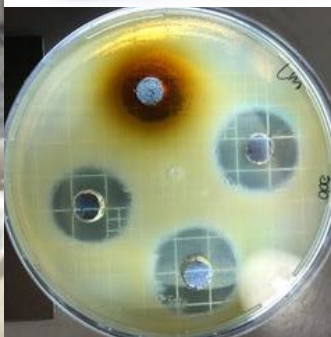


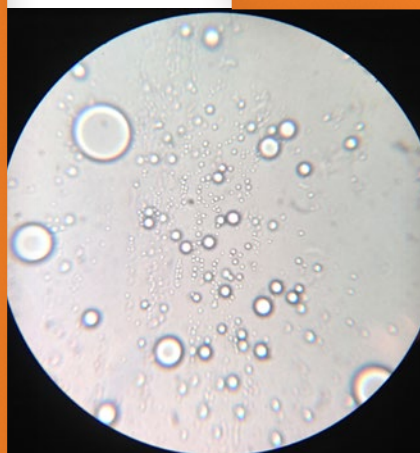
tsia

TEMAS SELECTOS DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS

UDLAP®



Volumen 11 (2017)



Editorial

La investigación y la escritura son las actividades más importantes de un doctor en ciencias. El redactar un texto científico tiene como objetivo dar a conocer a la comunidad científica y al público en general un panorama amplio de lo que se está trabajando y cuáles son los temas de actualidad en el ámbito de la ciencia. El haber realizado mi estancia posdoctoral en el Departamento de Ingeniería Química y Alimentos de la Universidad de las Américas Puebla, me permitió conocer Temas selectos de ingeniería de alimentos (TSIA), revista escrita por los estudiantes del Doctorado en Ciencia de Alimentos. En mi opinión, creo que es un magnífico ejercicio de escritura científica, además de que se revisa e investiga temas de actualidad de ingeniería y ciencia de alimentos y, sobre todo, temas que los alumnos trabajarán en su tesis. Esto ayuda al estudiante a hacer una revisión bibliográfica del estado del arte del tema que desarrollarán durante su posgrado y a ganar nuevas habilidades que los prepararán para el futuro en la publicación de artículos científicos en revistas de alto impacto. Es un referente importante porque, sin duda, cuando se busca algún tema de actualidad en el área, siempre aparece un artículo asociado con esta revista. En esta ocasión, me llena de alegría presentar el volumen 11, le aseguro al lector que no quedará defraudado ya que se incluyen cuatro artículos de revisión bibliográfica sobre betalaínas y sus aplicaciones en la industria alimentaria, paraprobióticos y su aplicación en alimentos, la efectividad antimicrobiana de aceites esenciales y sus componentes encapsulados y coacervación compleja como una alternativa de microencapsulación. Cada tema es innovador y tiene gran impacto en el área de alimentos. Finalmente, felicito al cuerpo editorial, estudiantes y colaboradores que pusieron su mejor empeño para la realización de este volumen, sabiendo que existe calidad en todos los artículos publicados.

Dra. María Antonieta Ríos Corripio

Profesor investigador cátedra CONACYT
del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba

TSIA

Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos

UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS PUEBLA

EDITORIA RESPONSABLE

María Eugenia Bárcenas Pozos

CONSEJO EDITORIAL

Emma Mani López

María Teresa Jiménez Munguía

Fidel Tomás Vergara Balderas

TSIA, Año 11, volumen 11 (2017), es una publicación anual editada por la Universidad de las Américas Puebla, a través del Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Ex hacienda Sta. Catarina Mártir s/n, San Andrés Cholula, Puebla, C. P. 72810. Teléfono: (222) 229 2126, www.udlap.mx, maria.barcenas@udlap.mx. Editora responsable: María Eugenia Bárcenas Pozos. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo número 04-2016-102017072100-102, ISSN: en trámite, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Licitud de Título y Contenido número 15430, otorgado por la Comisión Calificadora de Publicaciones y Revistas Ilustradas de la Secretaría de Gobernación. Impresa en los talleres gráficos de la Universidad de las Américas Puebla, Ex hacienda Sta. Catarina Mártir, San Andrés Cholula, Puebla. C. P. 72810. Este número se terminó de imprimir el 5 de marzo de 2018 con un tiraje de 50 ejemplares.

UDLAP®

Contenido

Volumen 11

EDITORIAL

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

- 5 Efectividad antimicrobiana de aceites esenciales y sus componentes encapsulados**

N. Ruíz-González y M. T. Jiménez-Munguía

- 17 Betalainas: importancia, presencia en vegetales y sus aplicaciones en la industria alimentaria**

A. González-Ortíz * y J. A Guerrero-Beltrán

- 28 Coacervación compleja: una alternativa como método de microencapsulación**

R. Hernández-Nava* y M. T. Jiménez-Munguía

- 42 Paraprobióticos y su aplicación en alimentos**

D. Arrijoa-Bretón y A. López-Malo

Efectividad antimicrobiana de aceites esenciales y sus componentes encapsulados

N. Ruíz-González y M. T. Jiménez-Munguía

Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Universidad de las Américas Puebla

Ex hacienda Sta. Catarina Mártir, C.P. 72810, San Andrés Cholula, Puebla, México.

RESUMEN

El uso de los aceites esenciales como aditivos naturales para extender la vida útil de los productos alimenticios ha recibido una creciente atención. Las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales son debidas a sus componentes, los cuales poseen actividad contra microorganismos patógenos y deteriorativos comunes en alimentos. Los aceites esenciales y sus componentes son inestables ante diferentes condiciones ambientales, por lo que la encapsulación representa una alternativa para protegerlos. Uno de los procesos importantes en el diseño de un sistema de encapsulación para agentes antimicrobianos es la prueba de su efectividad antimicrobiana en sistemas modelo y alimentos, sin embargo, estos estudios aún son escasos. El propósito de esta revisión es dar a conocer información actualizada sobre los mecanismos de acción antimicrobiana de los aceites esenciales y sus componentes, así como sobre su efectividad al ser encapsulados y probados en sistemas modelo y en alimentos.

Palabras clave: efectividad antimicrobiana, aceites esenciales, encapsulación, sistemas modelo, alimentos.

ABSTRACT

The use of essential oils and their components has received increasing attention as natural additives to extend the shelf life of foodstuffs. The antimicrobial properties of the essential oils are due to its components, which have activity against common pathogenic and deteriorative microorganisms in food. Essential oils and their components are unstable under different environmental conditions, so encapsulation is an alternative to protect them. One of the important processes in the design of an encapsulation system for antimicrobial agents is the proof of its antimicrobial effectiveness in model and food systems, however these studies are still scarce. The purpose of this review is to provide updated information on the mechanisms of antimicrobial action of essential oils and their components, as well as their effectiveness as they are encapsulated and tested in model and food systems.

Keywords: antimicrobial effectiveness, essential oils, encapsulation, model systems, food.

* Programa de Doctorado
en Ciencia de Alimentos
Tel.: +52 222 229 2126
Dirección electrónica:
nancy.ruizgz@udlap.mx
maria.barcenas@udlap.mx

Introducción

Los aceites esenciales son mezclas de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas aromáticas. Éstos han ganado un creciente interés en el área de alimentos, debido a que provienen de fuentes naturales, su uso es seguro, son amigables con el ambiente y tienen propiedades antioxidantes y antimicrobianas.

Las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales son debidas a sus componentes, entre los que destacan los compuestos fenólicos, los cuales poseen actividad contra microorganismos patógenos y deteriorativos comunes en alimentos. Los mecanismos de acción de los compuestos antimicrobianos dependen del tipo de microorganismos, sin embargo, pueden actuar causando daño celular o interviniendo en los procesos metabólicos de los microorganismos.

Los aceites esenciales se han estudiado con el objetivo de aprovechar todos sus beneficios. Sin embargo, son químicamente inestables cuando se encuentran expuestos a ciertas condiciones ambientales como son la luz, la humedad, el oxígeno y las temperaturas elevadas, lo que puede ocasionar la pérdida de sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes.

La encapsulación es una forma de proteger a los aceites esenciales y sus componentes. En este proceso, pequeñas partículas de los aceites esenciales o de sus componentes son rodeadas por un revestimiento o son contenidas en una matriz formando pequeñas cápsulas (Bakry *et al.*, 2015). Mediante un proceso de difusión, el aceite o sus componentes pueden atravesar los materiales de la cápsula, para liberarse de manera controlada en el sitio requerido.

Uno de los procesos importantes en el diseño de un sistema de encapsulación para agentes antimicrobianos es la prueba de su efectividad antimicrobiana en sistemas modelo, lo cual permite controlar algunas variables de estudio como la disponibilidad de nutrientes, el pH, la a_w , la humedad, la temperatura, entre otras; lo que puede dar una buena aproximación del comportamiento de los agentes antimicrobianos encapsulados en las pruebas posteriores de su efectividad antimicrobiana en alimentos.

En esta revisión se pretende dar a conocer información actualizada sobre los mecanismos de acción antimicrobiana de los aceites esenciales y sus componentes, así como sobre su efectividad al ser encapsulados y probados en sistemas modelo y en alimentos.

Revisión bibliográfica

1. Aceites esenciales y sus componentes

El uso de aceites esenciales en la producción de alimentos y bebidas es conocido desde la antigüedad. En el campo de la obtención y uso de aceites esenciales en alimentos, las investigaciones se centran en la extracción, el análisis químico de sus componentes y en las pruebas de su capacidad funcional en alimentos (Dima *et al.*, 2014).

1.1. Fuentes y composición química

Las plantas aromáticas son añadidas para mejorar el sabor y/o el aroma de los alimentos, sin embargo, también pueden mejorar su vida útil, debido a su contenido de agentes antimicrobianos y propiedades antioxidantes.

Los aceites esenciales obtenidos de materiales vegetales como flores, brotes, semillas, hojas, entre otros, contienen mezclas de componentes volátiles que tienen amplio espectro de actividad antimicrobiana y actúan como conservadores naturales cuando son añadidos a los alimentos frescos (Ait-Ouazou, Lor'an y Bakkali, 2011). En la tabla I se encuentran algunos ejemplos de partes de plantas que contienen aceites esenciales.

Tabla I. Partes de plantas que contienen aceites esenciales.

HOJAS	Orégano, menta, albahaca, romero, limón, mirto, canela, alcanfor, pimienta, laurel, salvia, eucalipto, hierba limón, hierbabuena, árbol de té y tomillo.
SEMILLAS	Cardamomo, café, pitaya, neem, comino, pimienta negra, almendra, anís, zanahoria, apio, cilantro, nuez moscada, perejil e hinojo.
FRUTAS	Cítricos, vainilla y granada.
FLORES	Clavo, lavanda, manzanilla, jazmín, mejorana y naranja.
RAÍCES	Vetiver, jengibre, cúrcuma, valeriana y angélica.

Adaptada de Tongnuanchan y Benjakul (2014).

Los compuestos presentes en los aceites esenciales se dividen en dos grupos que son los hidrocarburos terpénicos y los compuestos oxigenados (Tongnuanchan y Benjakul, 2014). Los hidrocarburos terpénicos son una clase de compuestos orgánicos derivados del isopreno, que es un hidrocarburo de cinco átomos de carbono. Los aceites esenciales contienen principalmente monoterpenos y sesquiterpenos; los diterpenos, triterpenos y tetraterpenos también se encuentran presentes, pero en baja concentración (Mohamed, El-Emary y Ali, 2010). Por otro lado, los compuestos oxigenados reciben el nombre de terpenoides (terpenos que contienen oxígeno), algunos de ellos son:

- a. Fenoles: timol, eugenol, carvacrol, chavicol, timol, entre otros.
- b. Alcoholes monoterpénicos (borneol, isopulegol, lavanduol, α -terpineol, entre otros) y alcoholes sesquiterpénicos (elemol, nerolidol, santalol, α -santalol, entre otros).
- c. Aldehídos: citral, mirral, cuminaldehído, citronelal, cinaldehído, benzaldehído, entre otros.
- d. Cetonas: carvona, mentona, pulegona, fenchona, alcanfor, tuiona, verbenona, entre otras.
- e. Ésteres: acetato de bencilo, acetato de linalilo, acetato de citronelilo, acetato de geranilo, entre otros.
- f. Óxidos: 1,8-cineol, óxido de bisabolona, óxido de linalool, óxido de esclareol, entre otros.
- g. Lactonas: bergapteno, nepetalactona, psoraleno, aesculatina, citropeno, entre otras.
- h. Éteres: 1,8-cineol, anetol, elemicina, mirristina, entre otros.

1.2. Propiedades antimicrobianas y mecanismos de acción

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales depende principalmente de tres factores: su carácter hidrófilo o hidrófobo, sus componentes químicos y el tipo de microorganismo al que debe atacar (Kalemba y Kinicka, 2003; López-Malo, Palou, León-Cruz y Alzamora, 2005; Fisher y Phillips, 2008; Solórzano-Santos y Miranda-Navales, 2011).

La forma en la que actúan los aceites esenciales de acuerdo a su carácter (hidrófilo o hidrófobo), se debe a que tienen la capacidad de alterar las células microbianas, aumentando o disminuyendo la regulación de los genes implicados en la síntesis de proteínas de la membrana celular externa (Radulović, Blagojević, Stojanović-Radić y Stojanović, 2013). La alteración de la membrana celular externa produce fugas de varias sustancias (iones, ATP, ácidos nucleicos y aminoácidos), lisis celular y finalmente la muerte del microorganismo (Her-

nández-Hernández, Regalado-González, Vázquez-Landaverde, Guerrero-Legarreta y García-Almendárez, 2014).

Con respecto a sus componentes, éstos pueden alterar la estructura de la membrana del citoplasma, inhibiendo el transporte de electrones, o actuar como potenciales agentes desnaturizantes de proteínas, disolventes o deshidratantes (Hernández-Hernández *et al.*, 2014). Delaquis, Stanich, Girard, y Mazza (2002) y Holley y Patel (2005) afirman que los compuestos fenólicos son los principales responsables de las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales. En el mismo sentido, en un estudio realizado por Fisher y Phillips (2008), se reportó que el carvacrol tiene la capacidad de alterar la membrana celular externa, lo que causa la fuga de protones y iones de potasio y da como resultado el colapso de la membrana y la inhibición de la síntesis del ATP.

Por otro lado, se ha observado que los componentes de los aceites esenciales tienen una mayor efectividad antimicrobiana contra las bacterias gram-positivas, que contra las gram-negativas (Okoh, Sadimenko y Afolayan, 2010). Lo anterior se atribuye a que los extremos lipófilos de los ácidos lipoteicoicos en la membrana celular de las bacterias gram-positivas, pueden facilitar la penetración de los componentes hidrófobos de los aceites esenciales. Por su parte, la resistencia de las bacterias gram-negativas a los componentes de los aceites esenciales, se asocia con el papel protector de las proteínas de la membrana o los lipopolisacáridos de la pared celular, que limitan la velocidad de difusión de los compuestos hidrófobos a través de la capa de lipopolisacárido (Burt, 2004). Fisher y Phillips (2008) mencionan que para alcanzar el mismo efecto letal en ambos tipos de bacterias (gram-positivas y gram-negativas), sería necesario un periodo mayor de exposición a los aceites esenciales en los sistemas modelo. No obstante, esta sensibilidad de los diferentes tipos de bacterias sólo se ha observado al utilizar aceites esenciales *in vitro*, pero no en alimentos.

2. Encapsulación de aceites esenciales y sus componentes

La encapsulación de los aceites esenciales y sus componentes representa un enfoque eficiente y viable para incrementar su estabilidad, protegiéndolos de las interacciones con los alimentos y el medio ambiente. El proceso de encapsulación consiste en la formación de una estructura multi-componente en forma de partículas compuestas, por lo general, de dos sustancias: el material del núcleo y el agente encapsulante (Adamiec, 2009). En el caso de los antimicrobianos, la encapsulación puede incrementar la concentración de los componentes

en las áreas de los alimentos donde los microorganismos se localizan, por ejemplo, en fases acuosas o en interfases líquido-sólido (Weiss, Gaysinsky, Davidson y McClements, 2009).

El material y el proceso de encapsulación son factores que influyen significativamente en la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales y sus componentes encapsulados (Beirao da Costa, Duarte y Bourbon, 2012; Wang, Lu, Wu y Lv, 2009). La elección de los materiales de encapsulación es un paso importante para el éxito del proceso; dichos materiales pueden ser seleccionados entre una gran variedad de polímeros naturales y sintéticos como gomas, proteínas, maltodextrina, carboximetil celulosa de sodio y gelatina (Wang *et al.*, 2009). Entre ellos, los carbohidratos, como los almidones modificados y las maltodextrinas, son considerados generalmente como buenos agentes encapsulantes, ya que tienen baja viscosidad, un alto contenido de sólidos, buena solubilidad y su uso conduce a bajas cantidades de aceite no encapsulado en la superficie (Gharsallaoui, Roudaut, Chambin, Voilley y Saurel, 2007).

Por otro lado, el proceso de obtención de los encapsulados tiene una gran influencia sobre la solubilidad de las partículas, ya que, dependiendo del procedimiento empleado, se alcanzarán escalas micro o nano. Algunas de las técnicas más utilizadas para encapsular aceites esenciales son la encapsulación por emulsión, la coacervación, la gelación ionotrópica, la inclusión molecular, el secado por atomización, la liofilización, el recubrimiento en lecho fluidizado y la co-cristalización, entre otras (Zuidam y Nedovic, 2010).

3. Efectividad antimicrobiana de los componentes de aceites esenciales encapsulados

3.1. Evaluación en sistemas modelo

Se ha estudiado la efectividad como antimicrobianos de los componentes de los aceites esenciales encapsulados mediante su aplicación en sistemas modelo, ya que éstos permiten crear condiciones favorables para el crecimiento de los microorganismos.

En algunos estudios se ha demostrado que la encapsulación de los componentes de los aceites esenciales puede aumentar su efectividad antimicrobiana, en comparación con la de los componentes no encapsulados. Por ejemplo, en una investigación realizada por Donsì, Annunziata, Sessa y Ferrari (2011), se comprobó que la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) del D-limoneno y de una mezcla de terpenos extraídos del árbol de té (*Melaleuca alternifolia*), encapsulados en nanoemulsiones, re-

sultaron siempre menores o iguales a las de los mismos componentes no encapsulados, para los microorganismos probados (*Escherichia coli*, *Lactobacillus delbrueckii* y *Saccharomyces cerevisiae*), en sistemas modelo de caldo de soya tripticaséina y caldo Man, Rogosa y Sharpe (MRS). Asimismo, Bejrapha, Choi, Surassmo, Chun y Min (2011) encontraron que la CMI del eugenol encapsulado en nanoemulsiones, resultó siempre menor o igual a la del eugenol no encapsulado, para *E. coli*, en caldo de soya tripticaséina.

Por otro lado, también se han realizado estudios en sistemas modelo que han demostrado que la concentración de los componentes de los aceites esenciales encapsulados es uno de los parámetros más importantes para lograr una alta efectividad antimicrobiana. Entre ellos está el llevado a cabo por Chang, McLandsborough y McClements (2013); estos investigadores examinaron la efectividad antimicrobiana de nanoemulsiones elaboradas con diferentes concentraciones de carvacrol (10 a 40% p/p), contra cuatro levaduras (*Zygosaccharomyces bailii*, *Sc. cerevisiae*, *Brettanomyces bruxellensis* y *Brettanomyces naardenensis*), utilizando un sistema modelo de solución de buffer de citrato (5 mM; pH 3.5), donde se monitoreó el número de células viables durante cinco días en incubación a temperatura ambiente. Los resultados mostraron que con 40% (p/p) de carvacrol en la nanoemulsión, fue posible inhibir el crecimiento de todas las levaduras, lográndose una reducción de cuatro ciclos logarítmicos (UFC/mL). Por su parte, Hernández-Hernández *et al.* (2014) estudiaron la efectividad antimicrobiana de microemulsiones elaboradas con diferentes concentraciones de timol (50 a 250 µg/mL) o carvacrol (80 a 500 µg/mL), para inhibir el crecimiento de *Micrococcus luteus*, utilizando un sistema modelo de caldo nutritivo, el cual se incubó durante 2 horas a 30 °C, para determinar la población microbiana en agar nutritivo, después de incubar durante 48 horas a 30 °C. Los resultados mostraron que después de 2 horas de incubación, las mayores concentraciones de timol (150 a 250 µg/mL) o carvacrol (100 a 500 µg/mL), tuvieron un mayor efecto antimicrobiano al lograr una reducción de tres ciclos logarítmicos (UFC/mL). También en el estudio de Bejrapha *et al.* (2011), previamente mencionado, se investigó el efecto antimicrobiano de nanoemulsiones preparadas con diferentes concentraciones de eugenol (1 µg/mL a 1 mg/mL), sobre *E. coli*, en caldo de soya tripticaséina, en el cual se monitoreó el número de células viables durante 24 horas de incubación a 37 °C. Los resultados mostraron que la inhibición de la bacteria fue posible a la concentración de 0.5 mg/mL, lográndose una reducción microbiana de cinco a siete ciclos logarítmicos (UFC/mL), a las 16 horas de incubación.

3.2. Evaluación en alimentos

Existen algunos estudios en los que los componentes de los aceites esenciales encapsulados, han sido adicionados a alimentos, con el fin de determinar su efecto antimicrobiano en las condiciones reales en las que proliferan los microorganismos.

Un ejemplo es el estudio realizado por Donsi *et al.* (2011), en el cual una nanoemulsión preparada a base de terpenos extraídos del árbol de té (*M. alternifolia*), lecitina de soya y agua, homogeneizada a altas presiones, se añadió en diferentes concentraciones a jugos de naranja y pera, previamente inoculados con *Lactobacillus delbrueckii*, para probar su efectividad antimicrobiana y observar la alteración de las características químicas y físicas de los jugos almacenados a 32 °C. Los resultados de la vida de anaquel acelerada mostraron que la inactivación total de la carga microbiana inicial (10^3 UFC/mL) se logró, después de dos días, con las concentraciones de terpenos de 5 g/L para jugo de naranja y 10 g/L para jugo de pera. A la concentración de 1 g/L, el crecimiento microbiano se retrasó cinco días en jugo de naranja y dos días en jugo de pera, en comparación con el control. Se observó también que los °Bx y el pH de los jugos, no fueron alterados significativamente por la adición de la nanoemulsión.

Otro caso es el estudio llevado a cabo por Pan, Chen, Davidson y Zhong (2014), en el que estos investigadores compararon la efectividad antimicrobiana de una nanoemulsión preparada a base de timol y caseinato de sodio, homogeneizada mecánicamente a 1500 rpm, con la del timol no encapsulado, en leche. Tanto el timol encapsulado como el no encapsulado se añadieron en diferentes concentraciones (0 a 0.5 mg/mL) a leches con diferente contenido de grasa (1.14 a 1.49%), previamente inoculadas con *Listeria monocytogenes*. En cuanto al contenido de grasa en la leche, los resultados mostraron que para ambos tipos de timol la inactivación de *L. monocytogenes* fue más lenta a un nivel de grasa mayor. Por otro lado, para la leche con menor contenido de grasa (1.14%), el timol encapsulado redujo la población bacteriana en seis ciclos logarítmicos (UFC/mL), después de 24 horas; mientras que el timol no encapsulado únicamente redujo la población bacteriana en un ciclo logarítmico (UFC/mL), en el mismo tiempo. Algo parecido se observó en la leche con mayor contenido de grasa (1.49%), en la que el timol encapsulado redujo la población bacteriana en tres ciclos logarítmicos (UFC/mL), después de 24 horas, mientras que el timol no encapsulado la redujo en menos de un ciclo logarítmico (UFC/mL), en el mismo tiempo.

En otro estudio, Shah, Davidson y Zhong (2012) encapsularon timol mediante el proceso de emulsión-atomización,

utilizando maltodextrina y proteína de suero de leche como encapsulantes. El timol encapsulado se añadió en diferentes concentraciones a sidra de manzana previamente inoculada con *E. coli* o *L. monocytogenes*, a pH ajustado a 3.5 o 5.5, y los sistemas se mantuvieron a diferentes temperaturas (35, 32, 25 y 4 °C). Los resultados mostraron que *E. coli* fue significativamente más sensible a 4 °C y pH 3.5, y que *L. monocytogenes* no sobrevivió a un pH tan bajo, a esta misma temperatura. La aplicación de timol en una concentración de 0.5 g/L, resultó eficaz en la inhibición de ambas bacterias a pH 3.5, independientemente de la temperatura de almacenamiento.

4. Efectividad antimicrobiana de aceites esenciales encapsulados

4.1. Evaluación en sistemas modelo

Se han llevado a cabo algunas investigaciones relacionadas con el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales encapsulados en sistemas modelo, las cuales están permitiendo adquirir una mayor comprensión sobre su acción en contra de los microorganismos de interés en alimentos, bajo condiciones de estudio controladas.

Entre ellas se encuentra el estudio realizado por Hernández-Hernández *et al.* (2014), en el que se observó que en un sistema modelo de agar nutritivo, después de tres meses de almacenamiento en refrigeración, el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de orégano mexicano (*Lippia graveolens* H. B. K.) y de orégano europeo (*Origanum vulgare* L.) no encapsulados, contra *M. luteus*, se redujo en 59.3% y 33.3%, respectivamente; mientras que con los mismos aceites pero microencapsulados, el efecto antibacteriano no experimentó cambios significativos.

Otro ejemplo es el estudio de Dima *et al.* (2014), en el cual se investigó el efecto antimicrobiano del aceite esencial de cilantro encapsulado en β -ciclodextrina, por el método de coprecipitación, utilizando un sistema modelo de agar de extracto de malta, para inhibir el crecimiento de *Bacillus subtilis* MIUG B106B, *Bacillus cereus* MIUG B107B, *Rhodorula glutinis* MIUG D7, *Candida utilis* MIUG D8, *Sc. cerevisiae* MIUG D9, *Aspergillus niger* MIUG M5, *Penicillium glaucum* MIUG M9 y *Geotrichum candidum* MIUG M13. Los resultados mostraron que las cápsulas de aceite esencial de cilantro resultaron más efectivas para inhibir a *A. niger* MIUG M5 y a *P. glaucum* MIUG M9 y menos efectivas para inhibir el crecimiento de *Sc. cerevisiae* MIUG D9, en comparación con los otros microorganismos probados.

Por otro lado, Ayala-Zavala *et al.* (2008) estudiaron el efecto antimicrobiano de aceite esencial de hoja de canela (*Cin-*

namomum zeylanicum) y de aceite esencial de ajo (*Allium sativum*), encapsulados en β -ciclodextrina, por el método de precipitación, para inhibir el crecimiento de *Alternaria alternata*, utilizando un sistema modelo de agar papa dextrosa, incubado durante 48 horas a 25 °C. Los resultados mostraron que los dos tipos de aceite esencial de canela, encapsulado y no encapsulado, inhibieron el crecimiento de *A. alternata* de manera más afectiva que el aceite esencial de ajo (encapsulado y no encapsulado). Lo anterior sugiere que los microorganismos pueden resultar más sensibles a un tipo de aceite esencial que a otro, lo cual está relacionado con el efecto de sus componentes y con la naturaleza de los microorganismos. Por otra parte, 0.004 g/mL del aceite esencial de canela y 0.005 g/mL de aceite esencial de ajo, microencapsulados de manera independiente, fueron las concentraciones que mostraron el menor crecimiento del hongo. Sin embargo, cuando dichos aceites esenciales no encapsulados, se aplicaron a una concentración de 0.005 g/mL, mostraron el mismo efecto antimicrobiano.

4.2. Evaluación en alimentos

El efecto antimicrobiano de los aceites esenciales encapsulados en alimentos también ha sido estudiado por algunos investigadores. En este sentido puede mencionarse el estudio realizado por Teodoro, De Barros, Botrel, Borges y De Souza (2014), en el que se encapsuló aceite de romero mediante la técnica de secado por atomización, utilizando como materiales encapsulantes maltodextrina y almidón modificado. El aceite esencial de romero encapsulado se añadió en una concentración de 1.5%, a una masa fresca para pan, previamente inoculada con *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp. Para el análisis se utilizó como control la masa fresca de pan sin aceite esencial, así como una muestra con 1.5% de aceite esencial sin encapsular. Después de ocho días de almacenamiento a 25 °C, se encontró que los tratamientos en los que se añadió aceite esencial obtuvieron un bajo conteo fúngico; en comparación con el control, la carga microbiana se redujo entre 0.7 y 1.5 ciclos logarítmicos (UFC/mL). Además, se observó un menor conteo fúngico para el tratamiento con aceite esencial microencapsulado, en relación con el tratamiento con aceite esencial sin encapsular.

Otro ejemplo es el estudio de Fernández-Serrano (2015), en el cual se evaluó el efecto antifúngico del aceite esencial de canela encapsulado por emulsión a altas presiones, utilizando como agente estabilizante goma xantana. El aceite encapsulado en concentraciones de 0.08 mg/g y 0.1 mg/g, se agregó a mermelada de fresa, previamente inoculada con *Aspergillus flavus* (CECT 2685), *A. niger* (CECT 20156), *Penicillium expansum*

(CECT 20140), *Zygosaccharomyces rouxii* o *Z. bailii*. Los resultados mostraron que después de 28 días a 25±1 °C, las muestras de mermelada a las cuales se les incorporó la emulsión, presentaron un menor desarrollo fúngico comparadas con el control (mermelada de fresa sin aceite esencial), siendo las emulsiones más efectivas sobre *P. expansum* y *A. flavus*. Sin embargo, en el caso de *A. niger*, el desarrollo fúngico de las muestras control y el de las preparadas con la emulsión, presentaron una evolución similar. Por otra parte, las levaduras resultaron más sensibles al aceite de canela encapsulado. Para *Z. rouxii*, se observó la completa inhibición del crecimiento, durante todo el periodo de almacenamiento, con la emulsión que contenía 0.1 mg/g de aceite esencial. En el caso de *Z. bailii*, la inhibición completa se presentó con la muestra preparada con la emulsión que contenía 0.08 mg/g de aceite esencial.

Conclusiones

Hasta el momento se han realizado varias investigaciones sobre la efectividad antimicrobiana de los aceites esenciales y sus componentes, encapsulados, sobre distintos microorganismos patógenos y deteriorativos. En los estudios presentados en esta revisión ha sido posible observar que, en su mayoría, las formas encapsuladas son más efectivas que las no encapsuladas. Sin embargo, dicha efectividad está en función de la concentración y de los mecanismos de acción de los propios aceites esenciales y de sus componentes, así como de los microorganismos en los cuales son aplicados; además, puede ser afectada por algunas propiedades de los alimentos o por algunos compuestos presentes en ellos.

El estudio del uso de los aceites esenciales encapsulados y sus componentes, como agentes antimicrobianos en alimentos, es una gran área de oportunidad para los investigadores, ya que la información reportada hasta ahora aún es escasa.

Agradecimientos

La autora N. Ruíz-González agradece a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) por el financiamiento para sus estudios de posgrado.

Referencias

- Adamiec, J. (2009). Moisture sorption characteristics of peppermint oil microencapsulated by spray drying. *Drying Technology*, 27, 1363-1369.

- Ait-Ouazzou, A., Lor'an, S. y Bakkali, M. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(14), 2643-2651.
- Ayala-Zavala, J. F., Soto-Valdez, H., González-León, A., Álvarez-Parrilla, E., Martín-Belloso, O. y González-Aguilar, G. A. (2008). Microencapsulation of cinnamon leaf (*Cinnamomum zeylanicum*) and garlic (*Allium sativum*) oils in β -cyclodextrin. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 60, 359-368.
- Bakry, A., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M., Mousa, A. y Liang, L. (2015). Microencapsulation of oils: a comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 143-182.
- Beirao da Costa, S., Duarte, C. y Bourbon, A. I. (2012). Effect of the matrix system in the delivery and in vitro bioactivity of microencapsulated oregano essential oil. *Journal of Food Engineering*, 110(2), 190-199.
- Bejrappa, P., Choi, M. J., Surassmo, S., Chun, J. Y. y Min, S. G. (2011). Formulation and antimicrobial activity on *Escherichia coli* of nanoemulsion coated with whey protein isolate. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 31(4), 543-550.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-53.
- Chang, Y., McLandsborough, L. y McClements, D. V. (2013). Physicochemical properties and antimicrobial efficacy of carvacrol nanoemulsions formed by spontaneous emulsification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 8906-8913.
- Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B. y Mazza, G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1-2), 101-109.
- Dima, C., Cotarlet, M., Tiberius, B., Bahrim, G., Alexe, P. y Dima, S. (2014). Encapsulation of coriander essential oil in β -cyclodextrin: antioxidant and antimicrobial properties evaluation. *Romanian Biotechnological Letters*, 19(2), 9128-9140.
- Donsì, F., Annunziata, M., Sessa, M. y Ferrari, G. (2011). Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *Food Science and Technology*, 44, 1908-1914.
- Fernández-Serrano, P. (2015). *Emulsiones como sistemas de liberación de antimicrobianos naturales en alimentos* (tesis de doctorado). Universidad Politécnica de Valencia.
- Fisher, K. y Phillips, C. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Food Science and Technology*, 19(3), 156-164.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley A. y Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40, 1107-1121.
- Hernández-Hernández, E., Regalado-González, C., Vázquez-Landaverde, P., Guerrero-Legarreta, I. y García-Almendárez, B. E. (2014). Microencapsulation, chemical characterization, and antimicrobial activity of mexican (*Lippia graveolens* H. B. K.) and european (*Origanum vulgare* L.) oregano essential oils. *The Scientific World Journal*, 14,1-12.
- Holley, R. y Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22(4), 237-292.
- Kalemba, D. y Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10(10), 813-829.
- López-Malo, A., Palou, E., León-Cruz, R. y Alzamora, S. (2005). Mixtures of natural and synthetic antifungal agents. *Advances in Food Mycology*, 571(4), 261-286.
- Mohamed, A. A., El-Emary, G. A. y Ali, H. F. (2010). Influence of some citrus essential oils on cell viability, glutathione-S-transferase and lipid peroxidation in Ehrlich ascites carcinoma cells. *Jam Science*, 6, 820-826.
- Okoh, O.O., Sadimenko, A.P. y Afolayan, A.J. (2010). Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chemistry*, 12, 308-312.
- Pan, K., Chen, H., Davidson, P. M., y Zhong, Q. (2014). Thymol nanoencapsulated by sodium caseinate: physical and antilisterial properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 1649-1657.
- Radulović, N. S., Blagojević, P. D., Stojanović-Radić, Z. Z. y Stojanović, N. M. (2013). Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action. *Current Medicinal Chemistry*, 20(7), 932-952.
- Shah, B., Davidson, P. M. y Zhong, Q. (2012). Nanocapsular dispersion of thymol for enhanced dispersibility and increased antimicrobial effectiveness against *Escheri-*

chia coli O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in model food systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(23), 8448-8453.

- Solórzano-Santos, F. y Miranda-Novales, M. (2012). Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 136-141.
- Teodoro, R. A. R., De Barros, R. V., Botrel, D. A., Borges, S. V. y De Souza, A. U. (2014). Characterization of microencapsulated rosemary essential oil and its antimicrobial effect on fresh dough. *Food Bioprocess Technology*, 7, 2560-2569.
- Tongnuanchan, P. y Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food. *Journal of Food Science*, 79(7), 1231-1249.
- Wang, Y., Lu, Z., Wu, H. y Lv, F. (2009). Study on the antibiotic activity of microcapsule curcumin against foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 13, 71-74.
- Weiss, J., Gaysinsky, S., Davidson, M., y McClements, J. (2009). Nanostructured encapsulation systems: food antimicrobials. In G. V. Barbosa-Cánovas, A. Mortimer, D. Lineback, W. Spiess and K. Buckle (Eds.), *IUFoST world congress book: Global issues in food science and technology* (425-479). Amsterdam: Elsevier Inc.
- Zuidam, N. y Nedovic, V. (2010). *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing* (1^{era} ed.). New York: Springer New York.

Betalainas: importancia, presencia en vegetales y sus aplicaciones en la industria alimentaria

A. González-Ortíz* y J. A. Guerrero-Beltrán

Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Universidad de las Américas Puebla

Ex hacienda Sta. Catarina Mártir, C.P. 72810, San Andrés Cholula, Puebla, México.

RESUMEN

Las betalainas son pigmentos nitrogenados solubles en agua que imparten colores, de amarillo a rojo, a los alimentos. Estos pigmentos están presentes de manera restringida en algunas familias de plantas relacionadas con el orden *Caryophyllales*. Las betalainas pueden estar presentes en las semillas, frutos, flores, hojas, tallos y/o en las raíces de las plantas. También son importantes por poseer actividad antioxidante.

Actualmente, las betalainas están siendo consideradas como una alternativa viable a los colorantes sintéticos, ya que el uso de éstos está cada vez más cuestionado por los consumidores. Los pigmentos extraídos del betabel son actualmente los más utilizados en la industria alimentaria como colorantes naturales, para dar coloración rojiza, mientras que otras fuentes de betalainas que pueden dar una coloración similar, son desaprovechadas. El objetivo de esta revisión es mostrar la importancia de las betalainas y su presencia en algunos alimentos, así como la aplicación que tienen en la industria de alimentos.

Palabras clave: betalainas, vegetales, pigmentos.

ABSTRACT

Betalains are water-soluble nitrogen-pigments which provide colors in a range from yellow to red. These pigments are present in a very restricted way, and just a few plant families related with the order of *Caryophyllales* contain them. Betalains can be present in seeds, fruits, flowers, leaves, stems and/or roots of plants. Betalains, apart from providing coloration to the fruits and other plant parts, they are important because they have antioxidant activity.

Nowadays, betalains are considered an alternative over synthetic colorants, because the application of synthetic colorants is constantly criticized by the consumers. Currently, only beet-root pigments are used in the food industry to provide red color, while the use of other vegetables with similar pigments are not used. The objective of this review is to show the importance of betalains and their presence in some foods, as well as their application in the food industry.

Keywords: betalains, vegetables, pigments.

* Programa de Doctorado
en Ciencia de Alimentos
Tel.: +52 222 229 2126
Dirección electrónica:
alfonso.gonzalezoz@udlap.mx
maria.barcenas@udlap.mx

Introducción

En la industria alimentaria los aditivos son muy utilizados para modificar las características de un alimento y mejorarlo. Los colorantes son un tipo de aditivos para otorgar o intensificar el color en un alimento. Éstos pueden ser de tipo natural (pigmentos) o sintético.

Los colorantes sintéticos son ampliamente utilizados, debido a que tienen ventajas al ser estables y estar estandarizados. Sin embargo, dado que algunas investigaciones, con resultados inconclusos, relacionan el consumo de colorantes sintéticos con ciertos efectos nocivos en la salud, los medios han llevado a los consumidores a pensar que los colorantes sintéticos son un problema y ha surgido la preocupación por evitar la ingesta de estos aditivos, lo cual ha dado lugar a considerar el uso de fuentes naturales de colorantes.

Los colorantes naturales provienen principalmente de vegetales, en particular aquellos de color amarillo, naranja o rojo. Las familias de plantas relacionadas con el orden *Caryophyllales* presentan tonalidades rojas intensas, además de un contenido importante de compuestos antioxidantes. Estas propiedades son atribuidas principalmente al contenido de betalainas.

La presente revisión se enfoca en las familias *Cactaceae* y *Amaranthaceae*, puesto que en algunas otras el contenido de betalainas no es suficiente para considerarlas como fuentes de pigmentos por la industria alimentaria, y/o carecen de información taxonómica, y/o no existe información suficiente sobre ellas, reportada. Por otro lado, los géneros como *Hylocereus*, *Stenocereus*, *Opuntia*, *Beta* y *Amaranthus*, son cultivados y comercializados en México. Estos géneros, comprenden un rango de color que va del amarillo al rojo/violeta, debido a que presentan compuestos betaláinicos, y al poseer un alto contenido de éstos, representan un campo cuyo estudio es de interés. Actualmente, los pigmentos provenientes del género *Beta*, ya se adicionan a algunos alimentos, pero presentan algunas desventajas, por eso la importancia del conocimiento de otras fuentes de pigmentos provenientes de México.

Revisión bibliográfica

1. Pigmentos

En el mundo vegetal, se producen diferentes pigmentos solubles en aceite, como los carotenoides y las clorofilas, así como también los solubles en agua, tales como el ácido carmínico, las antocianinas y betalainas. Los pigmentos actúan como una

señal de comunicación de los vegetales, a excepción del ácido carmínico, proveniente de un insecto. La coloración más notable se da en flores y frutos, de los cuales las plantas se aprovechan para atraer la atención de animales potencialmente polinizadores, que también puedan dispersar sus semillas (García, Gandía y Escribano, 2011).

Los carotenoides están ampliamente distribuidos entre el mundo vegetal, aunque también se pueden encontrar en bacterias, algas, hongos y animales. Son responsables de impartir colores amarillos, anaranjados y rojos. Sus dobles enlaces conjugados son los responsables de su coloración (Meléndez-Martínez, Vicario y Heredia, 2004). Por otro lado, las clorofilas son los pigmentos más abundantes en la naturaleza y otorgan una coloración verde. En el caso de los vegetales, las hojas pueden contener hasta 1 g/m² de estos pigmentos, aunque su concentración es muy variable (Manrique, 2003).

En cuanto a los pigmentos solubles en agua, el ácido carmínico es la materia prima para producir el pigmento color rojo, carmín, el cual se utiliza en las industrias alimentaria, textil y farmacéutica. Este colorante se obtiene a partir de las hembras de la cochinilla *Dactylopius coccus* Costa. El insecto es probablemente originario de Sudamérica; Perú es el principal productor mundial de cochinilla, pero su calidad no siempre cumple con los requerimientos del mercado en cuanto a uniformidad y concentración del ácido carmínico (Rodríguez *et al.*, 2005). Las antocianinas representan el grupo más estudiado de pigmentos hidrosolubles; son responsables de impartir colores que abarcan desde el rojo hasta el azul en vegetales. Los precursores de estos pigmentos ya son conocidos, así como también los beneficios que otorgan a la salud, por sus propiedades antioxidantes (Garzón, 2008). Las betalainas son compuestos que imparten una gama de colores de amarillo a rojo y actualmente se utilizan en la industria alimentaria para impartir color rojo. Este pigmento utilizado en la industria es derivado del betabel rojo (*Beta vulgaris*).

2. Generalidades e importancia de betalainas

Las betalainas son alcaloides derivados de la tirosina que se encuentran de manera restringida en el mundo vegetal. Se han identificado dos tipos diferentes de betalainas: las betaxantinas, de color amarillo/naranja (λ_{max} aproximada: 470 nm), que son los productos de condensación del ácido betalámico y compuestos amino clasificados; y las betacianinas, de color rojo (λ_{max} aproximada: 536 nm), que se forman por la glicosilación y acilación de ciclo-Dopa (ciclo-dehidroxifenilalanina) (Ayala y Beltrán, 2007). En las figuras 1 y 2, se presentan ejemplos de betaxantinas y betacianinas, respectivamente. El sistema

de dobles enlaces conjugados del ácido betalámico es el responsable del color de estos pigmentos (García *et al.*, 2011). A la mayoría de las betalainas naturales se les adjudica su nombre de acuerdo a la planta donde se han encontrado, al cual se ha añadido el sufijo cianina (de *kyanos*, -azul- en griego), para las betacianinas o xantina (de *xantos*, -amarillo- en griego), para las betaxantinas. Más de 50 moléculas diferentes de betacianinas y varias betaxantinas han sido aisladas e identificadas y a medida que los equipos analíticos mejoran, se van descubriendo nuevas moléculas (García *et al.*, 2011; Kugler, Stintzing y Carle, 2007; Wybraniec, Nowak-Wydra, Mitka, Kowalski y Mizrahi, 2007).

Las betalainas son susceptibles a factores ambientales tales como luz (Hughes y Smith, 2007), radiación UV (Tsurunaga

et al., 2013; Wang, Zhou, Sun, Li y Kawabata, 2012), concentración de sacarosa (Oh, Kim, Kim, J., Kwon y Lee, 2011), temperatura, salinidad (Chaves, Flexas y Pinheiro, 2009; Duarte, Santos, Marques, y Caçador, 2013), pH, oxígeno y actividad de agua (Cai, Sun y Corke, 2005). Por ejemplo, al calentar una solución de betanina se produce una reducción gradual del color rojo característico con la aparición de pardeamiento. Así mismo, las betalainas presentan mayor estabilidad en sistemas con baja actividad de agua, ya que en éstos el agua se encuentra menos disponible para que ocurran reacciones químicas que las degraden. En general, las betalainas son más estables a temperaturas inferiores a 25°C, valores de pH entre 3 y 7, y ausencia de luz, oxígeno y enzimas degradativas (García *et al.*, 2011).

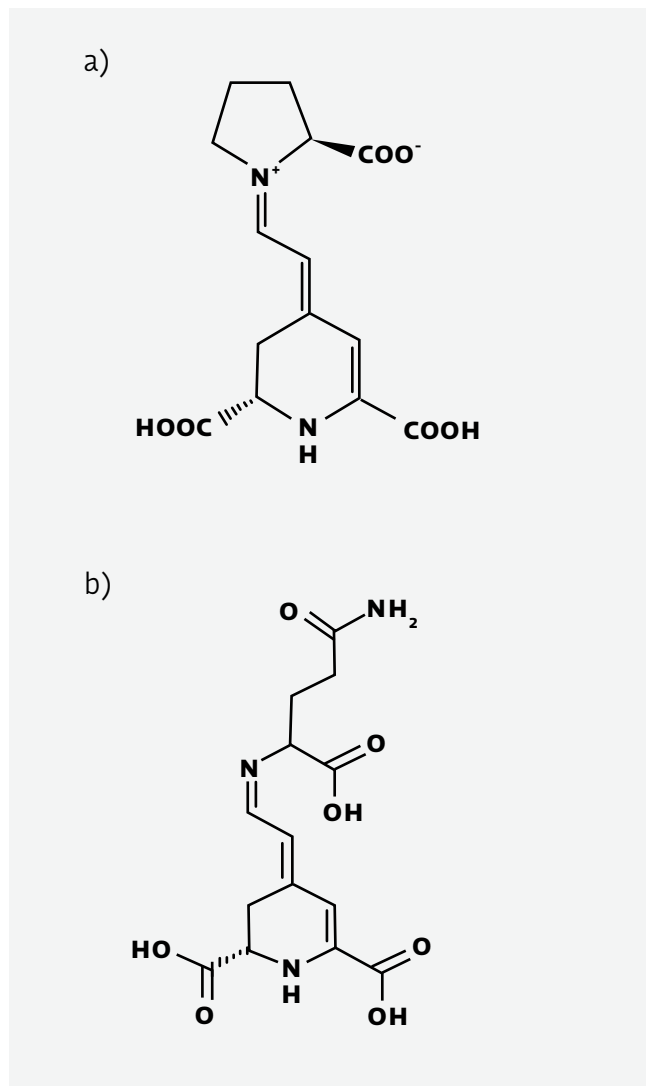


Fig. 1. Estructura química de indicaxantina (a) y vulgaxantina I (b), derivadas de betaxantina.

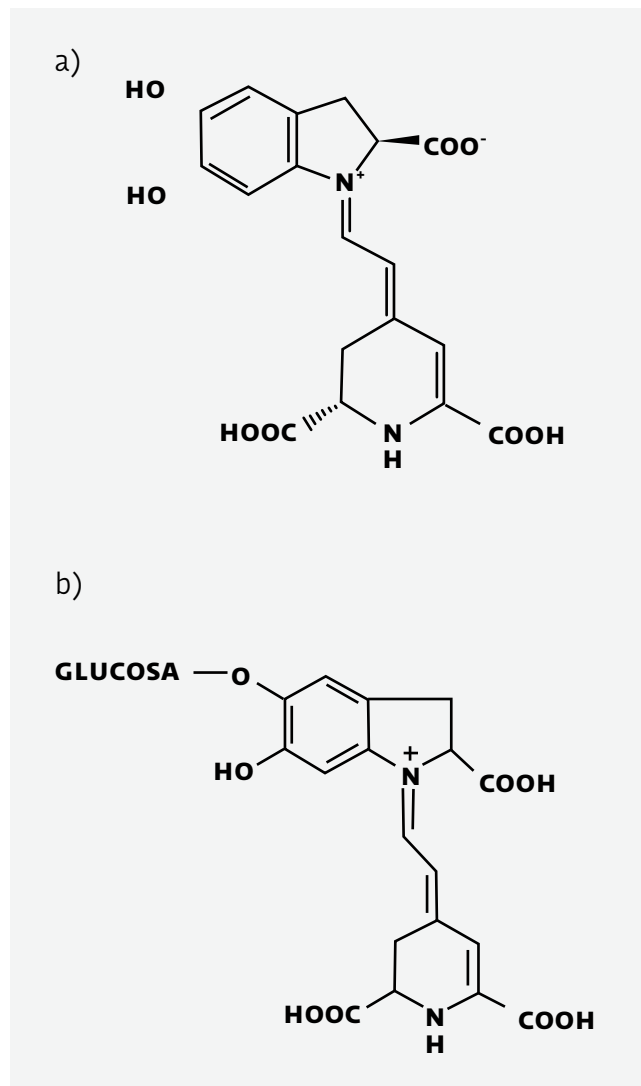


Fig. 2. Estructura química de betanidina (a) y betanina (b), derivadas de betacianina.

En cuanto a las vías de degradación de las betalainas, las principales son las siguientes:

- » Isomerización: la betanina se isomeriza en el carbono C_{15} a isobetanina, en condiciones ácidas, alcalinas y en tratamientos térmicos.
- » Desglicosilación: la molécula de glucosa puede separarse de la betanina bajo condiciones ácidas, altas temperaturas y presencia de β -glucosidasa, formando un compuesto de menor estabilidad, ya que es más susceptible a oxidarse.
- » Hidrólisis: se produce una ruptura hidrolítica del enlace aldmina, causada por tratamientos térmicos y en sistemas con pH mayor a 6. Este proceso disminuye la intensidad del color, debido a que se genera ácido betalámico (amarillo brillante) y ciclo-Dopa-5-O-B-glucósido (incoloro).
- » Descarboxilación: en las betacianinas puede ocurrir en los carbonos C_2 , C_{15} y C_{17} , mientras que en las betaxantinas en los carbonos C_{11} y C_{13} . Cuando esta reacción ocurre en el carbono C_{17} , las características cambian y se genera un compuesto de coloración rojo-naranja (Vergara, 2013).

La actividad antioxidante de las betalainas se atribuye a los grupos fenólicos y amino cíclicos, presentes en su estructura, por lo cual son capaces de donar átomos de hidrógeno y/o electrones a radicales libres (Moreno, García y Gil, 2008). Clifford, Howatson, West y Stevenson (2015) también sugieren que esta capacidad antioxidante probablemente se deba a la gran capacidad de las betalainas para donar electrones, así como a su habilidad de desactivar radicales altamente reactivos que atacan las células de la membrana. La actividad antioxidante de las betalainas ha sido demostrada en diversos estudios, tanto en modelos químicos como biológicos. Se encontró que las betalainas de betabel podían eliminar un 75% de radicales de aniones de superóxido, medidos usando espectroscopia electromagnética (Canadanovic-Brunet *et al.*, 2011). Probablemente, las betalainas modulen el desbalance intrínseco entre las especies oxidantes y el sistema defensivo antioxidante del organismo y generen un ambiente celular favorable, para contrarrestar el estrés oxidativo (Esatbeyoglu *et al.*, 2014a). Esquivel, Stintzing y Carle (2007), mencionan que las betalainas contienen estructuras de compuestos fenólicos y no fenólicos, los cuales son responsables de aumentar la capacidad antioxidante considerablemente. Además de la capacidad antioxidante de las betalainas, éstas presentan una ventaja considerable, ya que su color es independiente del valor del pH (Esatbeyoglu, Wagner, Schini-Kerth y Rimbach, 2014b).

3. Betalainas en vegetales

Las betalainas son pigmentos que se encuentran restringidos a las familias de plantas del orden *Caryophyllales* y al género *Amanita* de los *Basidiomycetes* (García *et al.*, 2011; García-Cruz, Salinas-Moreno y Valle-Guadarrama, 2012). Ehrendorfer (1976) argumenta que la presencia de las betalainas se dio como consecuencia de un evento evolutivo inusual en el que los ancestros de las plantas de familias de *Caryophyllales* evolucionaron en condiciones áridas y semiáridas y, al prevalecer la polinización por causa del viento, no fue necesario atraer a los polinizadores, esto causó que se detuviera la producción de las antocianinas. Posteriormente, se requirió nuevamente la producción de pigmentos y éstos regresaron en forma de betalainas.

Entre los vegetales que producen compuestos betalainicos, algunos los presentan en los órganos inmaduros, algunos en los maduros y otros durante toda su vida; además, su síntesis puede encontrarse restringida a los órganos reproductivos, como las flores o frutos, o pueden encontrarse tanto en estructuras vegetativas como reproductivas, como hojas y flores (Gengatharan, Dykes y Sim, 2015). Por ejemplo, en el género *Amaranthaceae*, las betalainas se pueden encontrar tanto en hojas como en flores; en los géneros *Hylocereus*, *Stenocereus* y *Opuntia*, se pueden encontrar en los frutos; en el género *Beta*, en la raíz, y en el género *Rheum*, en el tallo.

Actualmente, la única fuente explotada de betalainas para su uso como pigmento, es el betabel. Sin embargo, hay que considerar que éste sólo imparte colores de rojo a violeta, y en la industria también hay una necesidad por obtener un pigmento amarillo soluble en agua; por lo tanto, las betaxantinas son de interés. Otra fuente de betalainas es la *Phytolacca americana* L., pero ha sido prohibida como pigmento en la industria alimentaria, debido a la presencia de saponinas y lecitinas tóxicas (Gengatharan *et al.*, 2015).

3.1. Amaranto

El amaranto (*Amaranthus tricolor* L.) es una planta cuya variedad de colores va de rojo a morado. El amaranto rojo y el verde son los dos tipos de amaranto mayormente cultivados. El amaranto podría considerarse como uno de los vegetales más importantes en los trópicos de África y Asia (Khandaker, Babar y Oba 2009). Esta planta genera gran cantidad de biomasa, la cual contiene un alto nivel de pigmentos provenientes de betalainas (Cai *et al.*, 2005). En sus sectores verdes, se puede encontrar una mayor concentración de betaxantinas amarillentas; mientras que, en los sectores rojos de la planta, se

encuentran betacianinas de color violeta (Teng, Chen y Xiao, 2016). Las principales betacianinas presentes en *Amaranthus tricolor* son amarantina e isoamarantina. Biswas, Dey y Sen (2013) obtuvieron un total de 7.73 mg/100 g de betalainas en la variedad *A. tricolor*. Por otro lado, Khandaker, *et al.* (2009) realizaron un estudio con siete distintos cultivares de amaranto (*Amaranthus tricolor* L.) y observaron que el tiempo en que se realiza la cosecha influye sobre la concentración de las betacianinas, ya que las plantas cosechadas a los veinte días después de la temporada de nevado tuvieron una concentración de betacianinas menor que las plantas cosechadas a los treinta días. Además, las variedades BARI-1 y Rocto joba, fueron las que presentaron un mayor contenido de betacianinas (44.7 mg/100 g). Chong *et al.* (2014) analizaron la variedad *A. betacyanins* y concluyeron que ésta tiene el potencial de ser utilizada como una fuente de estos pigmentos, debido a su contenido de betacianina, el cual fue de 62 mg/100 g.

3.2. Betabel

El betabel (*Beta vulgaris*) es uno de los alimentos con mayor concentración de betalainas, siendo la betanina, la isobetanina y la betanidina las más abundantes (Guneser, 2016; García-Cruz *et al.* 2012; Slatnar, Stampar, Veberic y Jakopic, 2015). Además, se ha encontrado que existe un nivel de betalainas diferente en la pulpa, cáscara y peciolo de la fruta. Slatnar *et al.* (2015) estudiaron frutos de color amarillo y rojo, y en aquellos de color rojo encontraron que, del contenido total de betalainas, la betanina representa el 64.31 a 69.11% en la cáscara, 0.67 a 1.02% en la pulpa y 0.47 a 0.61% en el peciolo. En la cáscara se presenta un mayor contenido de betanina, comparado con las otras partes de la fruta. Entre los diferentes cultivares, se encontró que algunas betacianinas específicas se encuentran en mayor o menor concentración en hojas, peciolos y pulpa, dependiendo del cultivar. Al encontrar estas variaciones, se hace la sugerencia de trabajar en conjunto con las diferentes partes del betabel, para la producción de pigmentos.

Por otro lado, Georgiev *et al.* (2010) encontraron que el contenido de betalainas del betabel puede ser mayor a 39.76 µg/g, por lo que se considera una fuente excepcional de compuestos antioxidantes.

3.3. Pitaya

La pitaya roja (*Stenocereus griseus*) es una fruta producida por una planta de la familia de las cactáceas (Ochoa-Velasco y Guerrero-Beltrán, 2013). Es originaria de México, principalmente de las regiones áridas y semi-áridas del río Balsas y el Valle de

Tehuacán (García-Cruz, Valle-Guadarrama, Salinas-Moreno y Joaquín-Cruz, 2013). La fruta es una baya poliespermática de forma globosa u ovoide, con espinas; su pulpa puede ser de color amarillo-anaranjado, rojo o púrpura, color característico otorgado por las betalainas. Dependiendo del color del fruto, ya sea con más tendencia hacia el amarillo o hacia el rojo, será la concentración de los compuestos betaláinicos; entre más rojo el fruto, más contenido de betacianinas y entre más amarillo, más contenido de betaxantinas (García-Cruz *et al.*, 2012).

García-Cruz *et al.* (2012) reportan valores de 199.06 mg/100 g de muestra seca de betacianinas, 147.61 mg/100 g de muestra seca de betaxantinas y 347.30 mg/100 g de muestra seca de betalainas totales, para pitaya roja; y 37.6 mg/100 g de muestra seca de betacianinas, 177.37 mg/100 g de muestra seca de betaxantinas y 215.04 mg/100 g de muestra seca de betalainas totales, para pitaya naranja. Además, Rodríguez-Sánchez, Cruz y Barragán-Huerta (2016) reportan valores de betalainas totales de 243.6 mg/100 g para pitaya amarilla, siendo las betaxantinas las responsables del 89% de las betalainas. Por otro lado, Wu *et al.* (2006) reportan valores para betalainas totales de 10.3 mg/100 g de pulpa, en pitaya roja, asimismo, que la cáscara de la pitaya roja, con un mayor contenido de betacianinas comparado con la pulpa, presenta una mayor actividad antioxidante. Al comparar los datos reportados por estos autores, se observan diferencias importantes, las cuales pueden deberse a las distintas procedencias y variedades de la fruta, así como al método de determinación implementado, tal y como muestran Pérez-Loredo, Hernández-De y Barragán-Huerta (2017), al encontrar diferentes concentraciones de betalainas al aplicar diversos pretratamientos a la pulpa. Por otro lado, se realizó una clasificación de pobres, buenas y excelentes fuentes de betalainas a los frutos de treinta cactáceas de diversos géneros y los resultados indican que el género *Stenocereus* de la variedad *stellatus*, proveniente de Puebla, México, se situó en la clasificación de «buena» fuente de pigmentos (Pérez-Loredo, García-Ochoa y Barragán-Huerta, 2016).

3.4. Tuna

La tuna (*Opuntia ficus-indica*), fruta del nopal perteneciente a la familia de las cactáceas, se caracteriza por tener distintos colores con tonalidades púrpura, roja, anaranjada, amarilla, blanca, verde y rosa (Sáenz, 2006; Ochoa-Velasco y Guerrero, 2010). El fruto tiene una cáscara gruesa, espinosa y con una pulpa abundante en semillas. El fruto maduro es una baya oval con diámetro de entre 5.5 y 7 cm, con una longitud de 5 a 11 cm, y un peso variable entre 43 y 220 g; su temporada de reco-

lección es en torno a los meses de julio y septiembre (Gutiérrez, 2014). Entre las betacianinas encontradas en la tuna, está principalmente la betanina y en menores niveles la isobetanina, y entre las betaxantinas se encuentra la indicaxantina.

En estudios recientes, se ha encontrado que el contenido de betacianinas (expresadas como betanina) y betaxantinas (expresadas como indicaxantina) es de 28.09 mg/100 g y 9.96 mg/100 g, respectivamente, en tuna roja (Sáenz, Tapia, Chavez y Robert, 2009). Por otro lado, Aquino *et al.* (2012) reportaron las concentraciones de betalainas de siete variedades de tuna, concluyendo que el contenido de betanina en las diferentes variedades es más bajo que los reportados para pitaya roja. Aquino *et al.* (2012) reportan resultados del contenido de betaninas en la variedad Apastillada, con un valor alrededor de 27 mg/100 g, el cual se asemeja a los valores reportados por Sáenz *et al.* (2009). Además, los valores reportados por Aquino *et al.* (2012) muestran una alta variabilidad del contenido de betalainas dependiendo de las variedades, al igual que en la pitaya.

3.5 Pitahaya

La pitahaya (*Hylocereus undaus* Haw.) es una cactácea nativa de América, la cual se adapta fácilmente al medio en el que se encuentra. El fruto alcanza su mayor aceptación sensorial entre los 25 y 31 días después del periodo de floración (Centurión, Solís, Saucedo, Báez y Sauri, 2008). La problemática se encuentra en que la vida útil de los frutos es muy corta, cuando éstos son lo suficientemente maduros para ser cosechados. Osuna *et al.* (2011) definen como madurez inicial, media y completa, cuando el ángulo de matiz se encuentra en 31.8, 15.6 y 8.3, respectivamente, indicando colores rojo-naranja, rojo y rojo-púrpura, respectivamente. En un estudio llevado a cabo con esta fruta, Ochoa-Velasco *et al.* (2012) observaron una mayor actividad antioxidante en pitahaya de color rojo, seguida por la pitahaya de color rosa y después por la de color blanco, correspondientes a 160.8, 124.5 y 58.9 mg de Trolox/100 mL de muestra, respectivamente. Las betalainas tienen estructuras de compuestos fenólicos y no fenólicos, los cuales son responsables de proporcionar la mayor capacidad antioxidante en estas frutas, sobre aquellos compuestos no betalainicos. Debido a que las betalainas son las responsables de dar color rojo (betaninas) y amarillo (betaxantinas), las pitahayas rojas van a poseer una mayor capacidad antioxidante sobre aquellas que son de color rosa y color blanco, siendo las de color blanco las que tienen menor contenido de betalainas y, por ende, menor capacidad antioxidante.

Las betacianinas son responsables de la coloración característica de la cáscara de la pitahaya. La síntesis de estos compuestos

es activada por la alta disponibilidad de azúcares y presencia de luz, entre otros factores, lo cual explica el por qué, conforme va madurando la fruta, va cambiando de color, hasta alcanzar aquel correspondiente al rojo (Centurión *et al.*, 2008). Priatni y Pradita (2015) estudiaron la cáscara de pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) y reportan valores del contenido de betacianinas de 515.20 µg/100 g y 491.16 µg/100 g, extraídas con metanol y agua, respectivamente. Por otro lado, Faridah, Holinesti y Syukri (2015) reportan un contenido de 73 mg/100 g de betalainas totales en cáscara de pitahaya. Así mismo, Mello *et al.* (2015) reportan un contenido de betalainas totales de 101 mg/100 g en cáscara de pitahaya.

4. Usos de las betalainas en alimentos

Hasta ahora, las únicas betalainas usadas en alimentos son las disponibles en forma de extractos concentrados o liofilizados de betabel. Éstas se utilizan en la industria alimentaria, para modificar el color correspondiente a los aditivos denominados E-162. Estos aditivos son aquellos que han pasado controles de seguridad, aprobados para su uso en la Unión Europea y pertenecen a la categoría de colorantes rojos. Se encuentran en yogures, cremas, helados, salchichas, jamón cocido, galletas, dulces y jugos. La concentración requerida de pigmento puro para obtener el tono adecuado es relativamente pequeña, ya que raramente se exceden los 50 mg por kilogramo de betanina (Manoharan, Ramasamy, Naresh, Dhanalashmi y Balakrishnan, 2012). El problema que presentan las betalainas provenientes de raíz de betabel es que imparten sabor a tierra, debido a la presencia de geosminas (compuestos que producen ciertos microorganismos del suelo) (García *et al.*, 2011).

Conclusiones y comentarios finales

Debido a su capacidad para impartir color, a su origen natural y a su potencial como antioxidantes, las betalainas han cobrado interés entre los investigadores y la industria de alimentos. Hasta el momento, las betalainas provenientes del betabel son las más estudiadas y han sido las únicas usadas como colorantes en productos alimenticios, pero tienen el inconveniente de que afectan el sabor de los alimentos en los que se adicionan.

Otros productos como el amaranto y los frutos de algunas cactáceas, son buenas fuentes de estos pigmentos, por lo que constituyen una alternativa al betabel; y aunque ya han sido considerados por algunos investigadores, el estudio de la obtención y las características de sus betalainas en forma más amplia y profunda, así como el de la aplicación de éstas en

productos alimenticios, representa un área de oportunidad en la investigación sobre colorantes naturales.

Agradecimientos

Alfonso González Ortiz agradece a la Universidad de las Américas Puebla por el apoyo y financiamiento para estudiar el Doctorado en Ciencia de Alimentos.

Lista de referencias

- Aquino, E., Chavarria, Y., Chávez, J., Guzmán, R., Silva, E. y Verdalet, I. (2012). Caracterización fisicoquímica de siete variedades de tuna (*Opuntia* spp.) color rojo-violeta y estabilidad del pigmento de las dos variedades con mayor concentración. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 55, 3-10.
- Ayala, K y Beltrán, M. (2007). Determinación e identificación parcial del contenido de pigmentos betalainas en la pulpa de cuatro variedades de pitaya *Stenocereus griseus* H. IX Congreso de Ciencia de los Alimentos y V Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Disponible en www.respyn.uanl.mx/especiales/2007/ee-12-2007/documentos/CNCA-2007-37.pdf
- Biswas, M., Dey, S. y Sen, R. (2013). Betalains from *Amaranthus tricolor* L. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(5), 87-95.
- Cai, Y., Sun, M. y Corke, H. (2005). Characterization and application of betalain pigments from plants of the *Amaranthaceae*. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 370-376.
- Canadanovic-Brunet, J., Savatovic, S., Cetkovic, G., Vulic, J., Djilas, S., Markov, S. y Cvetkovic, D. (2011). Antioxidant and antimicrobial activities of beet root pomace extracts. *Czech Journal of Food Science*, 29, 575-585.
- Centurión, A., Solís, S., Saucedo, C., Báez, R. y Sauri, E. (2008). Cambios físicos, químicos y sensoriales en frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) durante su desarrollo. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 31, 1-5.
- Chaves, M. M., Flexas, J. y Pinheiro, C. (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, 103, 551-560.
- Chong, P., Yusof, Y., Aziz, M., Nazli, N., Chin, N. y Muhammad, S. (2014). Evaluation of solvent extraction of *Amaranth betacyanins* using multivariate analysis. *International Food Research Journal*, 21(4), 1569-1573.
- Clifford, T., Howatson, G., West, D. y Stevenson, E. (2015). The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients*, 7(4), 2801-2822.
- Duarte, B., Santos, D., Marques, J. C. y Caçador, I. (2013). Ecophysiological adaptations of two halophytes to salt stress: photosynthesis, PS II photochemistry and antioxidant feedback - implications for resilience in climate change. *Plant Physiology and Biochemistry*, 67C, 178-188.
- Ehrendorfer, F. (1976). Closing remarks: systematics and evolution of centrosperous families. *Plant Systematics and Evolution* 126, 99-106.
- Esatbeyoglu, T., Wagner, A., Motafakkerazad, R., Nakajima, Y., Matsugo, S. y Rimbach, R. (2014a). Free radical scavenging and antioxidant activity of betanin: electron spin resonance spectroscopy studies and studies in cultured cells. *Food Chemistry and Toxicology*, 73, 119-126.
- Esatbeyoglu, T., Wagner, A., Schini-Kerth, V. y Rimbach, G. (2014b). Betanin - A food colorant with biological activity. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(1): 36-47.
- Esquivel, P., Stintzing, F. y Carle, R. (2007). Fruit characteristics during growth and ripening of different *Hylocereus* genotypes. *European Journal of Horticultural Science*, 72, 231-238.
- Faridah, A., Holinesti, R. y Syukri, D. (2015). Betalains from red pitaya peel (*Hylocereus polyrhizus*): Extraction, spectrophotometric and HPLC-DAD identification, bioactivity and toxicity screening. *Pakistan journal of nutrition*, 14, 976-982.
- García, F., Gandía, F. y Escribano, J. (2011). Flores fluorescentes. *Investigación y Ciencia*, 145, 50-57.
- García-Cruz, L., Salinas-Moreno, Y. y Valle-Guadarrama, S. (2012). Betalains, phenolic compounds and antioxidant activity in pitaya de mayo (*Stenocereus griseus* H.). *Revista Fitotecnica Mexicana*, 35(5), 1-5.
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y. y Joaquín-Cruz, E. (2013). Physical, chemical, and antioxidant activity characterization of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68, 403-410.
- Garzón, G. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 27-36.
- Gengatharan, A., Dykes, G. y Sim, W. (2015). Betalains: Natural plant pigments with potential application in Functional Foods. *LWT - Food Science and Technology*, 64, 645-649.
- Georgiev, G., Weber, J., Kneschke, E., Denev, P., Bley, T. y Pavlov,

- A. (2010). Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit dark red. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65, 105-111.
- Guneser, O. (2016). Pigment and color stability of beetroot betalains in cow milk during thermal treatment. *Food Chemistry*, 196, 220-227.
- Gutierrez, N. (2014). Nopal Tuna. *Secretaría de Desarrollo Rural, Gobierno del Estado de Jalisco*. Disponible en <http://seder.jalisco.gob.mx/catalogo-plantas/nopal-tuna>
- Hughes, N. M. y Smith, W. K. (2007). Seasonal photosynthesis and anthocyanin production in 10 broadleaf evergreen species. *Functional Plant Biology Journal*, 34, 1072-1079.
- Khandaker, L., Babar, M. y Oba, S. (2009). Influence of cultivar and growth stage on pigments and processing factor on betacyanins in red amaranth (*amaranthus tricolor* L.). *Food Science and Technology International*, 15(3), 259-265.
- Kugler, F., Stintzing, F. C. y Carle, R. (2007). Characterisation of betalain patterns of differently coloured inflorescences from *Gomphrena globosa* L. and *Bougainvillea* sp. by HPLC-DAD-ESI-MSn. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387, 637-648.
- Manoharan, A., Ramasamy, D., Naresh, C., Dhanalashmi, B. y Balakrishnan, V. (2012). Organoleptic evaluation of beetroot juice as natural color for strawberry flavor ice cream. *Journal of Dairy Sciences*, 6(1), 5-7.
- Manrique, E. (2003). Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. *Ecosistemas*, 12(1), 1-11.
- Meléndez-Martínez, J., Vicario, I. y Heredia, F. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(2), 209-215.
- Mello, F. R., Bernardo, C., Dias, C. O., Gonzaga, L., Amante, E. R., Fett, R. y Candido, L. M. B. (2015). Antioxidant properties, quantification and stability of betalains from pitaya (*hylocereus undatus*) peel. *Ciência Rural*, 45, 323-328.
- Moreno, D., García, C. y Gil, J. (2008). Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochemistry Reviews*, 7, 261-280.
- Ochoa-Velasco, C. y Guerrero-Beltrán, J. A. (2010). La tuna: una perspectiva de su producción, propiedades y métodos de conservación. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 4(1), 49-63.
- Ochoa-Velasco, C. y Guerrero-Beltrán, J. A. (2013). Short-wave ultraviolet-C light effect on pitaya (*Stenocereus griseus*) juice inoculated with *Zygosaccharomyces bailii*. *Journal of Food Engineering*, 117, 34-41.
- Ochoa-Velasco, C., García-Vidal, V., LunaGuevara, J., Luna-Guevara, M., Hernández-Carranza, P. y Guerrero-Beltrán, J. A. (2012). Características antioxidantes, fisicoquímicas y microbiológicas de jugo fermentado y sin fermentar de tres variedades de pitahaya (*Hylocereus* spp). *Scientia Agropecuaria*, 3, 279-289.
- Oh, J. E., Kim, Y., Kim, J., Kwon, Y. y Lee, H. (2011). Enhanced level of anthocyanin leads to increased salt tolerance in Arabidopsis PAP1-D plants upon sucrose treatment. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 54, 79-88.
- Osuna, T., Ibarra, M., Dolores, M., Valdez, J., Villarreal, M. y Hernández, S. (2011). Postharvest quality of pitahaya (*Hylocereus undatus* Haw.) fruits harvested in three maturity stages. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34(1), 63-72.
- Pérez-Loredo, M., García-Ochoa, F. y Barragán-Huerta, B. (2016). Comparative analysis of betalain content in *Stenocereus stellatus* fruits and other cactus fruits using principal component analysis. *International Journal of Food Properties*, 19, 326-338.
- Pérez-Loredo, M., Hernández-De, L. y Barragán-Huerta, B. (2017). Extracción de compuestos bioactivos de pitaya roja (*Stenocereus stellatus*) aplicando pretratamientos con microondas, ultrasonido y enzimáticos. *Agrociencia*, 51, 135-151.
- Priatni, S. y Pradita, A. (2015). Stability Study of betacyanin extract from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peels. *Procedia Chemistry*, 16, 438-444.
- Rodríguez, L., Faúndez, E., Seymour, J., Escobar, C., Espinosa, L., Petroutsas, M., Ayres, A. y Niemeyer, H. (2005). Factores bióticos y concentración de ácido carmínico en la cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) (Homoptera: Dactylopiidae). *Agricultura Técnica*, 65(3), 323-329.
- Rodríguez-Sánchez, J., Cruz, M. y Barragán-Huerta, B. (2016). Betaxanthins and antioxidant capacity in *Stenocereus pruinosus*: Stability and use in Food. *Food Research International*, 91, 63-71.
- Sáenz, C. (2006). Utilización agroindustrial del nopal. Roma, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. *Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO*, 162, 165.
- Sáenz, C., Tapia S., Chavez, J. y Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114, 616-622.

- Slatnar, A., Stampar, F., Veberic, R. y Jakopic, J. (2015). HPLC-MS identification of betalain profile of different beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *Vulgaris*) parts and cultivars. *Journal of Food Science*, 80(9), C1952-C1959.
- Teng, X., Chen, N. y Xiao, X. (2016). Identification of a catalase-phenol oxidase in betalain biosynthesis in red amaranth (*Amaranthus cruentus*). *Frontiers in Plant Science*, 6, 1228.
- Tsurunaga, Y., Takahashi, T., Katsube, T., Kudo, A., Kuramitsu, O., Ishiwata, M. y Matsumoto, S. (2013). Effects of UV-B irradiation on the levels of anthocyanin, rutin and radical scavenging activity of buckwheat sprouts. *Food Chemistry*, 141, 552-556.
- Vergara, C. (2013). Extracción y estabilización de betalainas de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) mediante tecnología de membranas y microencapsulación, como colorante alimentario. *Tesis doctoral*, Universidad de Chile.
- Wang, Y., Zhou, B., Sun, M., Li, Y. y Kawabata, S. (2012). UV-A light induces anthocyanin biosynthesis in a manner distinct from synergistic blue + UV-B light and UV-A/ blue light responses in different parts of the hypocotyls in turnip seedlings. *Plant Cell Physiology*, 53, 1470-1480.
- Wu, L., Hsu, H., Chen, Y., Chiu, C., Lin, Y. y Ho, J. (2006). Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry*, 95, 319-327.
- Wybraniec, S., Nowak-Wydra, B., Mitka, K., Kowalski, P. y Mizrahi, Y. (2007). Minor betalains in fruits of *Hylocereus* species. *Phytochemistry*, 68, 251-259.

Coacervación compleja: una alternativa como método de microencapsulación

R. Hernández-Nava* y M. T. Jiménez-Munguía

Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Universidad de las Américas Puebla

Ex hacienda Sta. Catarina Mártir, C.P. 72810, San Andrés Cholula, Puebla, México.

RESUMEN

La coacervación compleja es una técnica que involucra la atracción electrostática entre dos biopolímeros de cargas opuestas que se encuentran rodeando a un compuesto de interés, que puede ser de naturaleza lipídica. Ésta es considerada como un método simple y de bajo costo, el cual produce microcápsulas con una superficie delgada y alto contenido de aceite, con excelentes características de liberación controlada del compuesto y resistencia al calor. Esta técnica ha sido empleada con el fin de aumentar la vida útil de ingredientes funcionales, tales como sabores y ácidos grasos poliinsaturados, otorgando la liberación controlada de éstos y permitiendo un procesamiento alternativo de los alimentos. El objetivo de esta revisión es presentar cómo se lleva a cabo el proceso de coacervación compleja; además de discutir los factores críticos que promueven su estabilidad.

Palabras clave: coacervación compleja, aceites, proteínas, polisacáridos, encapsulación.

ABSTRACT

Complex coacervation is a technique involving the electrostatic attraction between two oppositely charged biopolymers that surround a compound of interest, which may be lipid in nature. It is considered as a simple and low cost method, which produces microcapsules with a thin surface and high content of oil, with excellent characteristics of controlled release of the compound and resistance to the heat. This technique has been used to increase the shelf life of functional ingredients, such as flavors and polyunsaturated fatty acids, providing controlled release of these, and allowing alternative food processing. The objective of this review is to present how the process of complex coacervation is carried out; in addition to discussing critical factors that promote its stability.

Keywords: complex coacervation, oils, proteins, polysaccharides, encapsulation.

* Programa de Doctorado
en Ciencia de Alimentos
Tel.: +52 222 229 2126
Dirección electrónica:
ruth.hernandezna@udlap.mx
maria.barcanas@udlap.mx

Introducción

La microencapsulación es un método en el cual un material de interés es rodeado por una pared de revestimiento para formar pequeñas cápsulas. Ésta ha sido ampliamente utilizada para una variedad de aplicaciones alimenticias tales como el enmascaramiento del olor, prolongar los efectos organolépticos del sabor u otros marcadores sensoriales, y la protección de ingredientes de alimentos que son químicamente inestables en condiciones de almacenamiento (temperatura, humedad, oxígeno, etc.) (Yeo, Bellas, Firestone, Langer y Kohane, 2005; Bakry *et al.*, 2016). Una de las técnicas de microencapsulación aplicadas a alimentos es la coacervación compleja que involucra la atracción electrostática entre dos biopolímeros de cargas opuestas. La gelatina, especialmente el tipo A, como catión y goma de acacia como anión son los encapsulantes más comunes ampliamente utilizados en alimentos por esta técnica (Tamjidi, Nasirpour y Shahedi, 2012). Ésta técnica se ha utilizado para encapsular, proteger y suministrar ingredientes funcionales, tales como sabores y ácidos grasos poliinsaturados, con el fin de aumentar su vida útil en diferentes condiciones de almacenamiento, permitiendo un procesamiento alternativo de los alimentos, enmascarando el sabor o permitiendo la liberación controlada de los ingredientes encapsulados (Yan y Zhang, 2014). No obstante, las propiedades de las cápsulas finales son muy sensibles a parámetros como la estructura, el peso molecular y la densidad de carga de las proteínas y los polisacáridos utilizados como agentes encapsulantes; asimismo, los ingredientes contenidos en la cápsula también juegan un papel importante en la estabilidad de éstas. Por, lo anterior se continúan haciendo estudios sobre la aplicación de esta técnica en alimentos (Thies, 2016). El objetivo de esta revisión es presentar cómo se lleva a cabo el proceso de coacervación compleja, además de discutir los factores críticos que promueven su estabilidad.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Coacervación compleja

En el año de 1929, Bungenberg de Jong y Kruyt introducen el término coacervación y son considerados como los pioneros en investigar el fenómeno ocurrido entre un sistema gelatina-goma arábica (Bungenberg De Jong y Kruyt, 1929; Yan y Zhang,

2014). Posteriormente, la coacervación compleja ha sido estudiada y aplicada a diversos ámbitos, siendo el primer producto, el papel para copiar libre de carbón. En la industria de alimentos se han estudiado diversas posibilidades de aplicación, por ejemplo, en la protección de compuestos (aditivos, nutrientes, volátiles, vitaminas, minerales, ácidos grasos poliinsaturados), para aumentar su vida útil, para enmascarar el sabor o propiciar la liberación controlada de componentes encapsulados (Yan y Zhang, 2014). Esta técnica también se ha utilizado para encapsular aceites esenciales y se han hecho estudios sobre la encapsulación de clavo, hierbabuena, naranja dulce, alcanfor, lavanda, ajo, entre otros (Bakry *et al.*, 2016).

1.1. Principios y ventajas

La coacervación compleja consiste en la unión de dos biopolímeros de cargas opuestas que se unen para formar una pared que encapsula un material de interés. De acuerdo a la IUPAC (2014), la coacervación se define como la separación de un sistema coloidal en dos partes líquidas; dándose la coacervación compleja con la interacción de dos biopolímeros (proteína y polisacárido) de cargas opuestas interactuando en un medio acuoso. Lo anterior da como resultado dos fases líquidas inmiscibles, una pobre en polímeros y otra fase rica en éstos, también conocida como coacervado (Yan y Zhang, 2014; Thies, 2016). Entre los materiales encapsulados por esta técnica se encuentran los aceites comestibles, debido a que son químicamente inestables y susceptibles a deteriorarse especialmente cuando son expuestos a condiciones ambientales como oxígeno, humedad y calor; por lo que se ha buscado mantener sus propiedades biológicas y funcionales mediante la microencapsulación. Esta técnica produce microcápsulas estables con una superficie delgada y alto contenido de aceite. Asimismo, poseen excelentes características de liberación controlada y resistencia al calor. Además, este método es considerado como simple, de bajo costo, sin uso de disolventes, y reproducible para la obtención de aceites microencapsulados; por lo que podría ser usado en la industria (Yan y Zhang, 2014; Bakry *et al.*, 2016).

1.2. Proceso de encapsulación por coacervación compleja

La coacervación compleja consta de tres pasos: formación de la emulsión, formación del coacervado, formación de la pared o endurecimiento (figura 1).

» **Formación de la emulsión.** En este paso, el aceite comestible o material a encapsular es adicionado a una solución rica en biopolímeros, a una temperatura por arriba del punto de gelación y un pH mayor al punto isoeléctrico de la proteína usada como agente encapsulante, manteniéndose en constante agitación para obtener el tamaño de gota deseado (Yan y Zhang, 2014; Bakry *et al.*, 2016). Por ejemplo, en el caso de un coacervado formado por gelatina-goma arábica, inicialmente el material a encapsular (aceite comestible) es mezclado con una solución de gelatina hasta alcanzar la homogeneización, manteniendo la temperatura por arriba del punto de gelación (50°C). A la mezcla anterior, se le adiciona la goma arábica y se mezcla hasta alcanzar la homogeneización (figura 1).

» **Formación del coacervado.** El pH es ajustado por debajo del punto isoeléctrico de la proteína para iniciar las interacciones electrostáticas entre los polímeros de cargas opuestas en donde la proteína posee una carga positiva y el polisacárido una carga negativa. Como resultado las gotas de la fase dispersa se aglomeran y propician la separación de fases (Yan y Zhang, 2014; Bakry *et al.*, 2016). Por ejemplo, en un coacervado formado por gelatina-goma arábica, el pH es ajustado alrededor de 4.0 para propiciar las cargas opuestas entre la proteína y el polisacárido.

» **Formación de la pared / endurecimiento.** La temperatura del sistema es disminuida lentamente por debajo del punto de gelación de la proteína, generalmente alcanzando temperaturas de refrigeración, dando lugar a la formación de la pared, debido a la acumulación de la fase rica en polímeros alrededor del material de interés. Posteriormente, el endurecimiento puede lograrse mediante el entrecruzamiento que se discutirá más adelante (Yan y Zhang, 2014; Bakry *et al.*, 2016).

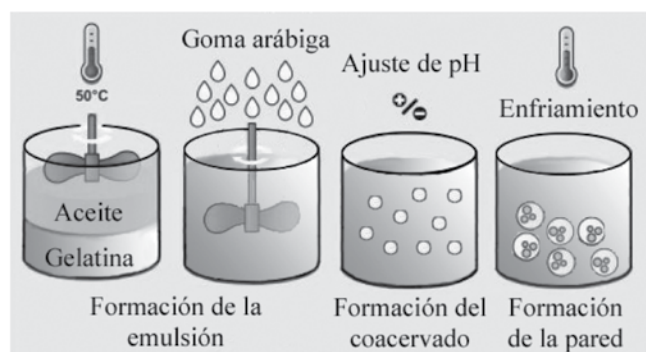


Fig. 1. Etapas de la coacervación compleja usando gelatina y goma arábica

2. Factores críticos en la coacervación compleja

La coacervación es altamente sensible a muchos factores, tales como el tipo de material a encapsular y su concentración, como ocurre con los aceites comestibles, la naturaleza de las proteínas y los polisacáridos usados como agentes encapsulantes, debido a la fuerza iónica requerida para que ocurra la atracción de cargas opuestas entre estos biopolímeros (Yan y Zhang, 2014; Thies, 2016).

2.1. Tipo de compuesto lipídico y su concentración

La adsorción en la fase oleosa puede modificar la eficiencia de la coacervación, siendo factores importantes la naturaleza del compuesto lipídico y la concentración de éste. Prata y Grosso (2015) estudiaron aceites de diferentes características (vegetal, mineral y esencial) encontrando distintas eficiencias de encapsulación, rendimiento de coacervación y características morfológicas, siendo el aceite esencial el que presentó la mejor estabilidad y la mayor eficiencia de encapsulación, debido a los compuestos hidrofílicos presentes en éste que pueden actuar como tensoactivos. Por otra parte, a bajas concentraciones de aceite comestible existen microcápsulas conteniendo menos material en el núcleo debido a que hay un exceso de material encapsulante. Al aumentar la concentración de aceite comestible, la cantidad de éste en el núcleo de las microcápsulas aumenta. No obstante, a altas concentraciones de aceite comestible y bajas proporciones de agentes encapsulantes, se reduce la cantidad de aceite encapsulado debido a la disminución de la formación de coacervados. Se ha demostrado que a concentraciones de aceite de pescado por debajo del 3% y mayores al 10%, se disminuye la cantidad de aceite encapsulado (Tamjidi *et al.*, 2012).

2.2. Agentes encapsulantes

Los agentes encapsulantes son de gran interés en la industria de alimentos, ya que éstos deben cumplir con regulaciones estrictas y no repercutir en el costo del producto final (Gouin, 2004; Kralovec, Zhang, Zhang y Barrow, 2012). Asimismo, éstos afectan la estabilidad de las cápsulas, la eficiencia del proceso y el grado de protección de los ingredientes encapsulados (Nesterenko, Alric, Silvestre y Durrieu, 2013). Los agentes encapsulantes más empleados en la aplicación de alimentos para la coacervación compleja son las proteínas y los polisacáridos, debido a que son productos naturales y relativamente baratos. Además, su combinación es propicia para la formación de coacervados (Souza, Rojas, Melo, Gaspar y Lins, 2013; Bakry *et al.*, 2016).

2.2.1. Proteínas

Las proteínas son polímeros cuyas estructuras dependen de la secuencia de aminoácidos presentes. Es indispensable tomar en cuenta sus características eléctricas debido a las interacciones electrostáticas necesarias para llevar a cabo la coacervación. Las proteínas presentan carga positiva por debajo de su punto isoelectrico (PI), carga neutra en el PI, y carga negativa por arriba del PI (Yan y Zhang, 2014). Algunos ejemplos de proteínas usadas en la coacervación compleja son las siguientes:

» **Gelatina.** Aquellas extraídas de piel y huesos de mamíferos han sido las más utilizadas en el proceso de coacervación, debido a su excelente capacidad emulsionante, capacidad gelificante y su alta actividad de entrecruzamiento a través de su grupo amino primario (Yan y Zhang, 2014; Thies, 2016). Las gelatinas formadas por hidrólisis ácida de colágeno se clasifican como tipo A; mientras que las gelatinas formadas por hidrólisis alcalina se clasifican como tipo B. Para las primeras, su PI se encuentra generalmente entre 8-9, mientras que, para las segundas, su PI está entre 4-5. Aunque ambos tipos de gelatinas producen coacervados adecuados para la formación de microcápsulas, las gelatinas de tipo A son las más utilizadas (Thies, 2007). Sin embargo, la gelatina tiene algunas limitaciones, entre las cuales se encuentran: no ser aceptada para su consumo por parte de la población vegetariana, no ser adecuada para productos Kosher y no tener un perfil sensorial ideal para todas las aplicaciones (Kralovec *et al.*, 2012).

» **Proteínas de origen vegetal.** El uso de proteínas vegetales como materiales encapsulantes es el reflejo de la actual tendencia de los consumidores debido a la creciente preocupación por la seguridad de los productos derivados de animales. En aplicaciones alimentarias, se sabe que las proteínas vegetales son menos alergénicas en comparación con las proteínas derivadas de animales (Nesterenko *et al.*, 2013). Entre las proteínas vegetales utilizadas como material encapsulante en la microencapsulación, se encuentran principalmente aislados de proteína de soya, aislados de proteína de chícharo, proteínas de cereales, y recientemente se han estudiado aislados de proteína de linaza y chía (Nesterenko *et al.*, 2013; Kaushik, Dowling, McKnight, Barrow y Adhikari, 2016; Timilsena, Wang, Adhikari y Adhikari, 2016). Aunque las proteínas de origen vegetal han demostrado ser efectivas para el proceso de coacervación compleja, poseen algunas limitaciones, como su costo de extracción para obtener proteínas de alta calidad o la baja solubilidad de algunas de éstas (Nesterenko *et al.*, 2013).

2.2.2. Polisacáridos

Los polisacáridos difieren uno de otro químicamente en número, secuencia y tipo de unidades presentes en su cadena. Lo anterior les confiere diferentes propiedades funcionales, tales como solubilidad, espesamiento, gelificación, capacidad de retención de agua, emulsificación, etc. Al igual que las proteínas, para los polisacáridos se deben de tomar en cuenta sus propiedades eléctricas al momento de seleccionarlas para ser usadas en la coacervación compleja. La carga eléctrica de los polisacáridos depende de la naturaleza de los grupos iónicos presentes en la cadena. Los polisacáridos aniónicos poseen una carga neutra a valores de pH por debajo de su valor de pKa, volviéndose negativa en valores por arriba de su pKa. Por otra parte, los polisacáridos catiónicos tienen una carga neutra a valores de pH por encima de su valor de pKa pero una carga positiva por debajo de éste (Yan y Zhang, 2014). Los polisacáridos son comúnmente usados junto con proteínas para formar coacervados, debido a que poseen varios grupos carboxilo cargados negativamente que pueden interactuar con los grupos catiónicos presentes en las proteínas. El quitosano es una excepción, ya que contiene grupos amino en su cadena, permitiéndole formar coacervados mediante el uso de polisacáridos que posean grupos aniónicos (Thies, 2016).

» **Goma arábiga.** La goma arábiga es un polisacárido derivado de los exudados de árboles de la especie *Acacia senegal* y *Acacia seyal*. Ésta se compone en su mayor parte de β -(1-3) galactopiranosas que se encuentran altamente ramificadas con β -(1-6) galactopiranosas con terminaciones de arabinosa y ácido glucurónico (Xiao, Li, Zhu, Zhou y Niu, 2013; Yan y Zhang, 2014). La goma arábiga es el polisacárido más usado a nivel industrial debido a su buena solubilidad y baja viscosidad (Yan y Zhang, 2014). Ésta junto con la gelatina son los biopolímeros más usados para llevar a cabo la coacervación compleja debido a que en condiciones acuosas la goma arábiga posee una carga negativa, mientras que la gelatina a un pH menor de 4.75 posee una carga positiva (Xiao, Li, Zhu, Zhou y Niu, 2015). Asimismo, la goma arábiga es aquella cuyo mecanismo ha sido más estudiado comparado con otros polisacáridos. Aunque existen estudios que caracterizan la estructura y propiedades de otros polisacáridos, la base de datos disponible no es tan extensa como la de la goma arábiga (Thies, 2016).

» **Quitano.** Es un polisacárido lineal catiónico compuesto principalmente de β (1-4) glucosamina unidas a N-acetylglucosamina. Su valor de pKa se encuentra entre 5.5 y 6.5, en éste

sus grupos amino se encuentran protonados otorgándole a la molécula una carga positiva. Por lo tanto, para llevar a cabo la coacervación compleja es necesario disminuir el pH por debajo de 6.5 y asociarlo con una proteína (gelatina tipo B, por ejemplo) para lograr la formación del coacervado (Xiao *et al.*, 2013; Thies, 2016).

3. Estabilidad y eficiencia de encapsulación de los coacervados

La estabilidad de los coacervados está determinada por factores como la estructura, el tamaño y distribución de las cápsulas, la realización del entrecruzamiento y la eficiencia de encapsulación.

3.1. Estructura

La estructura de los coacervados es influenciada por la velocidad de homogeneización durante el proceso de emulsificación. Dependiendo de ésta se pueden obtener microcápsulas con un solo núcleo o núcleos múltiples. Normalmente, las microcápsulas con un solo núcleo son obtenidas mediante la aplicación de velocidades bajas de homogeneización. Al aumentar la velocidad de homogeneización se obtienen gotas más pequeñas de la fase dispersa, incrementando su área superficial y propiciando la formación de núcleos múltiples contenidos dentro de una sola microcápsula. Los coacervados con núcleos múltiples poseen una mayor resistencia al calor y propiedades de liberación retardada debido a que son más difíciles de romper por completo, respecto a las cápsulas con un solo núcleo (Yeo *et al.*, 2005; Yan y Zhang, 2014; Prata y Grosso, 2015).

3.2. Tamaño y distribución de las cápsulas

El tamaño y la distribución de las cápsulas afectan la textura y las propiedades sensoriales de los alimentos, siendo las cápsulas de mayor tamaño indeseables en la mayoría de los casos (Yan y Zhang, 2014). El diámetro de los coacervados puede variar de nanómetros a micrómetros dependiendo de las condiciones de operación para su preparación (Schmitt y Turgeon, 2011; Prata y Grosso, 2015). La concentración de los agentes encapsulantes durante la emulsificación está relacionada con el tamaño de los coacervados. Se ha observado que el incremento de la concentración de proteína causa el aumento del tamaño de la microcápsula, mientras que el incremento de la concentración del polisacárido provoca la disminución del tamaño de la microcápsula (Tamjidi *et al.*, 2012; Yan y Zhang, 2014).

3.3. Entrecruzamiento

Las paredes de las microcápsulas formadas por los coacervados son usualmente inestables a altas temperaturas y de baja resistencia mecánica, debido a la naturaleza iónica de la interacción entre los biopolímeros; por lo que es recomendable su estabilización mediante el entrecruzamiento (Yan y Zhang, 2014). La estabilización mediante el entrecruzamiento químico con glutaraldehído ha sido la más empleada. En ésta el glutaraldehído reacciona con los grupos amino primarios de la proteína formando enlaces químicos en el gel del coacervado que aumentan la resistencia del gel y previenen la fusión del gel debido al calor. No obstante, existe una preocupación en el uso de este compuesto debido a sus efectos genotóxicos y mutagénicos (Speit, Neuss, Schutz, Frohler-Keller y Schmid, 2008; Thies, 2016). Debido a lo anterior, se han buscado otras alternativas para lograr el entrecruzamiento, una de ellas es emplear compuestos fenólicos como el ácido tánico. Éste encoge rápidamente las paredes de los coacervados reduciendo el contenido de agua presente, aunque posee la desventaja de reaccionar rápidamente con la proteína, lo que dificulta un control preciso en el proceso de formación (Thies, 2007). Asimismo, este compuesto es propenso a la decoloración y tiene un sabor característico, lo que limita su uso en alimentos (Yan y Zhang, 2014). Otra alternativa es el uso de enzimas, siendo la más utilizada la transglutaminasa. Esta enzima cataliza la formación de enlaces entre el grupo ϵ -amino de la lisina y el grupo γ -carboxamida de la glutamina, resultando en la formación de enlaces intra e intermoleculares de ϵ -(γ -glutamyl) lisina (Dutra y Ferreira, 2010; Yan y Zhang, 2014). Se ha demostrado que esta enzima es efectiva en la formación de coacervados empleado gelatina o proteína de origen vegetal, otorgándoles mayor resistencia al calor (Lv, Yang, Li, Zhang y Abbas, 2014; Xiao *et al.*, 2015; Timilsena *et al.*, 2016).

3.4. Eficiencia de la encapsulación

La eficiencia de la encapsulación es un indicador para evaluar la calidad de los productos encapsulados. Ésta se define como la relación que existe entre el peso del material de interés encapsulado y la cantidad total de material de interés alimentado. En lo referente a aceites esenciales, la eficiencia de encapsulación se determina con base en el porcentaje de aceite no encapsulado. Éste es un parámetro clave en la calidad de los microencapsulados debido a que el aceite no encapsulado, cuando se trata de uno comestible, es propenso a desarrollar rancidez, lo que limita la vida de anaquel del producto. Las mi-

crocápsulas obtenidas por coacervación compleja poseen un menor porcentaje de aceite no encapsulado y un mayor contenido de aceite encapsulado comparado con el secado por atomización. Asimismo, posee una eficiencia de encapsulación por arriba del 99% (Kralovec *et al.*, 2012; Yan y Zhang, 2014; Bakry *et al.*, 2016).

4. Aplicaciones en alimentos

Los productos alimenticios fabricados por coacervación compleja disponibles en el mercado son muy limitados. La ONC (Ocean Nutrition Canada) ha logrado microencapsular aceite de pescado mediante la coacervación compleja empleando gelatina-polisacárido y producirlo a nivel industrial bajo el nombre de Powderloc™ (Yan y Zhang, 2014). Asimismo, se continúan haciendo estudios sobre las posibles aplicaciones de la coacervación compleja en alimentos. Dima, Cotârlet, Alexe y Dima (2014) encontraron que la encapsulación de aceite esencial de *Pimenta dioica* mediante la combinación de quitosano/k-carragenina es viable y posiblemente aplicable para productos cárnicos. Qv, Zeng y Jiang (2011) encapsularon luteína mediante gelatina/goma arábiga, otorgándole a este carotenoide una mayor resistencia a la luz, temperatura y humedad. Asimismo, observaron un aumento en la estabilidad del producto encapsulado durante el almacenamiento por 30 días, en donde el porcentaje de retención de luteína fue de 92.86% a 4°C y 90.16% a 25°C. Kralovec *et al.* (2012) señalan que coacervados realizados con proteína de suero y goma arábiga, presentan una mayor estabilidad después de ser tratados con ultrapasteurización; además de una mejor calidad sensorial en productos lácteos respecto a coacervados realizados con gelatina. Wang, Adhikari y Barrow (2014) emplearon gelatina/hexametafosfato de sodio para encapsular aceite de atún para retardar la oxidación de los aceites omega-3, obteniendo una eficiencia de encapsulación del 88.03% y una estabilidad oxidativa y térmica (Rancimat) de 40.16 horas. Calderón, Pedroza, Escalona, Pedraza y Ponce (2017) lograron encapsular una mezcla de nisina y extracto de cáscara de aguacate como antimicrobiano y antioxidante, respectivamente, empleando colágeno/alginato y colágeno/pectina.

En la actualidad, la mayoría de los estudios sobre coacervación compleja aplicada en alimentos se ha centrado en la obtención de los coacervados y el estudio de sus características, quedando pendiente su aplicación en diversos productos alimenticios.

Conclusiones

La coacervación compleja es una posible alternativa de microencapsulación en la industria alimentaria debido a las ventajas que presentan los productos obtenidos, por ejemplo, resistencia al calor y liberación controlada de los ingredientes encapsulados, a partir de un método simple y de bajo costo. En la actualidad, se siguen haciendo estudios sobre los posibles agentes encapsulantes a aplicar en esta técnica para que cumplan con los requerimientos exigidos por los consumidores. Asimismo, en el ámbito alimenticio, esta tecnología continúa explorándose debido a que muchas de sus aplicaciones potenciales aún son desconocidas.

Agradecimientos

La autora Ruth Hernández Nava agradece a la Universidad de las Américas Puebla por el apoyo recibido para el financiamiento de sus estudios de doctorado.

Referencias

- Bakry, A., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M., Mousa, A. y Liang, L. (2016). Microencapsulation of oils: A comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 143-182.
- Bungenberg De Jong, H. y Kruyt, H. (1929). Coacervation (partial miscibility in colloidal systems). *Proceedings of the Koninklijke Akademie van Wetenschappen*, 32, 849-856.
- Calderón, M., Pedroza, R., Escalona, H., Pedraza, J. y Ponce, E. (2017). Comparative study of the microencapsulation by complex coacervation of nisin in combination with an avocado antioxidant extract. *Food Hydrocolloids*, 62, 49-57.
- Dima, C., Cotârlet, M., Alexe, P. y Dima, S. (2014). Microencapsulation of essential oil of pimento [*Pimenta dioica* (L) Merr.] by chitosan/k-carrageenan complex coacervation method. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22, 203-211.
- Dutra, I. y Ferreira, C. (2010). Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(4), 1069-1076.

- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 330-347.
- IUPAC, International Union of Pure and Applied Chemistry. (2014). *IUPAC Compendium of Chemical Technology. Gold Book*. (2a. ed.). EE. UU.: IUPAC.
- Kaushik, P., Dowling, K., McKnight, S., Barrow, C. y Adhikari, B. (2016). Microencapsulation of flaxseed oil in flaxseed protein and flaxseed gum complex coacervates. *Food Research International*, 86, 1-8.
- Kralovec, J., Zhang, S., Zhang, W. y Barrow, C. (2012). A review of the progress in enzymatic concentration and microencapsulation of omega-3 rich oil from fish and microbial sources. *Food Chemistry*, 131, 639-644.
- Lv, Y., Yang, F., Li, X., Zhang, X. y Abbas, S. (2014). Formation of heat-resistant nanocapsules of jasmine essential oil via gelatin/gum arabic based complex coacervation. *Food Hydrocolloids*, 35, 305-314.
- Nesterenko, A., Alric, I., Silvestre, F. y Durrieu, V. (2013). Vegetable proteins in microencapsulation: a review of recent interventions and their effectiveness. *Industrial Crops and Products*, 42, 469-479.
- Prata, A. y Grosso, C. (2015). Influence of the oil phase on the microencapsulation by complex coacervation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92, 1063-1072.
- Qv, X., Zeng, Z. y Jiang, J. (2011). Preparation of lutein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability. *Food Hydrocolloids*, 25, 1596-1603.
- Schmitt, C. y Turgeon, S. (2011). Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. *Advances in Colloid and Interface Science*, 167, 63-70.
- Speit, G., Neuss, S., Schutz, P., Frohler-Keller, M. y Schmid, O. (2008). The genotoxic potential of glutaraldehyde in mammalian cells in vitro in comparison with formaldehyde. *Mutation Research*, 649, 146-154.
- Souza, C., Rojas, E., Melo, N., Gaspar, A. y Lins, J. (2013). Complex coacervates obtained from interaction egg yolk lipoprotein and polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 30, 375-381.
- Tamjidi, F., Nasirpour, A. y Shahedi, M. (2012). Mixture design approach for evaluation of fish oil microencapsulation in gelatin-acacia gum coacervates. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 62, 444-449.
- Thies, C. (2007). Microencapsulation of flavors by complex coacervation. En J. Lakkis (Ed.), *Encapsulation and controlled release technologies in food systems* (pp. 149-170). EE.UU.: Blackwell Publishing.
- Thies, C. (2016). Encapsulation by complex coacervation. En J. Lakkis (Ed.), *Encapsulation and controlled release technologies in food systems* (2a. ed., pp. 41-77). EE. UU.: John Wiley & Sons Ltd.
- Timilsena, Y., Wang, B., Adhikari, R. y Adhikari, B. (2016). Preparation and characterization of chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, 52, 554-563.
- Wang, B., Adhikari, B. y Barrow, C. (2014). Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin-sodium exametaphosphate using complex coacervation. *Food Chemistry*, 158, 358-365.
- Xiao, Z., Liu, W., Zhu, G., Zhou, R. y Niu, Y. (2013). A review of the preparation and application of flavour and essential oils microcapsules based on complex coacervation technology. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 1482-1494.
- Xiao, Z., Li, W., Zhu, G., Zhou, R. y Niu, Y. (2015). Study of production and the stability of styrallyl acetate nanocapsules using complex coacervation. *Flavour and Fragrance Journal*, 31, 283-289.
- Yan, C. y Zhang, W. (2014). Coacervation processes. En A.G. Gaonkar, N. Vasisht, A. R. Khare, y R. Sobel (Eds.), *Microencapsulation in the food industry. A practical implementation guide* (pp. 125-137). EE. UU.: Academic Press.
- Yeo, Y., Bellas, E., Firestone, W., Langer, R. y Kohane, D. (2005). Complex coacervates for thermally sensitive controlled release of flavor compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7518-7525.

Paraprobióticos y su aplicación en alimentos

D. Arrijoja-Bretón y A. López-Malo.

Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Universidad de las Américas Puebla

Ex hacienda Sta. Catarina Mártir, C.P. 72810, San Andrés Cholula, Puebla, México.

RESUMEN

Los paraprobióticos son células de microorganismos probióticos inactivadas, las cuales confieren beneficios a la salud del huésped que las consume; entre éstos se encuentran: reducción de síntomas en trastornos inmunológicos y gastrointestinales y control de alergias. Estos beneficios han sido observados tanto en animales como en humanos. Se han utilizado diferentes cepas probióticas para la producción de paraprobióticos, mediante diversos métodos de inactivación como tratamientos térmicos, altas presiones, sonicación e irradiación ultravioleta. El uso de los paraprobióticos en alimentos es un tema actual y relevante, ya que su aplicación puede presentar diversas ventajas, así como desafíos.

Palabras clave: paraprobióticos, métodos de inactivación, beneficios y aplicación.

ABSTRACT

Paraprobiotics are inactivated cells of probiotic microorganisms, which confer a benefit to the health of the consumer host, within which are: reduction of symptoms in immunological and gastrointestinal disorders, control of allergies, among others, these benefits have been observed in animals and humans. Different probiotic strains have been used for the production of paraprobiotics, using several inactivation methods such as thermal treatments, high pressures, sonication and ultraviolet irradiation. The use of paraprobiotics is a current and relevant topic since their applications can present various advantages as well as challenges.

Keywords: paraprobiotics, inactivation methods, benefits and application.

* Programa de Doctorado
en Ciencia de Alimentos
Tel.: +52 222 229 2126
Dirección electrónica:
daniela.arriojabn@udlap.mx
maria.barcenas@udlap.mx

Introducción

En los últimos años se ha introducido el término «paraprobióticos», que se refiere a las células microbianas probióticas no viables (intactas o rotas) o extractos crudos de células que, cuando se administran o consumen en cantidades adecuadas, producen un beneficio a la salud del huésped (Sawada *et al.*, 2015). Son microorganismos que perdieron por completo su viabilidad después de la exposición a factores que alteran sus estructuras celulares, por la aplicación de algún método de inactivación como tratamientos térmicos, altas presiones, irradiación ultravioleta o sonicación (de Almada, Almada, Martínez y Sant'Ana, 2016).

El estudio de estos agentes para la ciencia e industria de alimentos es de gran importancia, debido a que distintas investigaciones indican que los paraprobióticos podrían brindar diversos beneficios a la salud de los consumidores. Además su uso representa ventajas con respecto al de los probióticos, como una menor interacción (o nula) con los demás componentes del alimento; la posibilidad de agregar los paraprobióticos antes del tratamiento térmico de los alimentos; su incorporación en una mayor variedad de productos; el que su adición no implique que los alimentos en los que se agregan tengan que estar refrigerados; entre otras (Ishikawa *et al.*, 2010; Sawada *et al.*, 2015).

El propósito de este trabajo es realizar una compilación sobre los paraprobióticos, su producción, los beneficios que el consumo de éstos produce al huésped, así como su uso y posibles aplicaciones en alimentos.

Revisión Bibliográfica

1. Paraprobióticos

1.1 Definición

La definición de la FAO/WHO (2002) de probióticos únicamente incluye a los microorganismos vivos, que al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren un beneficio al huésped. Sin embargo, se ha reportado que las células no viables (intactas o rotas), también proveen beneficios al huésped (Adams, 2010; Ananta y Knorr, 2009). A estas células se les ha nombrado «paraprobióticos», y se han definido como las células inactivadas o fracciones de células microbianas que al ser administradas en cantidades adecuadas, confieren un beneficio al huésped (Taverniti y Guglielmetti, 2011). También son llamados en la literatura como «probióticos inactivados» o «probióticos fantasmas», los cuales son microorganismos que perdieron por

completo su viabilidad después de sufrir alteraciones en sus estructuras celulares (fragmentación de filamentos del ADN, ruptura de membrana o daño mecánico a la pared celular), debido a la aplicación de algún método de inactivación (de Almada *et al.*, 2016).

Los paraprobióticos contienen fragmentos, a los cuales se les asigna la expresión «fragmentos de células probióticas» o PCF (por sus siglas en inglés); entre los que se encuentran los ácidos teicoicos, nucleótidos, componentes de ADN y/o ARN. Incluso algunos de estos fragmentos son estructuras con funciones fisiológicas, tales como pared celular de péptido-glucanos (Shigwedha *et al.*, 2014).

Hasta el momento se han realizado investigaciones sobre los paraprobióticos, en las que se han utilizado alrededor de 60 diferentes cepas de probióticos para la producción de paraprobióticos, así como distintos géneros de microorganismos, destacando como el más estudiado el género *Lactobacillus*, seguido por el género *Bifidobacterium* (Tabla I).

1.2. Importancia

Como se muestra en la tabla I, los beneficios de los paraprobióticos a la salud del huésped han sido observados en varias investigaciones. En su mayoría se han realizado pruebas *in vitro*, así como *in vivo* en ratas, ratones e incluso en peces y cerdos, pero también, aunque en menor número, en algunos grupos de humanos.

En los estudios revisados se ha observado que los probióticos, paraprobióticos y PCF son modificadores de diversas respuestas biológicas en el huésped, contribuyendo en la reducción de síntomas de diversos trastornos inmunológicos, como en inflamaciones de bajo grado; trastornos neuro-psiquiátricos como el Alzheimer, depresión crónica, pérdida leve de memoria y declive cognitivo general; trastornos ortopédicos tales como síndromes generales de fatiga muscular y dolor crónico; desórdenes respiratorios como bronquitis, sinusitis; trastornos metabólicos como en la diabetes; ciertos trastornos cardiovasculares; enfermedades intestinales tales como enfermedad celíaca y cáncer de colon. También se piensa que pueden ayudar a la modulación del sistema inmunológico; la actividad antiinflamatoria contra colitis; la reducción de caries; el alivio de síntomas de diarrea crónica; la mejora en síntomas alérgicos; la reducción de colesterol; la suspensión del aumento de peso corporal; el alivio o eliminación de estreñimiento; el incremento de la adhesión de las células intestinales (lo que inhibe a patógenos); entre otros (Shigwedha, Sichel, Jia, Al-Shura, y Zhang 2015).

Asimismo, Shigwedha *et al.* (2014) mencionan que existe evidencia clínica sobre la influencia en la salud del huésped de

Tabla I. Investigaciones sobre paraprobióticos, métodos de inactivación y beneficios observados

Microorganismo/ Producto	Método de inactivación	Condiciones de inactivación	Beneficios	Referencias
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FPTB16 y <i>Bacillus subtilis</i> FPTB13	Tratamiento térmico	60 °C durante 2 h	Estimulación de las respuestas inmunes de la célula (<i>in vitro</i>)	Kamilya, Baruah, Sangma, Chowdhury y Pal (2015)*
<i>Bifidobacterium brevis</i> Yakult (BbrY) y <i>Bifidobacterium bifidum</i> Yakult (BbiY)	Tratamiento térmico	100 °C durante 30 min	Actividad anti-inflamatoria contra colitis ulcerosa (UC) observada en células obtenidas de pacientes diagnosticados con UC (<i>in vitro</i>)	Imaoka <i>et al.</i> (2008)*
<i>Bifidobacterium longum</i> SPM1207	Sonicación	Sonicación durante 5 min	Reducción de colesterol, suspensión del aumento de peso corporal y alivio o eliminación del estreñimiento en ratas	Shin <i>et al.</i> (2010)*
Cápsulas conteniendo <i>Lactobacillus</i> LB (Lacteol Fort, France)	-	-	Tratamiento para la diarrea en humanos con síndrome de colon irritable	Tarrerías <i>et al.</i> (2011)*
Cápsulas de <i>Lactobacillus acidophilus</i> LB	Tratamiento térmico	-	Alivio de síntomas de diarrea crónica (reducción de movimientos intestinales, dolor y distensión abdominal; mejora de la consistencia de las heces y sensación de evacuación incompleta) en humanos	Xiao <i>et al.</i> (2002)*
Cápsulas de <i>Lactobacillus paracasei</i> 33	Tratamiento térmico	70 °C durante 30 min	Mejora del bienestar de la salud y reducción de los síntomas en humanos con rinitis alérgica	Peng y Hsu (2005)*
Suplemento dietético con <i>Bacillus pumilus</i> SE5	Tratamiento térmico	95 °C durante 60 min	Supresión de bacterias patógenas en la microbiota intestinal de peces	Yang, Xia, Ye, Zou y Sun (2014)*
Dieta suplementada con <i>Lactobacillus delbrückii</i> subsp. <i>lactis</i> CECT 287 y <i>Bacillus subtilis</i> CECT 35	Tratamiento térmico	60 °C durante 1 h	Efecto inmuno-estimulante local y sistémico en peces	Salinas <i>et al.</i> (2008)*
Dieta suplementada con <i>Lactobacillus paracasei</i> DSMZ16671	Tratamiento térmico	Pasterización con calentamiento prolongado a 80 °C	Reducción de las caries, debido a la inhibición de la colonización de <i>Streptococcus mutans</i> en placas dentales de ratas	Tanzer <i>et al.</i> (2010)*

Tabla I. Investigaciones sobre paraprobióticos, métodos de inactivación y beneficios observados (continuación)

Microorganismo/ Producto	Método de inactivación	Condiciones de inactivación	Beneficios	Referencias
Dieta suplementada con <i>Psychrobacter</i> sp. SE6	Tratamiento térmico	95 °C durante 60 min	Inducción de la activación de la inmunidad en la mucosa intestinal en peces	Sun, Xia, Yang, Wang y Zou (2014)*
<i>Enterococcus faecalis</i> FK-23	Tratamiento térmico	-	Alivio de síntomas nasales, reducción de la eosinofilia nasal y aumento de las células CD4 ⁺ CD25 ⁺ en modelo de rinitis alérgica en ratones	Zhu <i>et al.</i> (2012)*
<i>Enterococcus faecalis</i> YM-73 y <i>Lactobacillus salivarius</i> AP-32	Tratamiento térmico	60 °C durante 30 min; 80 °C durante 20 min; 95 °C durante 5 min y 100 °C durante 5 min	Actividad inmuno-moduladora en células (Caco-2) (<i>in vitro</i>)	Ou <i>et al.</i> (2011)*
<i>Enterococcus faecium</i> JWS 833	Tratamiento térmico	110 °C durante 15 min	Propiedad inmuno-moduladora (<i>in vitro</i>)	Choi, Shin, Lee y Lee (2012)*
Leche fermentada, con <i>Lactobacillus gasseri</i> CP2305	Tratamiento térmico	95 °C durante 30s	Regulación de la función intestinal en humanos con tendencia al estreñimiento	Sawada <i>et al.</i> (2015)*
<i>Lactobacillus fermentum</i> VET9A, <i>Lactobacillus plantarum</i> VET14A, y <i>Lactobacillus rhamnosus</i> VET16A	Tratamiento térmico	80 °C durante 30 min	Exclusión de enteropatógenos (<i>Ehrlichia canis</i> , <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium y <i>Clostridium perfringens</i>) en la mucosidad intestinal de perros (<i>in vitro</i>)	Grzeskowiak, Collado, Beasley y Salminen (2014)*
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (LAP5, LAF1 y LAH7)	Tratamiento térmico	100 °C durante 30 min	Inhibición de <i>Salmonella</i> por inmuno-modulación de macrófagos activados en ratones	Lin, Yu, Lin, Hwang y Tsen (2007)*
<i>Lactobacillus acidophilus</i> A2, <i>Lactobacillus gasseri</i> A5 y <i>Lactobacillus salivarius</i> A6	Tratamiento térmico	100 °C durante 15 min	Modulación de la respuesta inmune (<i>in vitro</i>)	Chuang <i>et al.</i> (2007)*
<i>Lactobacillus brevis</i> SBC8803	Tratamiento térmico	121 °C durante 20 min	Mejora de las lesiones inducidas por el etanol y la acumulación de grasa hepática en ratones	Segawa, Wakita, Hirata y Watari (2008)*
<i>Lactobacillus brevis</i> SBC8803	Tratamiento térmico	121 °C durante 20 min	Reducción de la inflamación intestinal y mejoría de los daños intestinales en ratones con colitis (ensayos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>)	Ueno <i>et al.</i> (2011)*
<i>Lactobacillus casei</i> CRL 431	Tratamiento térmico	80 °C durante 30 min	Inmuno-modulación del sistema inmunológico respiratorio en ratones	Villena, Barbieri, Salva, Herrera y Alvarez (2009)*

Tabla I. Investigaciones sobre paraprobióticos, métodos de inactivación y beneficios observados (continuación)

Microorganismo/ Producto	Método de inactivación	Condiciones de inactivación	Beneficios	Referencias
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Tratamiento térmico	100 °C durante 30 min; 95 °C durante 30 min	Inhibición de la producción de IgE inducida por alérgenos, posible papel en la prevención de la alergia mediada por IgE (<i>in vitro</i>) ^a . Efecto inmuno-modulador en ratones con modelo de alergia, posible papel en la prevención de alergias respiratorias	Shida <i>et al.</i> (1998); Lim, Li, Huang, Lee, Lee y Chua (2009)*
<i>Lactobacillus casei</i> Zhang (LcZ)	Tratamiento térmico	70 °C durante 30 min	Efecto sobre el sistema inmune en los macrófagos (<i>in vitro</i>), que sugiere su uso contra infecciones virales	Wang, Xie, Wang, Li, Sun, Zhang y Zhang (2013)*
<i>Lactobacillus gasseri</i> OLL2809	Tratamiento térmico	75 °C durante 60 min	Supresión de la acumulación peritoneal de eosinófilos, que conduce a una mejoría de síntomas alérgicos (rinitis alérgica) en ratones	Sashihara <i>et al.</i> (2008)*
<i>Lactobacillus gasseri</i> TMC0356	Tratamiento térmico	90 °C durante 5 min	Mejora de la inmunidad por células en ratones, lo que lleva a la mejora de las defensas naturales contra las infecciones respiratorias	Kawase, He, Miyazawa, Kubota, Yoda y Hiramatsu (2012b)*
<i>Lactobacillus gasseri</i> TMC0356	Tratamiento térmico	70 °C durante 30 min o 90 °C durante 5 min	Efecto inmuno-modulador (<i>in vitro</i>)	Miyazawa, He, Kawase, Kubota, Yoda y Hiramatsu (2011)*
<i>Lactobacillus gasseri</i> TMC0356-70 y TMC0356-90	Tratamiento térmico	70 °C durante 30 min y 90 °C durante 5 min	Protección contra infección por el virus de la influenza H1N1 por estimulación de las respuestas inmunológicas respiratorias e intestinales en ratones	Kawase, He, Kubota, Yoda, Miyazawa y Hiramatsu (2012a)*
<i>Lactobacillus paracasei</i> IMPC2.1 y <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Tratamiento térmico	95 °C durante 1 h	Efecto proapoptótico y antiproliferativo en células de cáncer de colon y gástrico (<i>in vitro</i>)	Orlando, Refolo, Messa, Amati, Lavermicocca, Guerra, y Russo (2012)*
<i>Lactobacillus pentosus</i> b240	Tratamiento térmico	121 °C durante 15 min	Supresión de neumonía inducida por <i>S. pneumoniae</i> , mejora de las respuestas de los tejidos inflamatorios y la reducción de los daños del tejido respiratorio en ratones	Tanaka <i>et al.</i> (2011)*
<i>Lactobacillus plantarum</i> o6CC2	Tratamiento térmico	Hervir durante 1 h	Alivio de los síntomas de influenza en ratones debido al efecto inmuno-modulador	Takeda <i>et al.</i> (2011)*
<i>Lactobacillus plantarum</i> b240	Tratamiento térmico	121 °C durante 15 min	Prevención de infección por <i>S. Typhimurium</i> en ratones	Ishikawa <i>et al.</i> (2010)*

Tabla I. Investigaciones sobre paraprobióticos, métodos de inactivación y beneficios observados (continuación)

Microorganismo/ Producto	Método de inactivación	Condiciones de inactivación	Beneficios	Referencias
<i>Lactobacillus plantarum</i> KTCT3104 y <i>Lactobacillus curvatus</i> KTCT3767	Tratamiento térmico	100 °C durante 30 min	Atenuación de la inflamación de las vías respiratorias mediante modulación de la inmunidad intestinal en ratones	Hong, Kim, Cho y Kim, (2010)*
<i>Lactobacillus plantarum</i> L-137	Tratamiento térmico	70 °C durante 10 min	Protección contra infección por virus de gripe en ratones debido a la mejora de la inmunidad innata del tracto respiratorio	Maeda <i>et al.</i> (2009)*
<i>Lactobacillus plantarum</i> L-137	Tratamiento térmico	80 °C durante 20 min	Mejora de la actividad inmuno-moduladora <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> (en ratones)	Fujiki, Hirose, Yamamoto y Murosaki (2012)*
<i>Lactobacillus plantarum</i> MYL26	Tratamiento térmico	65 °C durante 30 min	Atenuación de la inflamación en células Caco-2 (<i>in vitro</i>)	Chiu <i>et al.</i> (2013)*
<i>Lactobacillus reuteri</i>	Tratamiento térmico e irradiación gamma	80 °C durante 20 min; fuente de cobalto 60 durante 20 h a 8.05 Gy/min	Efecto inhibitorio sobre dolor visceral en ratas	Kamiya <i>et al.</i> (2006)*
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Tratamiento térmico	80 °C durante 20 min	Acción inmuno-moduladora (<i>in vitro</i>). Reducción del nivel de mediadores proinflamatorios y aumento de marcadores antiinflamatorios inducidos por lipopolisacáridos de <i>E. coli</i> en ratas	Bloise, Torricelli, Novembri, Borges, Carrarelli, Reis y Petraglia, (2010); Li, Russell, Douglas-Escobar, Hauser, Lopez y Neu (2009)*
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	UV	UV durante 20 min; UV durante 5 min	Mejora de la respuesta inmune <i>in vitro</i> ; Modulación de la inflamación de las células Caco-2 por reducción de la producción de interleucina-8 (<i>in vitro</i>)	Van Hoffen <i>et al.</i> (2010); López, Li, Kataria, Russell y Neu, (2008)*
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001	UV	-	Atenuación de la gravedad de enterocolitis necrotizante en lechones prematuros y ratones recién nacidos	Good <i>et al.</i> (2014)*
<i>Lactobacillus sakei</i> probio 65	Tratamiento térmico	121 °C durante 15 min	Efecto inhibidor sobre inflamación y lesiones cutáneas, dermatitis atópica en ratones y la activación <i>in vitro</i> de mastocitos	Kim, Park, Park, Park, Kim y Pyo (2013)*
<i>Lactobacillus salivarius</i> E4191	Tratamiento térmico	95 °C durante 1h	Efecto protector sobre las células epiteliales intestinales (actividad antiinflamatoria) por inhibición de la secreción de interleucina-8 (<i>in vitro</i>)	Oh, Jeun, Lee, Chun y Kim (2012)*

Tabla I. Investigaciones sobre paraprobióticos, métodos de inactivación y beneficios observados (continuación)

Microorganismo/ Producto	Método de inactivación	Condiciones de inactivación	Beneficios	Referencias
<i>Lactobacillus lactis</i> G50	Tratamiento térmico	100 °C durante 30 min	Mejora de la inmunidad intestinal y la supresión del crecimiento de H ₂ S productora de bacterias entéricas en ratones	Kimoto-Nira, Mizumachi, Okamoto, Sasaki y Kurisaki (2009)*
<i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> H61	Tratamiento térmico	100 °C durante 30 min	Potencial para suspender efectos relacionados con el envejecimiento (efecto antienvejecimiento) en ratones	Kimoto-Nira, Suzuki, Kobayashi, Sasaki, Kurisaki y Mizumachi (2007)*
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> 1RM3	Tratamiento térmico	100 °C durante 10 min	Prevención de la invasión de <i>L. monocytogenes</i> e infección entero-gástrica en células Caco-2 en ratones e <i>in vitro</i>	Nakamura, Kuda, An, Kanno, Takahashi y Kimura (2012)*
<i>Saccharomyces boulardii</i>	Tratamiento térmico	121 °C durante 15 min	Mantenimiento de la integridad intestinal y modulación del sistema inmune de ratones	Generoso <i>et al.</i> (2011)*
«Sachet» que contiene el microorganismo probiótico inactivado (Dialac)	-	-	Mejora de la absorción de lactosa en niños	Rampengan, Manoppo y Warouw (2010)*
Leche descremada, suplementada con <i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001	Tratamiento térmico	100 °C durante 15 min	Mejora en el sistema inmune en ratones	Gill y Rutherford (2001)*
Suplemento con <i>Lactobacillus acidophilus</i> LB (sachet)	Tratamiento térmico	-	Beneficioso en el tratamiento de niños diagnosticados con diarrea inducida por rotavirus	Lie'vin-Le Moal, Sarrazin-Davila y Servin (2007)*
Suplementación con <i>Lactobacillus casei</i> GG	Tratamiento térmico	85-100 °C durante 10 min	Tratamiento de la diarrea por rotavirus en niños	Kaila, Isolauri, Saxelin, Arvilommi y Vesikari (1995)*
Suplemento de <i>Lactobacillus acidophilus</i> GG	UV	UV durante 30 min	Prevención de enterocolitis necrosante y sepsis en recién nacidos	Awad <i>et al.</i> (2010)*
Suplemento de <i>Lactobacillus paracasei</i> K71	Tratamiento térmico	-	Efectos beneficiosos sobre síntomas de dermatitis atópica en humanos	Moroi <i>et al.</i> (2011)*
Tabletas de <i>Lactobacillus gasseri</i> OLL2809	Tratamiento térmico	75 °C durante 60 min	Reducción de síntomas en humanos con alta predisposición a alergias debido a la modulación sistémica del sistema inmunológico	Gotoh <i>et al.</i> (2009)*

Tabla I. Investigaciones sobre paraprobióticos, métodos de inactivación y beneficios observados (continuación)

Microorganismo/ Producto	Método de inactivación	Condiciones de inactivación	Beneficios	Referencias
Tabletas de <i>Lactobacillus pentosus</i> b240	Tratamiento térmico	121 °C durante 15 min	Reducción de la incidencia de frío por efecto inmuno-protector, efecto observado en humanos	Shinkai <i>et al.</i> (2013)*
Yogur con bacterias ácido lácticas (Mix-BAL) (<i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> y <i>Lactobacillus acidophilus</i>)	Tratamiento térmico	65 °C durante 60 min	Papel protector en la disfunción de la barrera epitelial intestinal inducida por citoquinas proinflamatorias <i>in vitro</i>	Zeng, Jiang, Zhu y Chu (2015)*
Suplemento alimenticio Delpro® y formulación inmunoreguladora	-	-	Disminución de síntomas gastrointestinales en niños con autismo	West, Roberts, Sichel y Sichel (2013)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> V	-	-	Prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas, alergias comunes (alergia alimentaria, bronquitis, fiebre del heno y asma), hepatitis C, fatiga crónica y fibromialgia en humanos	Pidgorsky, Shynkarenko-Sichel, Timoshok y Spivak (2008)

las células inactivadas de *Lactobacillus rhamnosus* V, las cuales son efectivas en la prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas, así como de alergias, fatiga y fibromialgia.

1.3. Métodos de obtención de paraprobióticos

Existen diferentes métodos de inactivación de células microbianas, los cuales han sido utilizados por los investigadores para la obtención de paraprobióticos, entre los que se encuentran los tratamientos térmicos; también han sido utilizadas la irradiación ultravioleta, las altas presiones y la sonicación (Ananta y Knorr, 2009; Chiu *et al.*, 2013; de Almada *et al.*, 2016). Estos métodos causan la inactivación de los microorganismos por diferentes mecanismos. Es muy importante resaltar que el método de inactivación utilizado para producir paraprobióticos, debe ser capaz de retener los beneficios a la salud proporcionados por el microorganismo probiótico (Raz y Rachmilewitz, 2005). En la tabla I se muestran los métodos de inactivación utilizados sobre diferentes microorganismos, así como las condiciones en las que se llevó a cabo la inactivación de los mismos, y los beneficios observados en el huésped. Se puede observar, que el tratamiento térmico es el método de producción de paraprobióticos más utilizado y estudiado,

mientras que la irradiación ultravioleta, seguida de la sonicación, son los menos usados.

Una vez aplicado el método de inactivación elegido, se emplean diferentes técnicas para determinar la viabilidad de las bacterias. Un ejemplo de éstas es poner en contacto a las bacterias con un colorante fluorescente (por ejemplo: SYTO 9, SYTOX o similares) que permea a la membrana celular, permitiendo identificar a las bacterias vivas por una fluorescencia verde. También puede usarse yoduro de propidio, el cual no permea la membrana celular, lo que permite identificar a las células comprometidas con una fluorescencia roja. Otra técnica utilizada es el recuento de células viables en placa (Raz y Rachmilewitz, 2005).

1.3.1. Tratamiento térmico

El tratamiento térmico es el método más utilizado para inactivar microorganismos, el cual consiste en aplicar calor durante cierto periodo de tiempo. Este mecanismo de inactivación afecta a la mayor parte de la estructura celular, ya que implica daño a la membrana celular, pérdida de iones y nutrientes, agregación de ribosomas, ruptura de los filamentos de ADN, inactivación de enzimas, así como coagulación de proteínas.

Se ha reportado que, en la producción de paraprobióticos, este método de inactivación aumenta la rugosidad y aspereza de la célula, lo que influye en las propiedades inmuno-moduladoras de la célula microbiana (Ou, Lin, Tsai y Lin, 2011).

En la tabla I se puede observar la diversidad de tratamientos térmicos que se han aplicado para inactivar a los probióticos. Algunos de ellos incluyen condiciones de pasteurización (temperaturas menores a 100 °C) mientras que otros usan condiciones de esterilización comercial (temperaturas mayores a 100 °C); los tiempos de tratamiento varían y esto seguramente depende de la matriz o medio en el que se encuentran suspendidos los probióticos.

Ou *et al.* (2011) observaron en ratones, que las propiedades inmuno-moduladoras de las bacterias ácido lácticas (BAL) probióticas, cultivadas en caldo de MRS, sometidas a diferentes temperaturas durante distintos tiempos (60 °C, 30 min; 80 °C, 20 min; 95 °C, 5 min y 100 °C, 5 min), dependen de la cepa evaluada. Por otro lado, se observó que existe una relación entre el aumento de la rugosidad y la aspereza de la célula, y la reducción de los efectos benéficos para la salud proporcionados por los paraprobióticos. Además, las condiciones del tratamiento térmico para la inactivación del probiótico, también afectan la capacidad de adhesión de los microorganismos en la mucosa intestinal del huésped, la cual es importante en muchos de los efectos probióticos que promueven la salud; a temperaturas más altas de inactivación de los probióticos, la capacidad de adhesión disminuye, pero las propiedades inmuno-moduladoras no se ven afectadas (Ou *et al.*, 2011).

Ananta y Knorr (2009) mencionan que la inactivación de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 es distinta cuando ésta se realiza a diferentes temperaturas. En su estudio mostraron que en los tratamientos térmicos aplicados a 60 °C, no existe una degradación de la membrana citoplasmática de la célula, aunque sí hubo inactivación; mientras que a temperaturas más altas sí existe esta degradación. Por lo que la temperatura influye directamente en las propiedades de los paraprobióticos; al aplicarse mayores temperaturas para la inactivación de la célula, existe un aumento en la degradación de ésta y una disminución de los beneficios observados en el huésped.

1.3.2. Irradiación ultravioleta

La irradiación ultravioleta es ampliamente utilizada para desinfectar agua y alimentos, ya que da lugar a la inactivación de bacterias patógenas como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* y *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, las cuales pueden estar en estos productos

y afectar sus características organolépticas del producto e incluso la salud del consumidor (Franz, Specht, Cho, Graef y Stahl, 2009); también ha sido utilizada para la producción de paraprobióticos (Good *et al.*, 2014).

La inactivación de células probióticas con este método, implica la formación de foto-productos en el ADN, así como la generación del dímero de pirimidina, que se forma entre moléculas de pirimidina adyacentes en la misma cadena de ADN, interrumpiendo los procesos de transcripción y traducción de ADN, lo que conduce a la mutagénesis y a la muerte celular; también da lugar a la desnaturalización de las proteínas (Franz *et al.*, 2009; Brimpa, Sfika y Vantarakis, 2013).

Las condiciones reportadas en la literatura para la producción de paraprobióticos (tabla I), varían desde los 5 hasta los 30 minutos de exposición a la irradiación ultravioleta; sin embargo, no se menciona el efecto que tiene la variación del tiempo de exposición a las radiaciones ultravioletas, con los beneficios del paraprobiótico en la salud del huésped al que se le administra.

Como un ejemplo, puede mencionarse un estudio en el que se inactivó *Lactobacillus acidophilus* exponiendo las células de este microorganismo a radiación ultravioleta durante 30 minutos. Posteriormente, las células fueron suministradas a neonatos con enterocolitis, observándose que la incidencia de esta enfermedad disminuyó (Awad *et al.*, 2010).

En otro estudio, Good *et al.* (2014) utilizaron irradiación ultravioleta (condiciones no especificadas), para inactivar las células de *Lactobacillus rhamnosus* HN001. Estos investigadores observaron que al administrar las células inactivadas a lechones prematuros y ratones neonatos, la gravedad de la enterocolitis necrotizante disminuyó, mejorando la morfología macroscópica de la mucosa, así como la respuesta de citoquinas en esta última.

1.3.3. Altas presiones

Este método de inactivación consiste en que el producto, en este caso los probióticos, es sometido a niveles altos de presión hidrostática, (100 a 1000 MPa), de forma continua durante cierto periodo de tiempo (Herrero y Avila, 2016). Lo que ocurre en el microorganismo sometido a altas presiones y contribuye a su inactivación, es daño a la membrana celular, desnaturalización de las proteínas, disminución del pH intracelular, pérdida de solutos, inactivación de enzimas, así como cambios en los ribosomas y nucleótidos de la célula (de Almada *et al.*, 2016). No se encontró en la literatura evidencia de si existe una relación entre la aplicación de diferentes presiones

y los beneficios de los paraprobióticos a la salud del huésped que los consume.

En el estudio de Ananta y Knorr (2009) se comparan dos métodos de inactivación, tratamiento térmico y altas presiones, sobre *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 para la producción de paraprobióticos, mediante un análisis de citometría de flujo. Estos investigadores observaron que con presiones de 400 MPa o mayores es posible inactivar las células de dicha bacteria. Además, demostraron que los tratamientos a 400 MPa para este microorganismo no son letales, mientras que los tratamientos a 600 MPa inactivaron el microorganismo más de siete ciclos logarítmicos (Ananta y Knorr, 2009).

1.3.4. Sonicación

La sonicación es un método físico que consiste en someter al microorganismo suspendido en un medio líquido a ondas sónicas; cuando una onda sónica se encuentra con el medio líquido, crea regiones sónicas de compresión y expansión. Debido a este cambio, comienza una formación de cavidades y se generan burbujas de gas en el medio. Se alcanza un punto en el que la energía ultrasónica proporcionada no es suficiente para retener la fase vapor en la burbuja, y se produce una condensación. Las moléculas condensadas chocan, creando ondas de choque. Los cambios de presión resultantes son el principal efecto de inactivación de los microorganismos (Piyasena, Mohareb y McKellar, 2003). Este método de inactivación produce en el microorganismo la ruptura de la pared celular, daño de la membrana celular y en el ADN (de Almada *et al.*, 2016).

Aunque hasta el momento este método de inactivación para microorganismos probióticos no ha sido muy utilizado, de acuerdo al trabajo de Shin *et al.* (2010), realizado en ratas, las células de *Bifidobacterium longum* SPM1207 aisladas de adultos coreanos, inactivadas por sonicación (condiciones no especificadas) durante 5 minutos, tienen potencial para ser usadas para generar paraprobióticos como un agente reductor de colesterol sérico. Por otro lado, sugieren que esta cepa inactivada puede contribuir a evitar el aumento de peso corporal y a aliviar o eliminar el estreñimiento, lo cual debe ser estudiado más a fondo (Shin *et al.*, 2010).

2. Aplicación de paraprobióticos en alimentos

Actualmente existen en el mercado suplementos alimenticios paraprobióticos como «Del-Immune V®», fabricado por Pure Research Products, LLC, Boulder, Colorado, EE.UU., es un suplemento alimenticio para el apoyo inmediato del sistema inmune que contiene *Lactobacillus rhamnosus* V lisado. Otro

ejemplo es CytoFlora®, el cual contiene paredes celulares de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus sporogenes*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum* y *Streptococcus thermophilus* (Shigwedha *et al.*, 2014). No se encontraron ejemplos de alimentos a los que se les haya agregado paraprobióticos como tal.

2.1. Uso potencial de paraprobióticos en alimentos

de Almada *et al.* (2016) mencionan que la presencia de microorganismos probióticos en diferentes tipos de productos alimenticios, tiene algunas limitaciones, como el garantizar la supervivencia de estos microorganismos durante la vida de anaquel de alimentos que pueden ser un sustrato estresante para el microorganismo. También la adición de probióticos a alimentos debe hacerse después de haber sido sometidos a tratamientos térmicos, para asegurar la supervivencia de los microorganismos probióticos, lo que incrementa las posibilidades de una contaminación del alimento. Por lo que la aplicación de paraprobióticos en alimentos puede brindar algunas ventajas en comparación con la de probióticos como una menor interacción (o nula) con los componentes del alimento, lo que puede aumentar la vida útil del mismo; agregar los paraprobióticos antes de someter al alimentos a tratamiento térmico; la aplicación en una mayor variedad de productos; así como facilitar el almacenamiento y la transportación (Ishikawa *et al.*, 2010).

2.2. Desafíos de la aplicación de paraprobióticos en alimentos

Según de Almada *et al.* (2016), los principales desafíos para la aplicación de paraprobióticos en alimentos es la selección de las cepas de probióticos, para la generación de paraprobióticos, de acuerdo al beneficio a la salud del huésped que se espera. También es importante mencionar que, a pesar de que se han utilizado diferentes métodos para la inactivación de probióticos, es necesario estudiar con mayor profundidad si es que todos los métodos de inactivación son apropiados para todas las especies/cepas; la influencia de los métodos de inactivación y sus condiciones, sobre la estabilidad y efectividad de los beneficios que los paraprobióticos otorgan al huésped; y el uso potencial en diferentes tipos de alimentos. Por otro lado, otro desafío es determinar la presentación en la que los paraprobióticos son comercializados y adicionados a los ali-

mentos. También debe considerarse la propuesta, revisión y aprobación de normas que regulen el uso de los paraprobióticos en alimentos.

2.1 Conclusiones y comentarios finales

Hasta el momento se han realizado varias investigaciones sobre los paraprobióticos de diferentes cepas de microorganismos probióticos y sobre los métodos de inactivación para obtenerlos, así como sobre los diferentes beneficios que el consumo de éstos produce al huésped. Sin embargo, el uso y aplicación de los paraprobióticos en los alimentos es una gran área de oportunidad para los investigadores, ya que no hay información reportada sobre su incorporación en alimentos, aun cuando éstos ya son utilizados en la industria farmacéutica y se comercializan como suplementos alimenticios.

Agradecimientos

D. Arrijoa-Bretón agradece a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) por el financiamiento para sus estudios de posgrado, impulsando el desarrollo de la investigación.

Referencias

- Adams, C. A. (2010). The probiotic paradox: live and dead cells are biological response modifiers. *Nutrition Research Reviews*, 23(1), 37-46.
- Ananta, E. y Knorr, D. (2009). Comparison of inactivation pathways of thermal or high pressure inactivated *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 by flow cytometry analysis. *Food Microbiology*, 26(5), 542-546.
- Awad, H., Mokhtar, G., Imam, S. S., Gad, G. I., Hafez, H. y Abous-hady, N. (2010). Comparison between killed and living probiotic usage versus placebo for the prevention of necrotizing enterocolitis and sepsis in neonates. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13, 253-262.
- Brimpa, A., Sfika V. y Vantarakis, A. (2013). Ultraviolet light and ultrasound as non-thermal treatments for the inactivation of microorganisms in fresh ready-to-eat foods. *International Journal of Food Microbiology*, 167(1), 96-102.
- Chiu, Y. H., Lu, Y. C., Ou, C. C., Lin, S. L., Tsai, C. C., Huang, C. T. y Lin, M. Y. (2013). *Lactobacillus plantarum* MYL26 induces endotoxin tolerance phenotype in Caco-2 cells. *BMC Microbiology*, 13, 190-199.
- de Almada, C. N., Almada, C. N., Martinez, R. C. R. y Sant'Ana, A. S. (2016). Paraprobiotics: Evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. *Trends in Food Science and Technology*, 58, 96-114.
- (FAO/WHO) Food and Agriculture Organization/World Health Organization. (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London Ontario, Canadá <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf> (revisado 27/01/2017).
- Franz, C. M. A. P., Specht, I., Cho, G. S., Graef, V. y Stahl M. R. (2009). UV-C-inactivation of microorganisms in naturally cloudy apple juice using novel inactivation equipment based on Dean vortex technology. *Food Control*, 20(12), 1103-1107.
- Good, M., Sodhi, C. P., Ozolek, J. A., Buck, R. H., Goehring, K. C., Thomas, D. L., ... Hackam, D. J. (2014). *Lactobacillus rhamnosus* HN001 decreases the severity of necrotizing enterocolitis in neonatal mice and preterm piglets: evidence in mice for a role of TLR9. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 306(11), G1021-G1032.
- Herrero, A. U. C. y Avila, M. U. C. H. (2016). Innovaciones en el procesado de alimentos: Tecnologías no térmicas. *Revista de Medicina de La Universidad de Navarra*, 50(4), 71-74.
- Ishikawa, H., Kutsukake, E., Fukui, T., Sato, I., Shirai, T., Kurihara, T., ... Matsumoto, T. (2010). Oral Administration of Heat-Killed *Lactobacillus plantarum* Strain b240 Protected Mice against *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 74(7), 1338-1342.
- Ou, C. C., Lin, S. L., Tsai, J. J. y Lin, M. Y. (2011). Heat-killed lactic acid bacteria enhance immunomodulatory potential by skewing the immune response toward Th1 polarization. *Journal of Food Science*, 76(5), M260-M267.
- Pidgorsky, V. S., Shynkarenko-Sichel, L. N., Timoshok, T. A. y Spivak, N. Y. (2008) Study of interferonogenous activity of the new probiotic formulation del-immune V®. *Journal Immunology and Allergy [Ukraine]*, 2, 16-23.
- Piyasena, P., Mohareb, E. y McKellar, R. C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 87(3), 207-216.
- Raz, E. y Rachmilewitz, D., (2005). Inactivated probiotic bacteria and methods of use thereof. Patent n.US20050180962

- Sawada, D., Sugawara, T., Ishida, Y., Aihara, K., Aoki, Y., Takehara, I., ... Fujiwara, S. (2015). Effect of continuous ingestion of a beverage prepared with *Lactobacillus gasseri* CP2305 inactivated by heat treatment on the regulation of intestinal function. *Food Research International*, 79, 33-39.
- Shigwedha, N., Sichel, L., Jia, L., Al-Shura, A. N. y Zhang, L. (2015). Probiotics, Paraprobiotics, and Probiotical Cell Fragments (PCFs) as Crisis Management Tools for Important Health Problems. *AASCIT Journal of Medicine*, 1(1), 1-9.
- Shigwedha, N., Zhang, L., Sichel, L., Jia, L., Gong, P., Liu, W., ... Gao, W. (2014). More than a few LAB alleviate common allergies: impact of paraprobiotics in comparison to probiotical live cells. *Journal of Biosciences and Medicines*, 2(3), 56-64.
- Shin, H. S., Park, S. Y., Lee, D. K., Kim, S. A., An, H. M., Kim, J. R., ... Ha, N. J. (2010). Hypocholesterolemic effect of sonication-killed *Bifidobacterium longum* isolated from healthy adult Koreans in high cholesterol fed rats. *Archives of Pharmacal Research*, 33(9), 1425-1431.
- Taverniti, V., y Guglielmetti, S. (2011). The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes and Nutrition*, 6(3), 261-274.
- West, R.D., Roberts, E., Sichel, L.S. y Sichel, J. (2013) Improvements in gastrointestinal symptoms among children with Autism Spectrum Disorder receiving the Delpro® probiotic and immunomodulator formulation. *Journal of Probiotics and Health*, 1 (1), 2-7.

Artículos de revisión

Efectividad antimicrobiana de aceites esenciales y sus componentes encapsulados

N. Ruíz-González y M. T. Jiménez-Munguía

Betalaínas: importancia, presencia en vegetales y sus aplicaciones en la industria alimentaria

A. González-Ortíz* y J. A. Guerrero-Beltrán

Coacervación compleja: una alternativa como método de microencapsulación

R. Hernández-Nava* y M. T. Jiménez-Munguía

Paraprobióticos y su aplicación en alimentos

D. Arrioja-Bretón y A. López-Malo

UDLAP[®]

Departamento de Ingeniería
Departamento de Ingeniería Química y Alimentos
Universidad de las Américas Puebla