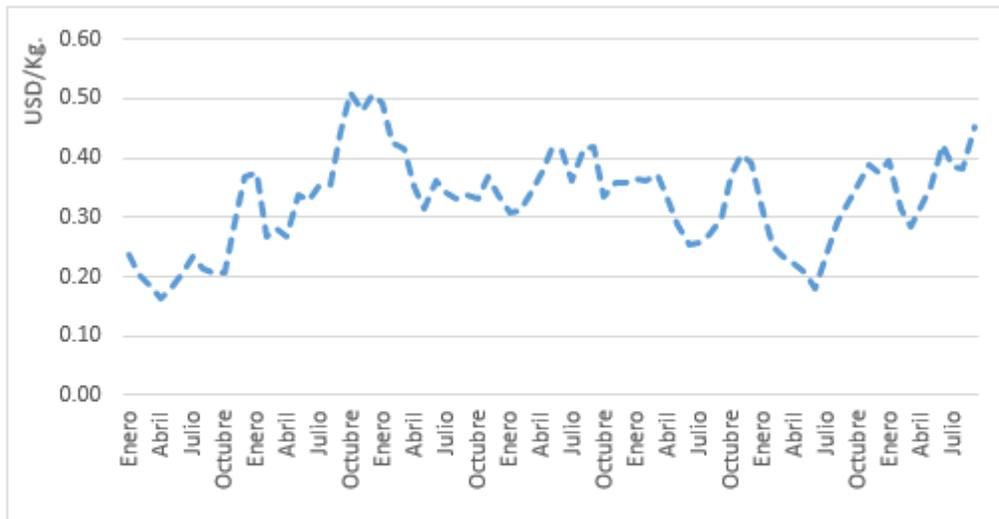


Figura 1.- Precios de papa (superchola) en el Ecuador. (enero 2013 – septiembre 2019)

Fuente: Ministerio de Agricultura del Ecuador

En el análisis de la serie histórica (precios de la papa) se observa fluctuaciones en todos los años. La serie presenta un comportamiento volátil en el precio pagado al productor. Este hecho genera incertidumbre en el productor al no conocer con certeza el precio a recibir al momento de comercializar la cosecha, esto afecta los beneficios del cultivo y las decisiones de seguir produciendo. Los productores de papa en innumerables ocasiones han manifestado que el precio recibido (bajo) por su cosecha no permite obtener ganancias en el corto plazo (BCE, 2016, 2019).

Una razón que argumentan es que los intermediarios/comerciantes pagan un precio muy inferior al de los costos de producción (BCE, 2015, 2017a). Otra razón se debe al ingreso de papa (contrabando) desde la frontera sur (Perú) y norte (Colombia) de manera informal (BCE, 2016, 2017b, 2019), este hecho es un factor externo y relevante que perjudica enormemente el mercado y específicamente el precio del cultivo. Debido a la presencia de estos determinantes se ha generado huelgas del sector productor de la papa en diferentes

zonas del país, los mismos que solicitaron regulaciones e intervenciones de las entidades públicas del Ecuador para regular el precio y el contrabando.

El precio de un bien fluctúa (alza o la baja) en el tiempo, a la variación de precios en un mercado se la denomina volatilidad (CEPAL, 2011). Factores que influyen en la volatilidad de los mercados agrícolas pueden ser de carácter técnico, económico o climáticos como: inventarios de commodities, incrementos de la demanda en países en desarrollo, tasas de interés, tamaño de la población (mercado), liberalización de mercados, uso de instrumentos financieros, especulación, baja oferta agrícola y producción de biocombustibles (Baffes & Haniotis, 2016; Dewbre, 2008; Gevorkyan, 2017; McCalla, 2009; Ott, 2014; Pinstrup-andersen, 2013; Tadesse & Guttormsen, 2011; Tangermann, 2008; Voituriez, 2001). En los mercados agrícolas, este riesgo (volatilidad) se hace presente con mucha frecuencia, Gilbert & Morgan (2010) sintetiza que la volatilidad en el sector agrícola ha ido en aumento (en especial el sector de granos) a finales del 2009, para luego estabilizarse en los próximos años.

Dentro de la modelación econométrica para estudiar la volatilidad de precios se tienen la familia de los modelos ARCH, modelos simétricos como el ARCH y GARCH desarrollados por (Bollerslev (1986) y Engle (1982) tienen como principal supuesto que las innovaciones positivas y negativas afectan de la misma manera a la volatilidad. Las series financieras no siempre presentan esa cualidad. Por lo tanto, la existencia de modelos asimétricos capturan el verdadero efecto de las variaciones positivas y negativas (una afecta más que la otra), un modelo

asimétrico propuesto es el EGARCH desarrollado por Nelson (1991), este modelo estima el logaritmo de la varianza de la serie temporal.

Kilima, Chung, Kenkel, & Mbiha (2008) investigaron sobre el efecto de las reformas en el mercado del maíz en Tanzania, los resultados del modelo ARCH indican que las reformas aumentaron la volatilidad en el sector (precios al por mayor). Maître d'Hôtel & Le Cotty (2018) analizaron la volatilidad del precio del maíz en Burkina Faso, el modelo ARCH estimado muestra que parte de la volatilidad es explicada por el nivel de inventarios y la poca información que posee los productores rurales.

Bolotova, McIntosh, Patterson, & Muthusamy (2010) estimaron un modelo ARCH y GARCH para la papa en Russet Burbank (Idaho - USA), los hallazgos demuestran la presencia de la volatilidad en ese mercado y la reducción de la volatilidad cuando las organizaciones venden directamente la papa en los. En el Ecuador, Jácome & Garrido (2017) verificaron la presencia de niveles de volatilidad (moderada y alta) de precios en el mercado de cacao para las variedades Fino de Aroma y CCN-51. Con referente a la papa, Ezeta (2008) menciona que causas de la volatilidad en el mercado de la papa se deben principalmente a la perecibilidad del cultivo, estacionalidad de la producción y a la escasa posibilidad de almacenar el producto.

Ante los elementos descritos anteriormente, es de vital importancia realizar investigaciones que colaboren a determinar la presencia de este riesgo de mercado (volatilidad) en el sector productor agrícola. Esta investigación tiene como objetivo identificar la presencia de la volatilidad simétrica

o asimétrica de precios que experimenta el productor de papa en el Ecuador.

2. Materiales y Métodos

Los datos (precios) para la realización de este estudio son obtenidos del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Ecuador. La forma en cómo se comercializa los bienes agrícolas es por libra, unidad o quintales (de 100 libras) en el país. Para el caso de la papa, los datos originales vienen expresado en dólares por quintal (100 libras). Por lo tanto, los precios han sido transformado acorde a la unidad internacional de medida (libras a Kilogramos). Una vez realizada la conversión, se tomó el logaritmo natural a la serie para poder obtener los retornos de los precios, se utilizó la siguiente formula:

$$R_t = \log(P_t) - \log(P_{t-1}) \quad (1)$$

Donde R_t es el retorno de los precios, P_t es el precio por Kilogramo en el tiempo t y P_{t-1} es el precio con un rezago de tiempo. Una vez obtenido los retornos de la serie se procede a modelar la volatilidad. Primero, se determina el orden de integración de la serie (estacionariedad) a través del Augmented Dickey-Fuller Test, se valida la serie en nivel para ver si es estacionaria (I (0)) a través del p-value. El criterio de referencia para este test es que el p-value sea menor al 5%. Se valida los tres contrastes (sin constante, con constante y constante y tendencia). Si la serie no es estacionaria en nivel, se procede a diferenciarla y validar nuevamente los tres contrastes hasta poder determinar el orden de integración de la serie de tiempo.

Una vez determinada el orden de la serie, se utiliza los modelos econométricos de volatilidad de la familia ARCH. El estudio analiza la existencia de simetría o asimetría

de volatilidad y para determinarla se valida los modelos ARCH (q), GARCH (p, q) y EGARCH (p, q) planteados por (Bollerslev, 1986; Engle, 1982; Nelson, 1991). Donde p es el rezago de la varianza y q es el rezago del término de error. A continuación, las ecuaciones 1, 2 y 3 muestran los modelos generales de volatilidad ARCH, GARCH y EGARCH (ecuación de la varianza) que se proceden a estimar :

$$h_t = w + \alpha_1 \varepsilon_{t-1} + \dots + \alpha_q \varepsilon_{t-q}, \text{ donde } \alpha_{i=1..q} > 0 \text{ y } \sum_{i=1}^q \alpha_i = 1 \quad (2)$$

$$h_t = w + \alpha_1 \varepsilon_{t-1} + \dots + \alpha_q \varepsilon_{t-q} + \beta_1 h_{t-1} + \dots + \beta_p h_{t-p}, \text{ donde } \alpha_{i=1..q} > 0, \beta_{i=1..p} > 0 \text{ y } \sum_{i=1}^q \alpha_i + \sum_{i=1}^p \beta_i = 1 \quad (3)$$

$$\log(h_t) = w + \beta \log(h_{t-1}) + \gamma \frac{\varepsilon_{t-1}}{\sqrt{h_{t-1}}} + \alpha \left[\frac{|\varepsilon_{t-1}|}{\sqrt{h_{t-1}}} - \sqrt{\frac{2}{\pi}} \right] \quad (4)$$

La ecuación 2 muestra la varianza (h_t) estimada bajo el modelo ARCH (q) y la ecuación 3 muestra el modelo general GARCH (p, q), ambos modelos de volatilidad indican la existencia de simetría (mismo efecto para variaciones positivas y negativa de los precios) . Para estimar el modelo asimétrico, la ecuación 4 presenta el modelo EGARCH (logaritmo de la varianza), la ecuación no presenta condiciones de no negatividad y se debe hacer énfasis en el resultado del parámetro α . Si $\alpha = 0$ se denota la existencia de la volatilidad simétrica, si el parámetro α sale diferente de 0, esto hace referencia a la existencia de asimetría en la volatilidad de la serie. Se procede a estimar cada modelo planteado y validar la significancia estadística, correlograma y normalidad de los residuos. Adicionalmente, se considera el criterio AIC para la elección del mejor modelo, y con el mismo se puede responder si hay presencia de simetría o asimetría de precios en el

sector de la papa.

3. Resultados y Discusiones

Se procedió a realizar el Augmented Dickey-Fuller Test a la serie de retorno. La tabla 1 muestra el resultado del test en nivel (serie sin diferenciar), los resultados de los 3 contrastes

mencionan que la serie de retorno es estacionaria (se rechaza la H_0), el p-value de los tres contrastes indican que es menor al 5%. Este resultado indica que la serie es $I(0)$ – orden de integración en nivel y puede ser utilizada para la estimación de los modelos econométricos de volatilidad.

Tabla 1.- Resultados del Augmented Dickey-Fuller test - serie de retornos

Contraste	T - statistic	P-value
Sin constante	-6,8969	0,000
Con constante	-6,8912	0,000
Con constante y tendencia	-6,4882	0,000

Una vez obtenido estos resultados del orden de integración de la serie, se procedió a estimar los modelos de volatilidad simétricos y asimétricos. Los modelos simétricos ARCH y GARCH fueron estimados con diferentes especificaciones y distintas distribuciones para los errores (normal, t-student y distribución GED), los resultados mostraron que estos modelos no cumplían los tests ni la significancia requerida para ser considerados válidos. Asimismo, se realizó especificaciones para el modelo asimétrico E-GARCH, la tabla 2 muestra los principales resultados encontrados del modelo E-GARCH.

El EGARCH (1,1) se presenta como el mejor modelo de volatilidad para la serie de precios de la papa (distribución GED para los errores). Al realizar la validación del modelo econométrico se tiene un R^2 de 0.52 y pasa el test del correlograma de residuos. En los términos de la ecuación de la media se observó significancia estadística para los términos AR 1, AR 4, AR 7 y MA 15,, el término

AR 1 tiene un coeficiente positivo y los demás términos muestran coeficientes negativos, solo la constante no presenta significancia estadística, pero se la mantiene en el modelo.

En la ecuación de la varianza, todos los términos presentan significancia estadística, se observa que la constante w tiene coeficiente negativo, β presenta un coeficiente positivo de 0.183, demuestra un coeficiente negativo de -0.486 y α un coeficiente de -2.171. Cabe recalcar que el signo del parámetro es negativo, esto demuestra la existencia de asimetrías en la volatilidad del precio de la papa. El productor de papa en Ecuador experimenta un efecto más fuerte en impactos negativos que en los positivos, esto se traduce en que el perjuicio es fuerte en un escenario negativo para el productor de papa en el país.

La figura 2 presenta el retorno de la serie de precios (color rojo) y la serie estimada (color verde) acorde al modelo realizado. La predicción arrojó un índice de Theil del 0,54

y se realizó una predicción de los últimos tres meses del año 2019. Se puede observar que los retornos mostrarían una tendencia decreciente en la última parte del año 2019 (octubre -5.06%, noviembre -5.36% y diciembre -2.86%.

La figura 3 muestra la desviación estándar de la serie de precios para el periodo enero 2013 – septiembre

2019. Analizando por años, el 2013 presenta una tendencia creciente de volatilidad para todo el año (esta tendencia se mantiene hasta abril 2014), desde mayo 2014 hasta marzo del 2015 se presenta un periodo de baja volatilidad. Para el resto del año (2015), la volatilidad tiene una fuerte presencia hasta el mes de mayo y luego un descenso notable hasta agosto.

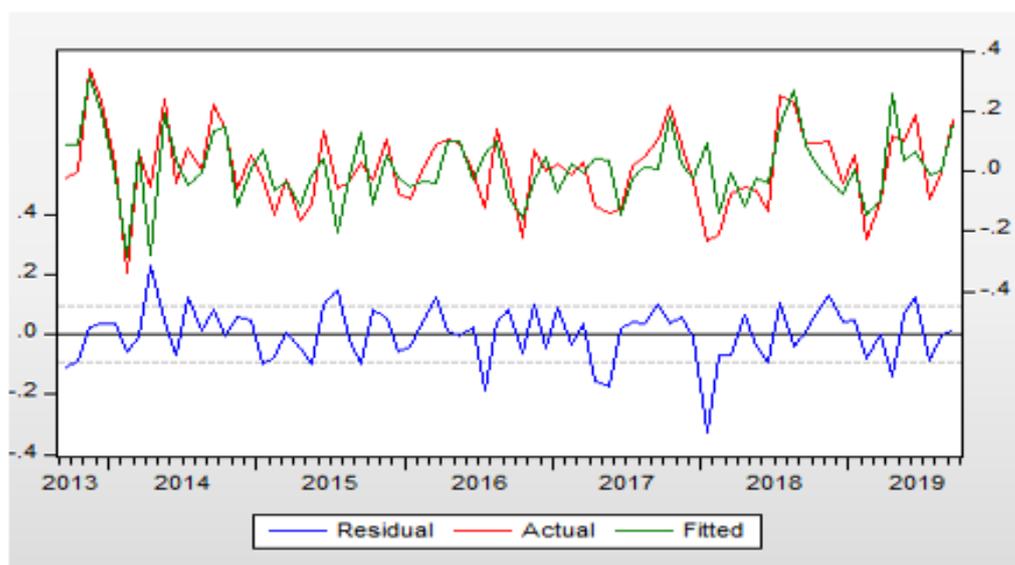


Figura 2. Retorno real y predicción de la papa en el Ecuador.
(Febrero 2013 - diciembre 2019)
Fuente: Ministerio de Agricultura del Ecuador

El resto del 2015, se presenta una fluctuación moderada de la volatilidad. El año 2016 presenta una tendencia creciente de volatilidad hasta el mes de julio (máximo), luego de este mes existe una fluctuación (a la baja y alza) hasta el mes de febrero del 2017. A partir de marzo 2017 hasta enero 2018, se evidencia un incremento (tendencia) de la volatilidad, luego sufre un desplome considerable hasta agosto 2018. A partir de septiembre, se incrementa la volatilidad hasta octubre y sufre una caída brusca en diciembre del mismo año. En 2019, se muestra una tendencia creciente de la volatilidad con su

valor máximo en abril, para luego bajar muy notablemente hasta agosto.

Como se puede observar en la figura 3, el productor todos los meses del año está expuesto a la volatilidad de precios. Los productores manifiestan que su principal preocupación es la falta de estabilidad de los precios (BCE, 2015, 2017a). Similares resultados puedes observarse en estudios de Colombia y Perú. Los productores de esos países enfrentan este riesgo de mercado al momento de comercializar el tubérculo (Barrientos, Rondón, & Melo, 2015; Fondo Nacional de Fomento de la Papa, 2016;

Adicionalmente, este mismo hecho se presenta en los mercados mayoristas de las diferentes ciudades y provincias (MIDAGRI, 2017).

gracias a las regiones geográficas y condiciones climáticas que tiene el país.

La papa es un alimento relevante en la dieta de los

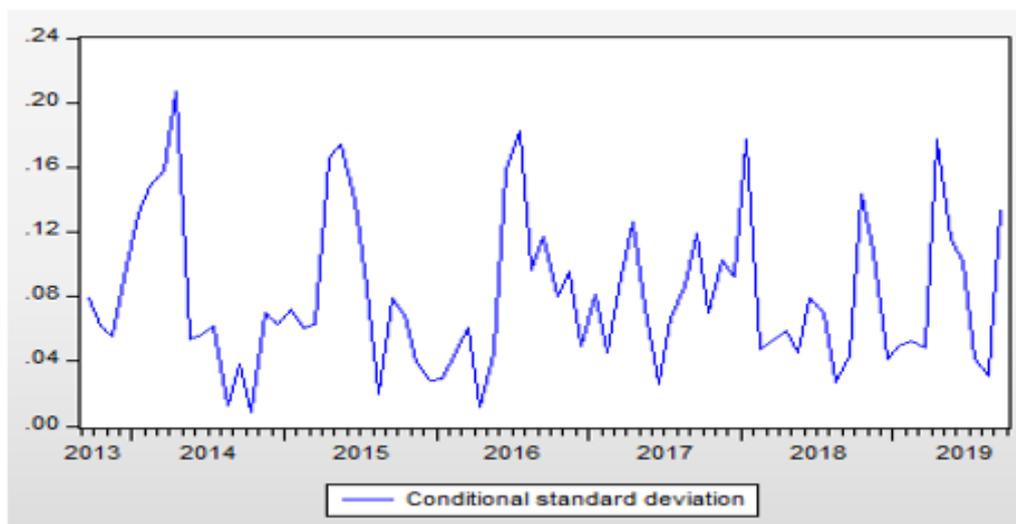


Figura 3. Desviación estándar de la serie de precios de la papa.
Fuente: Ministerio de Agricultura del Ecuador

En Ecuador, las variaciones de precio principalmente se deben a factores como el ingreso de papa de Colombia y Perú, esto empuja a tener un menor precio en el sector (BCE, 2016, 2017b, 2019). Los meses de cosecha más productivos abaratan el precio del cultivo en el mercado interno. Sin embargo, el precio se encarece cuando el tubérculo enfrenta eventos como sequías, heladas, plagas-enfermedades y eventos volcánicos (BCE, 2016, 2017b, 2019). Acciones o políticas públicas que ayuden a controlar la volatilidad de los precios son escasa o nulas en el Ecuador. En referencia a control de precios, solamente se hace en los mercados minoristas en un evento específico (especulación por paro nacional o sectorial).

4. Conclusiones.

El Ecuador es un país agrícola con una amplia diversidad de bienes agrícolas, los mismos que pueden producirse

ecuatorianos debido al ser la guarnición en los platos habituales de la gastronomía ecuatoriana. La papa se produce principalmente en la región Sierra del país y las 5 principales provincias producen el 83% a nivel nacional.

En cuanto a los precios del tubérculo, el productor experimenta una incertidumbre cada mes al no conocer con certeza el precio por su cosecha. El objetivo del estudio es determinar la presencia de la volatilidad (simétrica o asimétrica) de los precios en el sector productor de la papa. Los datos usados provienen del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador para el periodo enero 2013 a septiembre 2019. La metodología usada para determinar la volatilidad son los modelos econométricos simétricos (ARCH, GARCH) y asimétrico (E-GARCH).

Los resultados de las modelaciones de volatilidad indican que el precio de la papa

tiene una volatilidad tipo asimétrica. Esto hace énfasis que el mercado no reacciona de igual manera a variaciones de precios positivas o negativas. En los resultados de la investigación, se observa que los efectos de variaciones negativas serían más marcados que las variaciones positivas en el sector. Este resultado es importante para conocer la dinámica de los precios y el escenario que enfrenta el productor en la actividad agrícola cada mes.

Esta información es útil (presencia de volatilidad asimétrica) para proponer soluciones que mitiguen este tipo de riesgo de mercado como instrumentos de gestión de riesgo para el sector agrícola, las propuestas deberían ser analizadas y evaluadas para solventar la problemática detectada en este trabajo de investigación. La política pública agropecuaria ecuatoriana debería estar enfocada a promover y fomentar que la actividad agrícola sea atractiva y rentable en el Ecuador, y de esta manera poder contar con productores de papa a nivel nacional y en un escenario con menos incertidumbre.

5. Agradecimientos.

Este artículo está integrado dentro del proyecto de investigación “Volatilidad asimétrica de precios e instrumento de gestión de riesgo de mercado para los productores de papa en el Ecuador” de la Dirección de Investigación y Desarrollo (DIDE) y la Facultad de Contabilidad y Auditoría (FCAUD) de la Universidad Técnica de Ambato (UTA).

6. Referencias bibliográficas

- Baffes, J., & Haniotis, T. (2016). What Explains Agricultural Price Movements? *Journal of Agricultural Economics*, 67(3), 706–721. <https://doi.org/10.1111/1477-9552.12172>
- Barrientos, J. C., Rondón, C., & Melo, S. (2015). Comportamiento de precios de las variedades de papa Parda Pastusa y Diacol Capiro en Colombia (1995-2011). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 8(2), 272–286. <https://doi.org/10.17584/rcch.2014v8i2.3220>
- BCE. (2015). Reporte de Coyuntura Sector Agropecuario 87 - IV 2014.
- BCE. (2016). Reporte de Coyuntura Sector Agropecuario 88 - IV 2015.
- BCE. (2017a). Reporte de Coyuntura Sector Agropecuario 89 - IV 2016.
- BCE. (2017b). Reporte de Coyuntura Sector Agropecuario 90 - II 2017.
- BCE. (2019). Reporte de Coyuntura Sector Agropecuario 91 - IV 2018.
- Bollerslev, T. (1986). Generalized Autoregressive Conditional Heteroskedasticity. *Journal of Econometrics*, 31(1), 307–327. <https://doi.org/10.1109/TNN.2007.902962>.
- Bolotova, Y., McIntosh, C., Patterson, P., & Muthusamy, K. (2010). Is Stabilization of Potato Price Effective? Empirical Evidence from the Idaho Russet Burbank Potato Market. *Agribusiness*, 26(2), 177–201. <https://doi.org/10.1002/agr>
- CEPAL. (2011). Volatilidad de precios en los mercados agrícolas (2000-2010): implicaciones para América Latina y opciones de políticas.
- Dewbre, J. (2008). High food commodity prices : will they stay ? who will pay ? *Agricultural Economics (United Kingdom)*, 39, 393–403. <https://doi.org/10.1111/j.1574-0862.2008.00346.x>
- Engle, R. (1982). Autoregressive Conditional Heteroscedasticity with Estimates of variance of United Kingdom Inflation. *Econometrica*, 50(4), 987–1008. <https://doi.org/10.2307/1912773>
- Ezeta, F. La competitividad en el cultivo de papa en latinoamérica y el caribe: implicaciones y retos inmediatos (2008). Lima, Perú.
- Fondo Nacional de Fomento de la Papa. (2016). Informe de gestión 2016, 136. Retrieved from http://www.sgc.gov.co/getattachment/Nosotros/Planes,-Presupuesto-y-Gestion/Informes-de-Gestion/Informe_Gestion_2006.pdf.aspx
- Gevorkyan, A. (2017). Renewable versus non-renewable resources: an analysis of volatility in futures prices. *Australian Journal of Agricultural and Resource Economics*, 61(1), 19–35. <https://doi.org/10.1111/1467-8489.12194>
- Gilbert, C. L., & Morgan, C. W. (2010). Food price volatility. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1554), 3023–3034. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0139>
- Jácome, A. R., & Garrido, A. (2017). Volatility and Price Transmission from World Prices to the Ecuadorian Coffee Market. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, 35(1), 155–170.
- Kilima, F. T. M., Chung, C., Kenkel, P., & Mbiha, E. R. (2008). Impacts of market reform on spatial volatility of maize prices in Tanzania. *Journal of Agricultural Economics*, 59(2), 257–270. <https://doi.org/10.1111/j.1477-9552.2007.00146.x>
- MAG. (2018). Informe de rendimientos de papa en el Ecuador 2017, 15. Retrieved from http://sipa.agricultura.gob.ec/descargas/estudios/rendimientos/papa/rendimiento_papa_2017.pdf
- MAG. (2019). Sistema de Información Pública Agropecuaria - Económica. Retrieved from <http://sipa>

- tura.gob.ec/index.php/sipa-estadisticas/estadisticas-economicas
- MAG. (2020). Informe de rendimientos de papa en el Ecuador 2019. Retrieved from <http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/informe-de-rendimientos-objetivos/rendimiento-de-papa>
- Maître d'Hôtel, E., & Le Cotty, T. (2018). Why does on-farm storage fail to mitigate price volatility? *Agricultural Economics (United Kingdom)*, 49(1), 71–82. <https://doi.org/10.1111/agec.12396>
- McCalla, A. F. (2009). World food prices: Causes and consequences. *Canadian Journal of Agricultural Economics*, 57(1), 23–34. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7976.2008.01136.x>
- MIDAGRI. (2017). Papa : Características de la Producción Nacional y de la Comercialización en Lima Metropolitana, 4–12.
- MIDAGRI. (2018). Compendio estadístico del Perú 2018. Agrario, 88.
- Nelson, D. (1991). Conditional Heteroskedasticity in Asset Returns: A New Approach. *Econometrica*, 59(2), 347–370.
- Ott, H. (2014). Extent and possible causes of intrayear agricultural commodity price volatility. *Agricultural Economics (United Kingdom)*, 45(2), 225–252. <https://doi.org/10.1111/agec.12043>
- Pinstrup-andersen, P. (2013). Contemporary food policy challenges and opportunities, 58(4), 504–518. <https://doi.org/10.1111/1467-8489.12019>
- Proexpansión. (2011). Cambios del sector papa en el Peru en la ultima decada: Los aportes del proyecto Innovacion y Competitividad de la Papa (INCOPA). Centro Internacional de La Papa, 179. <https://doi.org/10.4160/9789290604112>
- Tadesse, G., & Guttormsen, A. G. (2011). The behavior of commodity prices in Ethiopia. *Agricultural Economics (United Kingdom)*, 42(1), 87–97. <https://doi.org/10.1111/j.1574-0862.2010.00481.x>
- Tangermann, S. (2008). Agricultural Commodity Prices: Perspectives and Policies. *Eurochoices*, 7(2), 36–43.
- Voituriez, T. (2001). What explains price volatility changes in commodity markets? Answers from the world palm-oil market. *Agricultural Economics*, 25(2–3), 295–301. <https://doi.org/10.1111/j.1574-0862.2001.tb00209.x>

ALIMENTOS, CIENCIA E INGENIERÍA

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

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

GUÍA PARA AUTORES

Tipos de publicaciones

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

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

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

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

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

Principios generales

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

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

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

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

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

Proceso Editorial

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Referencia bibliográfica (estilo APA 6ª Ed.):

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

Formato

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

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

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

Contenido de los artículos de investigación

• Primera página

1. Título

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

2. Autores

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

3. Resumen/Abstract

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

4. Palabras clave/Keywords

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

• Estructura del trabajo

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Contenido de trabajos diferentes a los artículos de investigación

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

