

Bionatura

International Journal of Biotechnology and Life Sciences



Jörg Hempel, CC BY-SA 2.5, via Wikimedia. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pleurotus_pulmonarius.SOUTHbay.jpg



<https://cebaecuador.org/>



<https://www.uco.edu.co/>





¡Descubrimos nuevos talentos!

El concurso **iberoamericano Solo de Ciencia** fomenta la divulgación científica y tecnológica a través de monólogos creativos.

Si eres:

- Ecuatoriano.
- Mayor de edad.
- Estás cursando estudios o ya cuentas con un título de 4to nivel.

GRABA UN MONÓLOGO CREATIVO
e inédito de 3 minutos sin cortes y efectos especiales.



Se evaluarán habilidades comunicativas, contenido divulgativo y rigor científico.

El ganador nacional del concurso Solo de Ciencia **representará** al Ecuador ante otros ganadores de los países iberoamericanos.

Premio: Viaje a Lima para participar en la final Iberoamericana.

Conoce las bases, **ánimate y postula hasta el 14 de julio en**
En: <https://siau.senescyt.gob.ec/solo-de-ciencia-ecuador/>



Secretaría de Educación Superior,
Ciencia, Tecnología e Innovación

**EL NUEVO
ECUADOR**

**Secretaría de Educación Superior,
Ciencia, Tecnología e Innovación**



El **Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente** - CEBA, es una institución de Investigación, Desarrollo e Innovación (I+D+i), constituida bajo la forma de Fundación de utilidad común, sin fines de lucro, religioso, racial, político y de género. Es una persona jurídica de derecho privado, reconocida por el Estado ecuatoriano mediante acuerdo No. 026, del 17 de marzo de 2009 del Ministerio del Ambiente, publicado en el Registro Oficial No. 579 del 28 de abril de 2009.

CEBA mantiene un enfoque científico-empresarial, con una filosofía de trabajo por resultados fundamentada en la competitividad. Promueve y apoya toda actividad encaminada a conseguir un equilibrio adecuado para el desarrollo de la *Bioeconomía*. CEBA se alinea a los objetivos de desarrollo sostenible de la ONU, los resultados científicos se difunden a través de sus revistas:

BIONATURA. ISSN 1390-9355 soporte online e ISSN 1390-9347 soporte impreso.

- <https://revistabionatura.org/>
- <https://portal.issn.org/custom-search/print/1390-9355/public>

BIORREFINERÍA. ISSN 2602-8530 soporte online.

- <https://www.cebaecuador.org/publicaciones/revista-biorrefineria/>
- <https://portal.issn.org/custom-search/print/2602-8530/public>

Filosofía. CEBA mantiene su propia filosofía para el Desarrollo Social y Económico del ser humano, fundamentada en las **3S** (sabiduría, salud y seguridad).

Misión. Proveer el soporte científico, tecnológico y empresarial a la *Bioeconomía* del Ecuador y del mundo, mediante el desarrollo de la *Bioeducación*, *Biociencia* y *Bioinnovación*, que permita el máximo aprovechamiento de la biodiversidad y contribuya con el bienestar del ser humano y del planeta.

Visión. Ser una persona global, de bien y progreso, responsable, que hace su aporte para el bienestar del ser humano y del planeta.

Valores. Integridad, calidad, responsabilidad, liderazgo, colaboración y diversidad.

Alejandro Pineda Soto

Director Ejecutivo

Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente - CEBA

Contacto

Periférico Sur s/n, Fincas San Agustín, San Antonio. Ibarra-Ecuador

<https://cebaecuador.org/>

inf.ceba@gmail.com

info@cebaecuador.org

Telf.: (+593) 99 579 7813

Bionatura

La Revista Bionatura (en inglés, Bionatura Journal) del Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), fue creada en el año 2015 con la finalidad de difundir los resultados científicos y tecnológicos obtenidos de la investigación aplicada en el marco de la **Estrategia ecuatoriana de Bioeconomía-Horizonte 2035**, en el campo de las ciencias naturales, Ciencias de la Vida la Biotecnología, ensayos clínicos y médicos, Biodiversidad y Ecología en general. Publica manuscritos científicos originales del tipo empírico, revisiones, metodológicas y estudios de caso. Se edita en versión digital e impresa en idioma inglés y español con una frecuencia trimestral y está dirigida a la comunidad científica a nivel internacional. Los autores mantienen sus derechos sobre los artículos sin restricciones y opera bajo la política de Acceso Abierto a la Información, bajo la licencia de Creative Commons 4.0 CC BYNC-SA (Reconocimiento-No Comercial-Compartir igual). La revista utiliza Open Journal Systems, que es un gestor de revistas de acceso abierto y un software desarrollado, financiado y distribuido de forma gratuita por el proyecto Public Knowledge Project sujeto a la Licencia General Pública de GNU. La revista se encuentra inscrita en el Registro Nacional de Publicaciones Seriadas de la SENESCYT Ecuador e ISSN International Centre, Francia (<https://portal.issn.org/custom-search/print/1390-9355/public>).

La *misión* es aportar con conocimiento científico, técnico y económico para el desarrollo de la Bioeconomía Ecuatoriana y del mundo, mediante el uso eficiente y equilibrado de los recursos naturales, así como el aprovechamiento adecuado de los recursos genéticos microbianos, las biomasas de carbono disponible y los bioprocesos tecnológicos existentes, que permita el máximo aprovechamiento del conocimiento para el bienestar del ser humano y del planeta.

La *visión* es inspirar a las futuras generaciones para que aporten con el desarrollo social y económico del planeta, basado en una Bioeconomía respetuosa con el medioambiente y el ser humano.

El *objetivo* es difundir el conocimiento sobre los avances de la ciencia, la tecnología y la innovación de la Bioeconomía Ecuatoriana y del mundo, mediante la herramienta online, que permita llegar a la mayoría de la población.

Revista Bionatura tiene alcance nacional e internacional, con especial enfoque en el desarrollo de la Bioeconomía y dirigida a la comunidad científica.

Cobertura de Temáticas

- Ciencias Naturales
- Ciencias de la Vida
- Biotecnología
- Biomedicina
- Microbiología
- Biología
- Biodiversidad
- Bioquímica

Contacto

<https://revistabionatura.org/>

editor@revistabionatura.org

info@revistabionatura.org

Cel. (+593) 99 579 7813



Equipo Editorial

Alejandro Pineda Soto
Director Ejecutivo CEBA/ CEBA
Executive Director

Julio Pineda Insuasti, PhD
Director General / Managing
Director

Gustavo Reyes Lara, MSc.
Director de Innovación / Innovación
Director

Daymé Mederos Matos, MSc.
Director Técnico / Technical Director

- **Luisa Matos Mosqueda, PhD**
Editor Jefe / Chief Editor
- **Lourdes Crespo Zafra, PhD**
Redacción y Corrección / Writing
and Correction
- **Nicolas Vaca Viteri, Tec.**
Diseño Gráfico/ Graphic Design
- **Gabriela Veloz Salazar, MSc.**
Asistente publicación / Publishing
Assistant

Contacto

<https://revistabionatura.org/>
editor@revistabionatura.org
info@revistabionatura.org
Cel. +593 99 579 7813
Ibarra-Ecuador

ESTRATEGIA ECUATORIANA DE BIOECONOMÍA-HORIZONTE 2035

El desarrollo económico del mundo ha evolucionado a medida de la evolución del ser humano y ha tenido varios enfoques:

1. La **economía de la caza y la recolección**. practicada principalmente por el hombre primitivo, ha durado cientos de miles de años.
2. La **economía agraria**. basada en la agricultura, ha durado un promedio de 10 000 años.
3. La **economía industrial**. basada en la industrialización, nace en Gran Bretaña en 1870 y finaliza en EE. UU en 1950.
4. La **economía de la información**. basada en los sistemas informáticos, ha tenido un tiempo de duración entre 75 a 80 años y finalizó en el año 2020.
5. La **Bioeconomía**. basada en el aprovechamiento de la biodiversidad y el biocarbono (carbono verde), inicia a partir del año 2020.

La mayoría de las economías se han basado en el aprovechamiento de fuentes de carbono negro como el petróleo, gas y carbón, recursos naturales no renovables que su aprovechamiento ha generado desarrollo económico con efectos e impactos ambientales nocivos para el ser humano y el planeta.

El ser humano a partir del año 2020 le apuesta por una economía basada en el aprovechamiento del carbono verde, este enfoque de desarrollo se lo conoce como **Bioeconomía**.

La Bioeconomía se fundamenta en tres pilares, la **biodiversidad** como fuente de recursos genéticos, las **biomasas** como fuente de biocarbono y las **Biorrefinerías** como un sistema de operaciones y procesos para la producción de bioproductos en todos los sectores económicos, como la agricultura, alimentación, energía, salud, industria, ambiente, etc.

CEBA, realiza su aporte al desarrollo de la bioeconomía a través de la **Estrategia Ecuatoriana de Bioeconomía-Horizonte 2035** y ejecuta un programa orientado a fortalecer los tres pilares de la bioeconomía:

Pilar 1. Biodiversidad. Programa de Biobanco de Recursos Genéticos Microbianos.

Pilar 2. Biomasa. Programa de biobanco de carbono verde.

Pilar 3. Biorrefinerías. Programa de bioprocesos, escalado e ingenierización.

Los componentes transversales de cada programa son la Bioeducación, la Biociencia/Biotecnología y la Bioinnovación.

CEBA, difunde sus resultados científicos a través de sus revistas:

Bionatura (Bionatura Journal)

ISSN 1390-9355 soporte online
ISSN 1390-9347 soporte impreso.
<https://revistabionatura.org/>

<https://portal.issn.org/custom-search/print/1390-9355/public>

Biorrefinería (Biorefinery Journal)

ISSN 2602-8530 soporte online.
<https://www.cebaecuador.org/publicaciones/revista-biorrefineria/>
<https://portal.issn.org/custom-search/print/2602-8530/public>
biorrefineria.ceba@gmail.com

CONSEJO EDITORIAL / EDITORIAL BOARD

CONSEJO EDITORIAL PRINCIPAL/ PRINCIPAL EDITORIAL BOARD

Dr. Fernando Albericio, Ph.D. Full Professor. University of KwaZulu-Natal. Durban, South Africa.

Dr. Spiros N. Agathos, Ph.D. Full Professor. Université Catholique de Louvain - UCLouvain. Louvain-la-Neuve, Belgium.

Dr. Frank Alexis. Research / Full Professor. Vice Chancellor Of Research and Innovation. Yachay Tech University, Ecuador.

CONSEJO EDITORIAL / EDITORIAL BOARD

Dr. Gerardo Ferbeyre. Full Professor. Département de biochimie.Faculté de Médecine. Université de Montréal, Canadá.

Dr Frank Camacho Casanova. Ph.D , Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. Chile.

Dr. Eduardo López Collazo. Director IdiPAZ Institute of Biomedical Research, La Paz Hospital, España.

Dr.Yovani Marrero-Ponce, Ph.D. Full Professor. Universidad San Francisco de Quito (USFQ), Quito, Ecuador.

Dr. Manuel Limonta, Prof. PhD. Director: Regional Office for Latin American and the Caribbean International Council for Science (ICSU). Doctor honoris causa Autonomous Metropolitan University of México City (UAM). Dr. Honoris Causa - Universidad Central Ecuador.

Dr. Dagoberto Castro – Restrepo. Prof. PhD. Research and Development Director. Universidad Católica del Oriente. Río Negro. Colombia.

Dr. Michael Szardenings. PhD. Ligand Development Unit.Fraunhofer Institute for Cell Therapy and Immunology.Germany.

Dr. Luciana Dente. Research Professor University of Pisa, Italy.

Dr. Costantino Vetriani. Research / Full Professor. Rutgers, The State University of New Jersey. USA.

Dr. Si Amar Dahoumane, PhD. Research / Professor. Yachay Tech University, Ecuador.

Dr. Amit Chandra, MD, MSC, FACEP Global Health Specialist, Emergency PhysicianMillennium Challenge Corporation, London School of Economics and Political Science.

Dr. Silvio e. Perea, PhD. Head of the Molecular Oncology Laboratory. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Cuba.

Dr. Daynet Sosa del Castillo, PhD. Directora del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador. CIBE-ESPOL.

Dr. Consuelo Macías Abraham. Especialista de II Grado en Inmunología, Investigadora y Profesora Titular, Doctora en Ciencias Médicas y Miembro Titular de la

Dra. Maritza Pupo. Profesora investigadora. Facultad de Biología. Universidad de la Habana, Cuba.

Dr. Fidel Ovidio Castro. Founder, Profesor investigador. Tecelvet, Chile.

Dra. Olga Moreno. Partner, Head Patent Division. Jarry IP SpA, Chile.

Dr. Carlos Borroto. Asesor de Transferencia de Tecnología. Dirección General at Centro de Investigaciones Científicas de Yucatán (CICY), México.

Dr. Javier Menéndez. Manager Specialist Process and Product 5cP. Sanofi Pasteur, Canadá.

Dr. Pedro Valiente. Profesor investigador. Facultad de Biología. Universidad de la Habana, Cuba.

Dr. Diógenes Infante. Prometeo / SENESCYT. Especialista de primer nivel en Biotecnología. Universidad de Yachay Tech, Ecuador.

Dra. Georgina Michelena. Profesora Investigador. Organización de las Naciones Unidas. (ONU), Suiza.

Dr. Francisco Barona, Profesor Asociado. Langebio Institute, México

Dr. Gustavo de la Riva. Profesor Investigador Titular. Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, México.

Dr. Manuel Mansur. New Product Introduction Scientist (NPI) at Elanco Animal Health Ireland, Irlanda.

Dr. Rolando Pajón. Associate Scientist, Meningococcal Pathogenesis and Vaccine Researc. Center for Immunobiology and Vaccine Development, UCSF Benioff Children’s Hospital Oakland”, Estados Unidos.

Dra. Ileana Rosado Ruiz-Apodaca. Profesor / Investigador. Universidad de Guayaquil, Ecuador.

Dr. Carlos Eduardo Giraldo Sánchez, PhD. Profesor / Investigador. Universidad Católica de Oriente. Rionegro-Antioquia/Colombia.

Dr. Mario Alberto Quijano Abril, PhD. Profesor / Investigador. Universidad Católica de Oriente. Rionegro-Antioquia/Colombia.

Dr. Felipe Rojas Rodas, PhD. Profesor / Investigador. Universidad Católica de Oriente.Rionegro-Antioquia/Colombia.

Dra. Isabel Cristina Zapata Vahos. Profesor / Investigador. Universidad Católica de Oriente.Rionegro-Antioquia/Colombia.

Dr. Felipe Rafael Garcés Fiallos, PhD. Profesor / Investigador. Vicerrectorado de Investigación, Gestión Social del Conocimiento y Posgrado Universidad de Guayaquil (UG), Ecuador.

Dra. Celia Fernández Ortega. PhD. Investigadora Titular. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Editora ejecutiva Biotecnología Aplicada. Cuba.

Dra. Ligia Isabel Ayala Navarrete, PhD. Profesor / Investigador. Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE. Ecuador.

Academia de Ciencias de Cuba. Directora del Instituto de Hematología e Inmunología (IHI), de La Habana, Cuba.

Dr. René Delgado, PhD. IFAL / Presidente Sociedad Cubana de Farmacología. Cuba.

Dr. Ramón Guimil. Senior Director. Oligonucleotide Chemistry bei Synthetic Genomics, Estados Unidos.

Dr. Eduardo Penton. MD, PhD. Investigador Titular. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Cuba.

Dr. Julio Raúl Fernández Massó, PhD. Investigador Titular. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Cuba

Dra. Lisset Hermida. Investigadora Titular. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Cuba.

Dr. Tirso Pons. Staff Scientist. Structural Biology and Biocomputing Programme (CNIO), España.

Dr. Che Serguera. French Institute of Health and Medical Research. MIRCen, CEA, Fontenay-aux-Roses Paris, France.

Dr. Jorge Roberto Toledo. Profesor Asociado. Universidad de Concepción, Chile.

Dr. Oliberto Sánchez. Profesor Asociado. Universidad de Concepción, Chile.

Dr. Aminael Sánchez Rodríguez, PhD. Director del departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador.

Dr. Nalini kanta Sahoo, PhD. Professor & Head Department Marri Laxman Reddy Institute of Pharmacy. Hyderabad, Andhra Pradesh, India.

Dr. Saman Esmailnejad, PhD. Department of medical sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Dr. Olukayode Karunwi, PhD. Research / Professor. Clemson University. Clemson, United States.

César Paz-y-Miño, MD. MSc. Dr. Facultad de Ciencias de la Salud "Eugenio Espejo", Universidad UTE, Quito, Ecuador.

Dra. Rosa Victoria González Zambrano, PhD. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López: Calceta, Provincia de Manabí, Ecuador.

Dr. Gualberto León Revelo, PhD. Universidad Politécnica Estatal Del Carchi: Tulcán, Carchi, Ecuador.

Dr. Ernesto Alonso Rosero Delgado, PhD. Universidad Técnica de Manabí, Ecuador.

Juan Carlos Fiallos Quinteros, MSc.

Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente: Ibarra, Imbabura, Ecuador.

CONTENIDO / CONTENT

1	Análisis multivariado con la conductividad eléctrica durante la coagulación en la producción de queso fresco.....	9
2	Harina de achiote (<i>Bixa orellana L</i>) en el mejoramiento organoléptico y coloración en pollos de engorde.....	22
3	Resultados de las acciones en la producción agrícola para alcanzar la Soberanía Alimentaria en Cuba.....	37
4	Study of DNA damage through cytogenetic evaluation in smokers and vapers with and without nicotine.....	55
5	Análisis de riesgos operacionales en una planta procesadora de sábila.....	67
6	Development of an instant drink rich in polyphenols from the flower of the majagua (<i>Talipariti elatum</i>).....	92
7	Enzymatic deacetylation of chitin using beta-glucosidase as a biocatalyst.....	106
8	Capacidad antioxidante y caracterización fisicoquímica de una bebida refrescante con zumos de bilimbi y sandía.....	120
9	Enfoque de la teoría tridimensional de la contabilidad (T3C): Un análisis de la valoración patrimonial de las Pymes Agrícolas de la Región 4 del Ecuador.....	141
10	Leche fermentada simbiótica a partir de cocultivo con una cepa autóctona aislada de leche materna.....	151
11	Mezcla óptima de enzimas comerciales y autóctonas para la hidrólisis en el desarrollo sinérgico de la industria química y las biorrefinerías.....	168
12	Análisis bibliométrico para identificar brechas en la literatura científica sobre la innovación y el diseño óptimo multicriterio de biorreactores anaeróbico de flujo ascendente (UASB).....	186
13	The Mediterranean diet as a nutritional intervention strategy in young adolescents.....	205

Instrucciones Autores

1 Análisis multivariado con la conductividad eléctrica durante la coagulación en la producción de queso fresco.

Multivariate analysis with electrical conductivity during coagulation in fresh cheese production.

Eileen Rodríguez González ^{1*}; Eduardo García Noa ².

¹ Ministerio de la Industria Alimentaria (MINAL) / La Habana / Cuba

² Universidad Tecnológica de La Habana (Cujae) / La Habana / Cuba

* Correspondence: egarcianoa@quimica.cujae.edu.cu; Tel.: (+53 5622 5798)

Available from. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.1>

Resumen

Para establecer las condiciones de operación en la producción de queso fresco, que permitan incrementar el rendimiento, se evaluó el proceso de formación de la cuajada durante los 40 min posteriores a la adición del cuajo, registrando la conductividad eléctrica. Estas mediciones permitieron identificar tres fases en el comportamiento de la conductividad y delimitar el tiempo de corte. Se ajustó un modelo de regresión múltiple, que explica el 93,25 % de la variabilidad del tiempo de corte respecto a la densidad, grasa y sólidos no grasos de la leche, temperatura de pasteurización, tiempo de retención y temperatura de coagulación. Se validó la exactitud de la estimación por el modelo de los indicadores de eficiencia con tres corridas experimentales. Con el análisis del rendimiento por mínimos cuadrados parciales se estableció un modelo con 10 variables de operación, con un error cuadrático de predicción igual a 4,75. Basado en el efecto de las variables en este modelo y bajo las condiciones de operación más favorables en la etapa de obtención de la cuajada, se pueden obtener rendimientos de hasta un 17,79 %. Bajo estas condiciones se logran 21,63 kg de cuajada adicionales por cada 1000 L de leche, con un efecto económico significativo de 50.00 USD.

Palabras claves

Conductividad eléctrica; coagulación enzimática; matemática multivariada; queso fresco; rendimiento; tiempo de corte.

Abstract

To establish operating conditions for the production of fresh cheese to improve the yield, the curd formation process was evaluated over 40 min after the addition of the rennet recording the electrical conductivity. The recorded values allowed the identification of three phases for the conductivity behavior and demarcate the cutting time. It fitted a multiple regression model that explained 93.25%

of the variability of the cutting time concerning the density, fat and non-fat solid content of the milk, pasteurization temperature, retention time, and coagulation temperature. This demonstrated the accuracy of estimating technological efficiency indicators using the adjusted model with three validation runs. The analysis of the yield by Partial Least Squares established a mathematical model with 10 operating variables with a prediction squared error of 4.75. Based on the effects of the variables in these models and under the most favorable operating conditions for curd formation, the yields can reach to 17.79%. Working under those conditions, an additional 21.63 kg of curd can be achieved for 1000 L of milk, resulting in a significant economic effect of 50.00 USD.

Keywords

Cutting time; electric conductivity; enzymatic coagulation; fresh cheese; multivariate methods; yield.

Introducción

La leche es un alimento básico en la alimentación humana, en todas las etapas de la vida y una materia prima para la industria transformadora¹, con una composición química muy compleja y completa. Su aptitud quesera está determinada esencialmente, por las propiedades de coagulación con cuajo, que a su vez determinan el rendimiento quesero. Cualquier variación en el contenido y composición de proteínas, afecta las propiedades de coagulación y la formación del coágulo²⁻³. Se ha comprobado que es afectada, además, por indicadores de calidad como el recuento de células somáticas³⁻⁴. Un alto contenido de células somáticas en leche es indicativo de la existencia de mastitis bovina. Durante esta enfermedad de la ubre, los cambios en la concentración de minerales en la leche, provocan un aumento de la conductividad eléctrica⁵, aunque otros factores como la temperatura, el pH y la concentración de grasa, también tienen un efecto en esta medición⁶.

El queso fresco es un derivado lácteo, obtenido por coagulación enzimática, fenómeno fisicoquímico que se conoce desde hace milenios⁷. En este proceso la formación del gel se debe a los cambios que tienen lugar en las micelas de caseína y está combinada con un proceso de agregación. En la práctica industrial actual, la decisión sobre el final de la coagulación o momento de corte de la cuajada se realiza a partir de criterios empíricos por el maestro quesero. Esto implica gran variabilidad o falta de estandarización en el control del proceso, así como bajo y muy variable aprovechamiento de los componentes de la leche. Económicamente es fundamental obtener un buen rendimiento y para ello es imprescindible controlar todo el proceso. Un corte prematuro de la cuajada, cuando aún es excesivamente frágil, da lugar a una pérdida de rendimiento por aumento de finos de caseína y grasa en el suero⁸, mientras que un corte tardío produce un aumento de humedad de la cuajada y una disminución de calidad. Estas razones sugieren la necesidad de contar con un método adecuado de determinación del tiempo óptimo de corte en la fabricación de queso⁹⁻¹⁰. Teniendo en cuenta que

durante la coagulación ocurren procesos bioquímicos que modifican la concentración electrolítica del medio y dado que los métodos instrumentales se caracterizan por poseer una alta estabilidad y precisión, se partió de la hipótesis de que era posible establecer el tiempo de corte de la cuajada a partir de las mediciones de la conductividad eléctrica y ajustar modelos probabilísticos que lo incluyan.

Por todo lo antes planteado esta investigación tuvo como objetivo general establecer las condiciones de operación en la producción de queso fresco que permitan incrementar el rendimiento basado en los modelos matemáticos que relacionan este indicador con los parámetros de mayor peso en proceso productivo, lo que imprime novedad al resultado obtenido, ya que no se han reportado en la literatura técnica modelos multivariados que describan la relación entre variables estudiadas ni se había realizado el análisis de esta tecnología con modelos de este tipo.

Materiales y métodos

El proceso experimental investigativo tuvo lugar en las instalaciones de una planta piloto de lácteos con capacidad productiva de 5000 L de leche al día. Las materias primas empleadas para el proceso de producción del queso fresco incluyeron leche entera fresca, cuajo microbiano, solución de cloruro de calcio al 50 %, sal y cultivos lácticos mesófilos y termófilos.

El proceso de formación de la cuajada fue evaluado con seis muestras durante los 40 min posteriores a la adición del cuajo y con espacio de 5 min, mediante control de la conductividad eléctrica, con el empleo de un medidor multipropósito portátil 3430 de WTW. Con los valores registrados, se realizaron gráficos de conductividad contra tiempo y se analizó su comportamiento.

Para obtener un modelo matemático que permita estimar el momento de corte, se desarrollaron 12 producciones determinando el tiempo de corte por el comportamiento de la conductividad y realizando las mediciones de la densidad, contenidos en grasa y sólidos no grasos de la leche empleando la norma cubana correspondiente¹¹, y la temperatura de pasteurización, tiempo de retención y temperatura de coagulación. La tabulación y organización de estos datos fue realizada en el programa Microsoft Excel y mediante el Statgraphics Centurion XV se logró ajustar un modelo de regresión lineal múltiple para describir la relación entre tiempo de corte (min) y las variables independientes medidas. La calidad de ajuste del modelo se evaluó considerando un valor del coeficiente de determinación superior al 90 %, teniendo en cuenta la significación de los coeficientes para cada variable, a partir de una prueba F de Fisher y por análisis de la independencia de los residuos a través del estadístico de Durbin-Watson (DW). El modelo ajustado fue empleado para predecir el tiempo de corte en tres producciones posteriores y se validaron los resultados en cuanto a

rendimientos y pérdidas del proceso. Fue calculado como indicador de eficiencia tecnológica, el aprovechamiento de componentes.

Para la modelación matemática del rendimiento se estudiaron otros ocho procesos productivos de queso fresco mediante el control de 10 variables independientes que incluyen los valores de conductividad eléctrica, grasa, sólidos solubles (°Brix), pH y sólidos totales de la leche¹²⁻¹³, así como las temperaturas de coagulación, cocción, pasteurización y los tiempos de retención y coagulación. El análisis multivariado se realizó con Statgraphics Centurion XV mediante las etapas siguientes:

a) Cálculo de los componentes principales: Se consideró un porcentaje superior a 85 % de la variable explicada en la selección del mínimo de componentes.

b) Procedimiento para el análisis por mínimos cuadrados parciales (MCP): Se tuvieron en cuenta tres componentes principales y 10 variables independientes para obtener los modelos de rendimiento real. La significación de los modelos se comprobó para un 95% de confiabilidad a través del valor-p. La calidad de predicción se analizó a través del valor PRESS (sumatoria cuadrada del error de predicción) y la validación de los modelos fue realizada por el método “sacar uno a la vez”. Se ajustaron estos modelos para las variables codificadas y también sin codificar. El modelo codificado fue utilizado para determinar las variables independientes de mayor peso en la variable dependiente y el modelo sin codificar se empleó para simular el proceso y evaluar alternativas de mejora en las condiciones de operación, buscando un incremento del rendimiento en la etapa. Para estimar el efecto económico de trabajar bajo las condiciones seleccionadas, se calculó el beneficio económico considerando el rendimiento estimado y el mayor rendimiento experimental.

Adicionalmente el modelo de MCP ajustado fue validado con tres producciones. Los lotes fueron muestreados para la determinación de humedad y grasa en el caso de los quesos empleando las normas cubanas correspondientes. Se determinó el rendimiento real obtenido y el rendimiento ajustado (fórmula de Maubois y Mocquot) que permite conocer la posible desviación del rendimiento obtenido (real), con respecto a la composición normada para el queso (50 % de humedad).

Resultados y discusión

La figura 1 presenta los valores de conductividad eléctrica medidos en el tiempo durante la formación de la cuajada en las seis producciones estudiadas. En estas curvas se aprecia un comportamiento similar al descrito por Tsouli¹⁴ en sus experimentos. La conducta mostrada puede enmarcar tres fases, definidas por una etapa inicial muy inestable caracterizada por aumentos y disminuciones hasta un punto bajo de conductividad entre los 15 - 25 min y luego un punto alto sobre los 30 min. El aumento de la conductividad durante los primeros 15 min puede considerarse que guarda relación con la restitución del calcio iónico de la leche, debido a la incorporación de cloruro de calcio en solución y

al aumento del CO_2 debido a la agitación de la leche. Al aumentar la concentración de un electrolito hay un aumento de la conductividad porque el número de portadores de carga por unidad de volumen normalmente aumenta al aumentar la concentración de electrolito. Este efecto es contrarrestado por el inicio de la coagulación, la aparición de caseinmacropéptido (CMP) y para κ -caseína con efectos marcados opuestos sobre la conductividad y además del empleo de calcio iónico para producir la agregación lo que provoca la reducción de la conductividad.

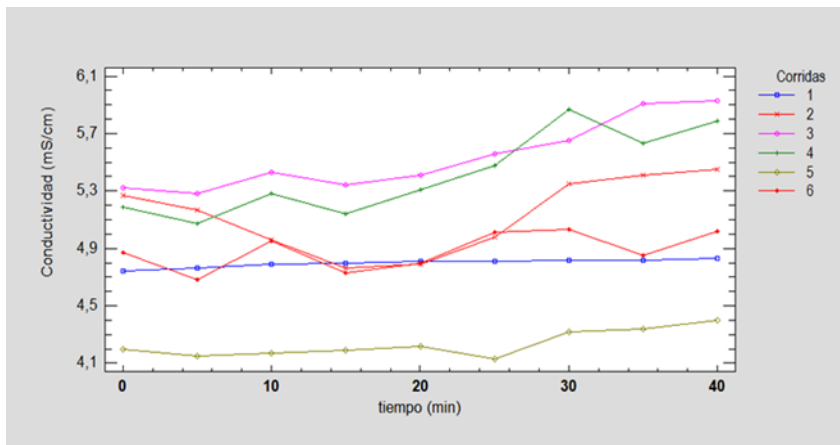


Figura 1. Conductividad vs. tiempo durante el proceso de formación de la cuajada.

Fuente: propia

La segunda fase, entre los 15 y 25 min que exhibe una disminución de la conductividad hasta alcanzar un valor mínimo. Se entiende que haya una disminución debido a que la formación del gel, luego de una coagulación enzimática, requiere de la participación del calcio iónico para la formación de puentes entre las micelas desestabilizadas de caseína. Por otro lado, el aumento de la viscosidad del coágulo durante el proceso¹³, reduce la movilidad de los iones provocando un descenso en la conductividad.

La tercera fase se caracteriza por el aumento de la conductividad, influenciado por la presencia en el medio del suero lácteo que se separa del coágulo, su concentración en minerales alrededor de 0,6 % y su menor viscosidad, permite mayor movilidad de los iones y un aumento de la conductividad. Además, la presencia de CMP en el suero de leche en concentraciones relativamente elevadas (1,2 a 1,5 g/L), que es un péptido de carácter ácido, fuertemente polar provoca que uno de los extremos de la molécula esté cargado positivamente, mientras el otro mantiene carga negativa, lo que favorece el aumento de la conductividad. El momento de corte debe coincidir con el punto más alto de la curva cuando ocurre el salto brusco de conductividad, que se puede asociar a la liberación del suero de la cuajada. Para la mayoría de las corridas el punto bajo coincide entre los 20 y 25 min y el punto alto entre los 25 y 30 min, que indica que el tiempo en que se debe realizar el corte de la cuajada está entre estos dos últimos valores.

Las tablas 1 y 2 muestran los resultados de ajustar un modelo de regresión lineal múltiple para describir la relación entre el tiempo de corte (t_{corte}) y cinco variables independientes. El mayor valor P reportado en la tabla 1 corresponde a la temperatura de pasteurización y es igual a 0,024, debido a que es menor que 0,05, este término es estadísticamente significativo con un nivel de confianza del 95,0 %, lo que indica que el modelo no podría simplificarse pues todas las variables independientes estudiadas son significativas. Puesto que el valor-P en la tabla 2 es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 95,0 %.

El estadístico R^2 obtenido indica que el modelo explica el 93,25 % de la variabilidad en el tiempo de corte. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 2,41. El estadístico de Durbin-Watson (1,22872) muestra un valor-P (0,1812) mayor que 0,05 por lo que no hay autocorrelación serial en los residuos con un nivel de confianza del 95,0 %, basada en el orden en que se presentan en el archivo de datos. Los resultados de estas pruebas confirman la validez estadística del modleo ajustado.

Tabla 1. Ajuste del modelo de regresión lineal múltiple para la relación entre los parámetros evaluados.

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico T	Valor-P
CONSTANTE	2515,80	848,59	2,965	0,023
ρ_{leche} (kg/L)	-2627,49	829,55	-3,167	0,019
SNG (%)	9,26	2,49	3,719	0,010
$T_{\text{coag.}}$ (°C)	1,14	0,27	4,207	0,006
$t_{\text{ret.}}$ (min)	0,77	0,15	5,078	0,002
$T_{\text{past.}}$ (°C)	1,26	0,42	2,999	0,024

Nomenclatura: tiempo de corte (t_{corte}) y la densidad de la leche (ρ_{leche}), los sólidos no grasos (SNG), el tiempo de coagulación ($T_{\text{coag.}}$), el tiempo de retención ($t_{\text{ret.}}$) y la temperatura de pasteurización ($T_{\text{past.}}$).

Fuente: propia

Tabla 2. Análisis de varianza en el ajuste del modelo de regresión lineal múltiple para la relación entre tiempo de corte (t_{corte}) y las variables independientes.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	482,089	5	96,4177	16,57	0,0019
Residuo	34,9114	6	5,81856		
Total (Corr.)	517,0	11			

Fuente: propia.

La ecuación (1) es el modelo ajustado para el tiempo de corte:

$$t_{\text{corte}} = 2515,80 - 2627,49 \rho_{\text{leche}} + 9,26 \text{SNG} + 1,14 T_{\text{coag.}} + 0,77 t_{\text{ret.}} + 1,26 T_{\text{past.}} \quad (1)$$

Los valores predichos, usando el modelo ajustado, del tiempo de corte para las tres corridas de validación resultaron en 29,9; 28,2 y 27,5 min, el error estándar para los valores predichos no exceden el 5 % con intervalos de confianza del 95,0% para pronósticos.

La tabla 3 muestra los porcentajes de aprovechamiento de grasa y sólidos totales, en la que se puede observar que las pérdidas en suero por conceptos de grasa y sólidos totales, se presentan acorde a los valores esperados¹⁴ que son alrededor de 10 y 48 %, respectivamente. Este comportamiento demuestra la exactitud en la estimación del momento de corte por el modelo ajustado y el aseguramiento de las operaciones posteriores.

Los valores reportados para el aprovechamiento de componentes resultan similares a los descritos por Hernández-Monzón¹⁵ en producciones con firmeza óptima para realizar el corte de la cuajada, definida por un método instrumental.

Las correlaciones significativas de las variables estudiadas con una probabilidad de más de un 95 % de confianza se presentan en la tabla 4. En ella se observa que todas las correlaciones son altas, es decir, se manifiesta un vínculo estrecho entre los valores de las mismas, pues todos los coeficientes son superiores a 0,72. Algunas de estas correlaciones son directas (signo positivo) y otras son inversas (signo negativo).

Tabla 3. Resultados en el aprovechamiento de grasa y sólidos totales en la coagulación.

Producción	Aprovechamiento grasa (%)	Aprovechamiento sólidos totales (%)
1	86,29	49,96
2	89,72	49,29
3	91,11	53,10
Promedio	89,04	50,78

Fuente: propia.

Tabla 4. Parámetros de operación correlacionados.

Correlaciones	Valor - p	Coefficiente de correlación
$Cd_{\text{leche}} - ^{\circ}\text{Brix}_{\text{leche}}$	0,0054	0,8662
$R_{\text{real}} - Cd_{\text{leche}}$	0,0125	0,8209
$R_{\text{real}} - ^{\circ}\text{Brix}_{\text{leche}}$	0,0009	0,9282
$ST_{\text{leche}} - G_{\text{leche}}$	0,0318	0,7509
$t_{\text{coag.}} - Cd_{\text{leche}}$	0,0396	-0,7304

$t_{ret.} - Cd_{leche}$	0,0341	0,7446
$pH_{leche} - T_{cocc.}$	0,0242	0,7741
$R_{real} - t_{ret.}$	0,0139	0,8143
$T_{coag.} - t_{coag.}$	0,0358	0,7399
$t_{ret.} - T_{past.}$	0,0236	-0,7759

Leyenda: conductividad leche (mS/cm): Cd_{leche} , Grasa de la leche (%): G_{leche} , °Brix de la leche: $°Brix_{leche}$, pH de la leche: pH_{leche} , Rendimiento Real (%): R_{real} , Sólidos Totales de la leche (%): ST_{leche} , Temp. Coagulación (°C): $T_{coag.}$, Temp. Cocción (°C): $T_{cocc.}$, Temp. Pasteurización (°C): $T_{past.}$, Tiempo de coagulación (min): $t_{coag.}$, Tiempo de retención (min): $t_{ret.}$

Fuente: propia.

La tabla 5 presenta los resultados del análisis de componentes principales obtenidos con el programa *Statgraphics Centurion XV*, en la que se aprecia que con tres componentes se explica el 86,4 % de la varianza total de los puntos experimentales y con cuatro componentes el 92,7 % de la varianza total. Ambos valores son aceptables, considerando que se trata de producciones experimentales a escala de banco. Por otra parte, un quinto componente incrementaría muy poco (en solo un 3 %) el acumulado de la varianza explicada, por lo que se justifica el uso de tres o cuatro componentes en el ajuste por MCP, con vistas a obtener un modelo matemático que establezca la relación funcional entre las variables del proceso y los rendimientos.

Tabla 5. Resultados del análisis de componentes principales.

Componente	Porcentaje de varianza	Porcentaje acumulado
1	47,922	47,922
2	25,529	73,451
3	12,936	86,387
4	6,319	92,706
5	3,248	95,954
6	2,451	98,405
7	1,595	100,000

Fuente: propia.

Las tablas 6 y 7 presentan el análisis de varianza y de calidad de ajuste de los modelos de MCP. El modelo de rendimiento real presentó buena calidad de ajuste para un 95 % de confiabilidad, pues el valor-p del análisis de varianza (0,0007) resultó inferior a 0,05; límite superior para esta prueba.

Tabla 6. Resultados del ajuste de mínimos cuadrados parciales para el rendimiento real.

Fuente	Suma de cuadrados	de Grados de libertad	de Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P

Modelo	32,209	3	10,736	67,230	0,00070
Residuo	0,638	4	0,159		
Total (corr.)	32,848	7			

Fuente: propia.

Además, el PRESS fue un valor de 4,746 para tres componentes y presentó un coeficiente de determinación (R^2) de 98,06 %, valor que manifiesta muy buena calidad en la predicción. Si se considera que el mejor modelo siempre es el más sencillo y que posea un buen ajuste, se aplicó este modelo para tres componentes, tal y como se ha empleado en estudios anteriores¹⁶.

La tabla 8 muestra los coeficientes con las variables estandarizadas y sin estandarizar para los modelos de rendimiento real.

Tabla 7. Calidad de predicción para el rendimiento real.

Componente	% Variación en Y	R^2	Cuadrado medio (PRESS)	R^2 predicción
1	82,4358	82,43	1,896	53,814
2	12,7739	95,20	2,515	38,741
3	2,84565	98,05	4,746	0,0

Fuente: propia.

Como resultado de evaluar las variables del proceso sobre el rendimiento real con el modelo obtenido por MCP, teniendo en cuenta las condiciones más favorables según los signos de los coeficientes y los valores experimentales de las variables, se obtuvo que se podía alcanzar un rendimiento de 17,79 %. Al seleccionar los niveles de cada variable a sustituir en el modelo, se tuvo en cuenta que no se hubiera contradicción entre los valores que se les asignaban y que en ninguna condición se presentaran posibles efectos negativos en el proceso. Para estimar el efecto económico de trabajar bajo estas condiciones propuestas, se consideró una producción de 1000 L de leche con una densidad de 1,030 kg/L. Si el rendimiento es de 17,79 % (183,237 kg) se obtendrían 21,63 kg de cuajada por encima de lo que se obtuvo en la producción de mayor rendimiento (15,69 % = 161,607 kg), por lo que si se considera que en las etapas posteriores a la formación de la cuajada las pérdidas no son muy grandes implicaría un ingreso adicional que puede ascender a 50.00 USD por cada 1000 L de leche.

Tabla 8. Coeficientes con las variables estandarizadas y no estandarizadas del modelo de rendimiento real.

Variable	Variable dependiente Rendimiento real	
	Coefficientes estandarizados	Coefficientes no estandarizados
Constante	0,00	-20,29

Cd _{leche}	0,26	1,49 mS/cm
G _{leche}	12,31	68,23 %
°Brix _{leche}	0,449	0,838
pH _{leche}	0,152	3,674
ST _{leche}	0,044	0,089 %
T _{coag.}	0,031	0,022 °C
T _{cooc.}	-0,091	-0,191 °C
T _{past.}	-0,125	-0,071 °C
t _{coag.}	0,168	0,049 min
t _{ret.}	0,294	0,071 min

Fuente: propia.

Conclusiones

Las curvas de conductividad contra tiempo de coagulación permitieron identificar al menos tres fases para el comportamiento de la conductividad. El corte de la cuajada debe realizarse cuando ocurre un cambio brusco de la conductividad, lo que sucedió entre los 25 y 30 min. Se logró ajustar un modelo de regresión lineal múltiple que explica el 93,25 % de la variabilidad del tiempo de corte respecto a la densidad, los contenidos en grasa y sólidos no grasos de la leche, la temperatura de pasteurización, el tiempo de retención y la temperatura de coagulación. Los resultados de los indicadores de la eficiencia tecnológica para las tres corridas de validación del modelo resultaron acorde a los valores esperados, lo que demuestra la exactitud en la estimación del momento de corte por el modelo ajustado y el aseguramiento de los cuidados posteriores. El modelo por Mínimos Cuadrados Parciales que establece la relación funcional entre el rendimiento real y las 10 variables de operación, posee un error cuadrático de predicción igual a 4,746, lo que indica la posibilidad de su empleo para simular esta etapa. Bajo las condiciones de operación más favorables en la etapa de obtención de la cuajada se pueden obtener rendimientos de hasta un 17,79 %. Al trabajar bajo estas condiciones se pueden lograr 21,63 kg de cuajada adicionales por cada 1000 L de leche, por lo que se incrementarán las ganancias en las producciones.

Contribución de los autores: conceptualización, Eileen Rodríguez González, metodología, Eduardo García Noa, validación, Eduardo García Noa, análisis, Eileen Rodríguez González, Eduardo García Noa, investigación, Eileen Rodríguez González, Eduardo García Noa, redacción, Eileen Rodríguez González, revisión y edición, Eduardo García Noa

Financiamiento: esta investigación no recibió financiamiento externo

Declaración del buró de revisión institucional: no aplicable

Declaración del informe de consentimiento: no aplicable

Conflicto de intereses: los autores expresan que no hay conflicto de intereses

Referencias

1. Huppertz, T., Chia, L.W., Milk protein coagulation under gastric conditions: A review. *International Dairy Journal*, **2020**. 113: Article INDA 104882. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104882>.
2. Zhang, L., Zhou, R., Zhang, J., Zhou, P., Heat-induced denaturation and bioactivity changes of whey proteins. *International Dairy Journal*, **2021**. 123: Article 105175. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105175>
3. Silvestre- de Oliveira, I.L., do Nascimento-Rangel, A.H., Coutinho-Madruga, R., Morais-de Lima, D., da Silva-Gomes, R.D., Cavalcanti-Sales D., Felipe-de Oliveira, J.P., da Silva-Bezerra, J., Composición fisicoquímica, rendimiento y aceptación sensorial del queso fresco Coalho obtenido a partir de leche de vaca cebú. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, **2021**. 12(2): p. 337-352. <https://doi.org/https://doi.org/10.22319/rmcp.v12i2.5600>
4. Ye, A., Cui, J., Carpenter, E., Prosser, C., Singh, H., Dynamic in vitro gastric digestion of infant formulae made with goat milk and cow milk: Influence of protein composition. *International Dairy Journal*, **2019**. 97(): p. 76-85. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.06.002>.
5. Teter, A., Kędzierska-Matysek, M., Barłowska, J., Król, J., Brodziak, A., Florek, M., The effect of humic mineral substances from oxyhumolite on the coagulation properties and mineral content of the milk of Holstein-Friesian cows. *Animals*, **2021**. 11: Article 1970. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11071970>
6. Vásquez, J.A., Novoa, C.F., Carulla, J.E., Efecto del recuento de células somáticas sobre la aptitud quesera de la leche y la calidad fisicoquímica y sensorial del queso campesino. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, **2014**. 61(2): p. 171-185.
7. Johri, A., Arora, N., Maansi, Mrigesh, M., Singh, S. y Singh, J., Milk electrical conductivity: an early tool to detect mastitis in buffaloes. *The Pharma Innovation Journal*, **2023**. 12(4): p. 578-580.
8. Yanthi, N., Said, S., Anggraeni, A., Damayanti, R., Muladno., Correlation of electric conductivity values with the dairy milk quality. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, **2018**. 23(2 Th): p. 82-88.
9. Sørensen, J., Palmer, D.S., Qvist, K.B., Schiøtt, B., Initial stage of cheese production: a molecular modeling study of bovine and camel chymosin complexed with peptides from the chymosin-

- sensitive region of k-casein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011. 59(): p. 5636–5647. DOI: <https://doi.org/dx.doi.org/10.1021/jf104898w>.
10. Hammam, A., Martínez-Monteagudo, S., Metzger, L., Alsalem, K., Effect of ultrasound intensity on the functional characteristics of rennet-coagulated skim milk. *Journal of Food Process Engineering*, **2021**. 44(9): Article e13800. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpe.13800>.
 11. NEIAL-110-6737-201: 2023 Producto lácteo. Queso fresco de leche de vaca. Norma de control del proceso productivo, (2023)
 12. Amaro-Hernández, J.C., Olivas, G.I., Acosta-Muñiz, C.H., Gutiérrez-Méndez, N., Sepulveda, D.R., Structure rearrangement during rennet coagulation of milk modifies curd density. *Journal of Dairy Science*, **2020**. 103(4): p. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2019-16998>.
 13. Strani L, Grassi S, Alamprese C, Casiraghi E, Ghiglietti R, Locci F, et al. Effect of physicochemical factors and use of milk powder on milk rennet-coagulation: Process understanding by near infrared spectroscopy and chemometrics. *Food Control*. **2021**; 119:107494. Tsouli, J., Ville, A., Valla, H., Gilet, M., Contrôle de la fabrication du fromage Emmenthal par la méthode conductrimétrique. *Le Lait*, **1976**. 56(559_560): p. 600-607. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00928743> (INRA Editions).
 14. Hernández-Monzón, A., Vega-Robaina, Y., Díaz-Abreu, J.A., Eficiencia tecnológica del queso tipo Lunch en relación con el momento de corte de la cuajada. *Tecnología Química*, **2019**. 40(1): p.102-12.
 15. Gutiérrez-Cordero E, García-Noa E, Sariego-Toledo Y. Análisis multivariado de índices de consumo en procesos de obtención de leche de soya. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. **2023**;24(3):e2959. https://doi.org/10.21930/rcta.vol24_num3_art:2959.

/ **Received:** 10 May 2024 | **Accepted:** 10 June 2024 | **Published:** 15 June 2024 |

Citation: Rodríguez González E, García Noa E. *Análisis multivariado con la conductividad eléctrica durante la coagulación en la producción de queso fresco*. *Bionatura*. **2024** ;9(2): DOI: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.1>

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>.

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



2 Harina de achiote (*Bixa orellana* L) en el mejoramiento organoléptico y coloración en pollos de engorde.

Achiote (Bixa orellana L.) flour in the organoleptic enhancement and pigmentation of broiler chickens.

Kevin Guzmán ¹; Freddy Alcívar ²; Guillermo Intriago ³/*; Rosa González ⁴.

^{1;2;3;4} Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López” / Manabí / Ecuador

*Correspondence: gintriago@espam.edu.ec; Tel.: (+593988055584)

Available from. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.2>

Resumen

La presente investigación, se realizó con la finalidad de analizar la calidad organoléptica y coloración de piel y tarsos en pollos de engorde de la línea Broilers Ross 308, se evaluó 20, ejemplares divididos en 4 tratamientos y 5 unidades experimentales por grupo basado en la suplementación dietética de harina de achiote (*Bixa orellana* L). Se efectuó una formulación de dieta para cada tratamiento; T0= Testigo, 0% de harina de achiote. T1= 1,5% harina de achiote, T2= 3% harina de achiote, T3= 5% harina de achiote, provisionados a partir del día 2 hasta los 49 días de edad. Mediante el Abanico Colorimétrico de Roche se comprobó la diferencia colorimétrica de los grupos; Testigos T3 = 10DMS, obteniendo la mejor coloración de todos los grupos experimentales. En cuanto, a la calidad organoléptica se realizó una comprobación de sabor, color y olor con el pectoralis mayor del pollo, obteniendo mejores resultados en el grupo T3. Finalmente, se determina que de manera natural y libre de químicos pigmentantes utilizados en la industria ecuatoriana, con la suplementación dietética de harina de achiote (*Bixa orellana* L), puede mejorar considerablemente, la calidad y correcta coloración de los pollos de engorde para el consumo humano, disminuyendo la probabilidad de afección y enfermedades cancerígenas a la salud del consumidor, por el excesivo uso de químicos presente, en la producción cárnica de las industrias avícola en el país.

Palabras Claves

Harina de achiote (*Bixa orellana* L); mejoramiento organoléptico; pigmentación; pollos broilers Ross.

Abstract

This research was conducted to analyze the organoleptic quality and skin and shank pigmentation in Ross 308 broiler chicken. A total of 20 specimens were evaluated and divided into four treatments

with five experimental units per group based on dietary supplementation with achiote (*Bixa orellana L.*) flour. A diet formulation was created for each treatment: T0 = Control, 0% achiote flour; T1 = 1.5% achiote flour; T2 = 3% achiote flour; and T3 = 5% achiote flour, provided from day 2 to 49. The Roche Color Fan was used to determine colorimetric differences between the groups; Control and T3 = 10DMS, achieving the best coloration among all experimental groups. Regarding organoleptic quality, taste, color, and odor were assessed using the pectoralis major muscle, with T3 showing the best results. Finally, it was determined that natural and chemical-free pigmentation can be achieved in broiler chickens fed a dietary supplementation of achiote (*Bixa orellana L.*) flour, which significantly improves quality and proper pigmentation for human consumption. This will reduce the likelihood of health issues and cancer caused by excessive chemical use in the poultry industry in Ecuador.

Keywords

Achiote flour (*Bixa orellana L.*); organoleptic improvement; pigmentation; Ross broiler chickens.

Introducción

Bixa orellana L. (*Bixaceae*), un arbusto originario de América Central y del Sur, también conocido como annatto, urucú, bija o achiote, es un símbolo de las tribus amazónicas que tradicionalmente usan sus semillas como tinta de color para pintarse el cuerpo para las ceremonias religiosas. Además, se cree que la bebida de chocolate azteca original contenía semillas de achiote además de cacao. El término “annatto” en los países industrializados se refiere comúnmente al extracto de semilla de *B. orellana* que contiene pigmentos de tipo carotenoide, ampliamente utilizado para teñir una variedad de alimentos, textiles y productos para el cuidado del cuerpo¹.

Los extractos de *Bixa orellana* poseen compuestos bioactivos que podrían usarse para diferentes propósitos, como fuente de nuevos antibióticos o alternativas conservantes naturales en matrices alimentarias debido principalmente a sus actividades antioxidantes y antibacterianas².

A través de la implementación de una dieta natural en los pollos de engorde, sin adición de productos sintéticos o pigmentación química se podrá mejorar, cumplir o disminuir afecciones a la salud y enfermedades cancerígenas en los consumidores la cual permite alcanzar una productividad cárnica de calidad.

El color de la piel del pollo de engorde es un factor determinante para consumidores a la hora de elegir un ave. Esta preferencia es significativa en lugares como: México, China, Filipinas, Perú, partes del Ecuador y otros países de Sudamérica. Dado que, los consumidores relacionan directamente los tonos amarillos y dorados con la calidad, fresca y salud del pollo³.

Mediante una minuciosa investigación se pudo determinar que el tipo de prácticas sintéticas y químicas las cuales utilizan las industrias avícolas consiste en que los pollitos son sometidos a una pigmentación artificial a partir de la tercera semana de vida; administrando distintos químicos sintéticos entre estos; apo-éster, cantaxantina, caroteno, apoéstercaroténico, también la adición de resina de amaranto saponificada, la cual genera más luteína, lo que conduce a una pigmentación exigente de la piel. En caso de no ver resultados favorables y puntuales, aumenta la dosis de todo lo antes mencionado. Carofil amarillo producto mayormente comercializado con pigmentantes artificiales.

A través de la pigmentación de origen natural se fundamenta en que, bajo este nombre se conoce una amplia variedad de sustancias orgánicas e inorgánicas que se obtiene de las fuentes vegetales, animales o minerales. Aunque deben cumplir con los mismos estándares que los colorantes artificiales, la mayoría de ellos están permanentemente certificados (exentos de certificación), lo que significa que no existen limitaciones sanitarias para su uso en alimentos, medicinas y cosméticos⁴.

El achiote (*Bixa Orellana L*), un colorante natural también conocido como annato, achote, onenote, cocote, bija, bixa, urucú, etc.; originario de América central, se utiliza para crear pigmento natural orgánico. El fruto es una cápsula de color marrón rojizo o amarillo verdoso, que contiene de entre 30 a 45 semillas dentro una fina capa o vacío que, por su contenido en Bixina, son de color rojo o naranja y constituyen el colorante natural⁵.

Según las semillas de Annatto son ricas en carotenoides bixina y norbixina, que se convierten en vitamina A en el hígado y luego se utilizan para estimular la secreción. La tiroxina contribuye al proceso de digestión de proteínas y lípidos provenientes de la dieta mediante su influencia en la actividad de la glándula tiroides⁶.

Los carotenoides uno de los compuestos principales responsables del color particular del achiote son pigmentos liposolubles naturales sintetizados por plantas, algas y bacterias fotosintéticas. Debido a su naturaleza, es muy sensible al oxígeno, a los metales, a los ácidos, a los peróxidos, al calor, a la luz y a la lipoxigenasa. Algunos de ellos tienen la capacidad de actuar como provitamina A, dependiendo de la presencia de β -ionona, así como de la conversión del animal a retinol. Se cree que alrededor de 50 de ellos son precursores de la vitamina A según consideraciones estructurales. Casi todas las muestras de alimentos vegetales que contienen carotenoides analizadas hasta la fecha contienen betacaroteno como componente principal o secundario. Por lo tanto, este caroteno es importante porque contiene dos anillos de iones beta cuya actividad es del 100%. Otros carotenoides con actividad provitamina A son: α -caroteno (50-54%), β -zearoteno (20-40%), γ -caroteno (50-52%), β -criptoxantina (50-60%) y β -apo-8'-carotenal (72%), mientras que la xantofila zeaxantina, luteína, licopeno, astaxantina y violaxantina⁷.

El artículo 13 de la Constitución de la República del Ecuador menciona que las personas y colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; preferentemente producidos a nivel local y en correspondencia con sus diversas identidades y tradiciones culturales, para la cual se promoverá la soberanía alimentaria

El artículo 281 numeral 7, de la Constitución de la República del Ecuador reconoce que la soberanía alimentaria constituye un objetivo estratégico y una obligación del Estado para garantizar que las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades alcancen siempre la autosuficiencia de los alimentos sanos y culturalmente apropiados de forma permanente.

Actualmente en Ecuador, no existe un artículo o normativa el cuál regule a las industrias y empresas comercializadoras de pollo, el nivel de coloración o pigmentación en la piel, carne y tarsos del pollo. El cual es un aspecto organoléptico importante para la aceptabilidad del producto que, los consumidores relacionan con su calidad y sabor.

Con el respaldo de leyes y justificaciones, así como también las medidas que conllevan la investigación y el cuidado de la alimentación y criamiento avícola, se busca eliminar el uso excesivo de químicos pigmentantes en los pollos de engorde, para de esta manera prevenir enfermedades cancerígenas y afecciones en la salud de los consumidores. Además, con la finalidad del neto cumplimiento de las normativas y resoluciones que constan dentro del MAGAP (Ministerio de Agricultura y Ganadería), CONAVE (Corporación Nacional de Avicultores del Ecuador) y AGROCALIDAD (Agencia de Control Fito y Zoonosanitario), el presente trabajo se centra en la investigación experimental del proceso de pigmentación natural, esperando resultados positivos en la coloración y calidad organoléptica de los pollos de engorde.

Por ende, el objetivo principal de la investigación fue realizar un estudio experimental sobre la suplementación dietética de harina de achiote (*Bixa orellana L.*), para la coloración de piel y tarsos en pollos de engorde Ross 308.

Materiales y Métodos

La experimentación fue realizada en la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López” Espam Mfl. Carrera de Medicina Veterinaria ubicada en la ciudad de Calceta, Manabí con las coordenadas 00 49'35.25'' S, 800 11'10.54'' W.

El tipo y raza de pollos sometidos a la experimentación fue de la línea Ross 308, de crecimiento rápido y eficiente con buena producción de carne. Está diseñado para satisfacer las necesidades de los clientes que requieren consistencia de rendimiento y flexibilidad para cumplir con una amplia gama de requisitos de productos finales. La producción rentable de pollos de engorde depende del buen rendimiento de las aves.

La adquisición de los pollos se realizó el 23 de junio del 2022, a través de la incubadora de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí ESPAM Mfl Ecuador, un total de 20 pollitos no sexados participaron, los cuales fueron distribuidos aleatoriamente y alimentados con una dieta meticulosa de acuerdo a cada grupo experimental; Grupo T0 se proporcionó, una alimentación con balanceado de crecimiento y engorde, con una implementación dietética de harina de achiote del 0%; Grupo T1 mantuvo una alimentación con balanceado de crecimiento y engorde, con una implementación dietética de harina de achiote del 1.5%; Grupo T2 con balanceado de crecimiento y engorde, con una implementación dietética de harina de achiote del 3%; Grupo T3 mantuvo una alimentación con balanceado de crecimiento y engorde, con una implementación dietética de harina de achiote del 5%. Mediante el cuidado y crianza de los pollos se suministró agua y alimentos adecuados en buena cantidad y calidad es fundamental para garantizar que las aves puedan cubrir sus necesidades nutricionales adecuadas a su edad.

El método empírico aplicado al inicio de la investigación, permitió, a los investigadores establecer una relación de causa y efecto, mediante la cual se sigue un proceso estrictamente controlado. Para ello, la investigación se aplicó un análisis estadístico, con implementación dietética que pueda verificar y refutar las hipótesis planteadas. Es por eso, que muchos consideran que este tipo de estudio es el más preciso. Entre las acciones realizadas en este estudio, podemos destacar la creación de diferentes grupos seleccionados aleatoriamente como muestra; manipulación de una sola variable para no complicar el análisis; además de elegir un grupo de control viable. Se empleó la variable cuali- cuantitativa donde se midió en unidades de pigmento amarillo los tarsos de los pollos a la quinta semana en la escala de la cinta colorimétrica DSM.

El experimento se realizó con 4 tratamientos y 3 repeticiones de alimentos diarios para cada uno, se proporcionó un ambiente adecuado para que las aves estuvieran cómodas y saludable. Además, se mantuvieron los bebederos y comedores limpios en completa higiene y de acuerdo a las normas de salubridad.

Consumo de alimentos

En la tabla 1. se observa que al inicio de la primera semana los grupos experimentales recibieron una misma dosificación de alimentos, con proporciones distintas de harina de achiote, además para su cuidado en los 7 primeros días en los bebederos se suministró Avisol multivitamínico mineralizado con electrolitos indicado para aves.

Ganancia de peso

Con base a la estructuración de una tabla comparativa, se tomó datos del peso en libras por cada grupo experimental de la última semana de experimentación, permitiendo el análisis pertinente.

Tabla 1. Control de alimentos y peso por semana.

	T0	T1	T 2	T3
Semana 1	Alimento 690 gr	Alimento 690 gr	Alimento 690 gr	Alimento 690 gr
	Harina de achiote 0%	Harina de achiote 1.5%	Harina de achiote 3%	Harina de achiote 5%
	Peso 91 gr	Peso 85 gr	Peso 87 gr	Peso 85 gr
Semana 2	Alimento 1250 gr	Alimento 1250gr	Alimento 1250gr	Alimento 1250 gr
	Harina de achiote 0%	Harina de achiote 1.5%	Harina de achiote 3%	Harina de achiote 5%
	Peso 270.2 gr	Peso 285.8 gr	Peso 287.5 gr	Peso 282.4 gr
Semana 3	Alimento 1750 gr	Alimento 1750 gr	Alimento 1750 gr	Alimento 1750 gr
	Harina de achiote 0%	Harina de achiote 1.5%	Harina de achiote 3%	Harina de achiote 5%
	Peso 365.4 gr	Peso 350 gr	Peso 355 gr	Peso 333 gr
Semana 4	Alimento 3800 gr	Alimento 3800 gr	Alimento 3800 gr	Alimento 3800 gr
	Harina de achiote 0%	Harina de achiote 1.5%	Harina de achiote 3%	Harina de achiote 5%
	Peso 856 gr	Peso 801gr	Peso 790gr	Peso 830gr
Semana 5	Alimento 5600 gr	Alimento 5600gr	Alimento 5600 gr	Alimento 5600 gr
	Harina de achiote 0%	Harina de achiote 1.5%	Harina de achiote 3%	Harina de achiote 5%
	Peso 1347gr	Peso 1252gr	Peso 1245 gr	Peso 1230
Semana 6	Alimento 8900 gr	Alimento 8900 gr	Alimento 8900 gr	Alimento 8900 gr
	Harina de achiote 0%	Harina de achiote 1.5%	Harina de achiote 3%	Harina de achiote 5%
	Peso 1790 gr	Peso 1550 gr	Peso 1600 gr	Peso 1578 gr

Fuente. elaboración propia.

Tabla 2. Análisis descriptivo.

Grupos experimentales	Descriptivas			
	Porcentaje de Harina de Achiote	Media	Desviación estándar	Peso (gr)
T0	0.000	787	671	

T1	0.015	716	588
T2	0.030	727	596
T3	0.050	723	592

Fuente: elaboración propia.

No se observaron diferencias significativas en el peso para los diferentes tratamientos empleados, lo que indica que el porcentaje de harina de achiote no genera cambios significativos en el peso. A medida que se incrementa la cantidad de alimento, el peso aumenta como era de esperarse, y esto se midió semanalmente. Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis debido a que los datos no cumplen con la normalidad, considerando el factor del porcentaje de harina de achiote. Por lo tanto, se puede concluir que la harina de achiote no afecta de manera significativa el peso.

Kruskal-Wallis			
	χ^2	gl	p
Peso (gr)	0.275	3	0.965

Donde se presenta una diferencia significativa en la variable peso, ocurre debido al factor Semana

Kruskal-Wallis			
	χ^2	gl	p
Peso (gr)	22.4	5	<.001

Y en el caso del factor alimento, que concuerda con los resultados esperados, ya que cada semana se aumenta el alimento y, por tanto, cada semana se espera que aumente de peso.

2.1.3 Calidad Organoléptica

A través, del test Organoléptico se verificó distintos factores como; coloración, textura, aroma, u olor permitiendo un análisis más exhaustivo sobre

Tabla 3. Calidad organoléptica.

TESTEO ORGANOLÉPTICA	T0	T1	T2	T3
Tratamiento	0%	1.5%	3%	5%
Coloración	Rm	Ri	Ap	Am
Sabor	2	2	2	3
Aroma u olor	1	1	2	3

Fuente: Elaboración propia.

El color de la piel de pollo se evaluó, teniendo en cuenta la siguiente referencia colorimétrica: rosa muy pálido (Rm), rosa intenso (Ri), rosa pálido (Rp), amarillo intenso (Ai), amarillo pálido (Ap) y amarillo muy pálido (Am).

El aroma u olor peculiar del pollo, se evaluó utilizando una escala de 3, donde 1 = normal, 2 = concentrado y 3 = muy concentrado.

Para el análisis de la textura se utilizó el Pectoralis mayor del pollo, cocidiéndolo en distintas ollas para no obtener ningún factor que afecte al sabor neto de cada presa, determinando que todos los ejemplares tienen una consistencia blanda, por lo que el sabor del pollo fue calificado de acuerdo a una escala de 3, donde

3 = agradable, 2 = normal, 1 = deficiente.

2.1.4 Coloración de tarsos

El color de los alimentos es una de las características más importantes que determinan las elecciones de los consumidores antes de comprar. En algunos países de América Latina, así como en algunas partes de los Estados Unidos, es deseable que el color de la piel sea amarillo o amarilla, lo que dará lugar a pagos diferenciales. El color actual de la piel de los pollos de engorde depende de las preferencias o tradiciones locales.

Las partes anatómicas que se realiza la evaluación de la pigmentación en los pollos:

- Pechuga: La más utilizada en aves faenadas.
- Tarsos: Se la utiliza para evaluar en pollos en crecimiento.
- Pico: No es muy utilizado para evaluar pigmentación⁸.



Figura 1. Abanico colorimétrico de Roche. Fuente: elaboración propia En la gama de colores desarrollada por DSM Nutritional Products, los colores especificados tienen los valores estándar del sistema de coloración CIE y, por lo tanto, proporcionan un criterio objetivo para evaluar la piel de gallina. (Productos de nutrición DSM). El número 101 es amarillo claro y el 115 es naranja. Con este abanico se puede controlar la absorción de carotenoides de la dieta del ave, vinculando a la cantidad de micronutrientes y vitamina A que aportarán al consumidor⁹.



Figura 2. T1. Nivel de coloración de tarso.

Fuente: elaboración propia

Resultados

En la tabla 3 se muestra el efecto del uso de la harina de achiote en la calidad organoléptica de los pollos de engorde, donde se observa diferencia significativa a la quinta semana entre los tratamientos experimentales mediante el Abanico Colorimétrico de Roche, se realizó la prueba en tarsos y metatarsos del pollo, eligiendo a 3 ejemplares con la mejor pigmentación y corroborando su similitud, obteniendo resultados por grupos; testigos T0 = 4 DMS, no sufrió ningún cambio del color se mantiene con Rm (Rosa muy pálida) grupo; testigos T1 = 8 DMS (1.5 gr de harina de achiote), al estar en contacto con la harina de achiote, su coloración fue de rojo intenso grupo; testigos T2 = 11 DMS, al recibir la dosificación de harina de achiote de 3gr se pudo notar cambio en la piel lo cual llego a establecer un color Ap (Amarillo pálido) grupo; testigos T3 = 13 DMS se recogió información sobre el mismo lo que se pudo constatar es que recibió una dosis mayor de 5gr mismo que fue recibida



Figura 3. Comparación colorimétrica en los ejemplares, T0, T1, T2 Y T3.

Fuente: elaboración propia.

Mortalidad

La tasa de mortalidad es del 5% en un ejemplar del grupo T2 quien murió día después de su llegada, no se observó diferencia significativa con el deceso del pollo, pero se estima que por las condiciones del ejemplar no se adaptó al grupo asignado.

Análisis de costos

Tabla 4. Cálculo de beneficio/costo.

Tratamientos	Gasto total	Ingreso total	Utilidad (\$)	Rentabilidad%	Relación b/c
T0	25,00	30,00	5,00	16%	1,20
T1	30,00	35,00	5,00	14%	1,16
T2	30,00	35,00	5,00	14%	1,16
T3	30,00	35,00	5,00	14%	1,16

Fuente: Elaboración propia.

En cuanto al análisis del costo podemos observar en la tabla que, el T0 da mayor rentabilidad ya que no tiene inversión en cuanto a la harina de achiote, su rentabilidad es del 16% y tiene una relación costo- beneficios de 1,20. Los tratamientos de T1, T2 y T3 tiene una rentabilidad del 14% dándole un beneficio costo 1,16. Esto podría mejorar siempre que se optimice la calidad del alimento-balanceado y engorde con los pollos broilers Ross 308, durante las primeras semanas, además se completó el tratamiento con los multivitamínicos necesarios para mejorar la calidad de vida.

Discusión

Se ha demostrado ampliamente que algunos carotenoides, incluidos el α -caroteno, el beta-caroteno y la b-criptoxantina, tienen actividad provitamina A; como resultado, estos carotenoides provitamínicos se tienen en cuenta en las ingestas recomendadas de vitamina A. Considerando equivalentes de retinol, se estima que aproximadamente un 26% y un 34% de la vitamina A consumida proporciona los carotenoides provitamínicos¹⁰.

Según el estudio de (Peña, et al. 2004) los indicadores productivos de los pollos de engorde no se vieron afectados por el uso de xantofilas saponificadas de flores de cempasúchil, y el tratamiento con 80 ppm en la dieta resultó en un mayor nivel de pigmentación amarilla en la piel a los 47 días de edad¹¹.

En el trabajo de investigación realizado por (Rojas 2016) los jueces observaron que a medida que se incrementó los niveles de harina de achiote mayor fue aceptación de los pollos faenados, coincidiendo con Avila y cuca (2008), el grado de pigmentación deseado va a depender de las preferencias del consumidor en un área geográfica determinada, según la tradición, la disponibilidad de los productos y su mercadeo, el color es una de las características más importantes de los alimentos ya que puede determinar su aceptación o rechazo por parte del consumidor¹².

(Carné, 2015) menciona que los carotenoides junto con otros lípidos son absorbidos en el intestino delgado y luego transportados por lipoproteínas a través de la sangre hasta los tejidos “diana”, en el caso de las gallinas ponedoras, la yema del huevo, donde luego son depositados¹³.

En concordancia con (Mora, 2014) la implementación dietética de harina de achiote, el testigo que fue sometido a una alimentación comercial sin suplementación dietética reflejo una mayor ganancia de peso. Lo cual se determina que influyen factores de variación de alimentación en la ganancia de peso de un pollo de engorde¹⁴.

Por otro lado, en un estudio realizado por (Maldonado, 2015) donde utilizó la harina de achiote a dosis de T1:1%, T2:3%, T3:5% y el testigo como pigmentantes de piel en pollos parrilleros Ross 308, obteniendo que la ganancia de peso es estadísticamente ($p > 0.01$) iguales entre los tratamientos y el testigo¹⁴. Dando así, no existen una diferencia significativa en ganancia de peso con el uso de *Bixa Orellana L.*, como opción para la pigmentación natural en aves destinadas para el consumo humano. El índice organoléptico con una fuente de complejo b enzimático 0.005% y orégano 0.1%, aumentó significativamente el rendimiento de “carcasa” en carne. A la misma vez mejoraron la consistencia de la carne en la pechuga, el olor, el sabor y la ternura de la carne se mantuvieron por encima del promedio aceptable (Ordoñez, 2018). Teniendo en cuenta que el uso de harina de achiote es una fuente natural de vitaminas a, b, c, calcio hierro, fósforo y los fitoquímicos particulares de la *Bixa Orellana* se atribuye al mejoramiento en la calidad organoléptica mediante el uso de la harina de achiote en la suplementación dietética de pollos de engorde¹⁶.

Así mismo, el estudio realizado por (Martínez et al., 2021) El polvo de semilla de achiote de la especie *B. orellana L.* fue comprada a la Empresa “Grupo Alimenticio S.A. de C.V.”, El Polvorín, Cortés, Honduras. Se alojaron cinco aves en 55 x 60 x 35 cm jaulas metálicas, que recibieron 100 g de alimento gallina día en comederos lineales y el agua fue suministrada ad libitum a través de 2 tetinas/jaula. Además, las aves recibieron un régimen de iluminación de 16 h/día en galpones sin túneles. El periodo de adaptación duró 2 semanas. Las gallinas no recibieron medicamentos. o tratamientos veterinarios preventivos o clínicos¹⁷.

Por otro lado, (Lima et al., 2022) señala que la harina de achiote añadida a los piensos a base de sorgo promovía aumentos lineales en los atributos de apariencia, sabor, color, olor, textura y evaluación general, que fueron evaluados durante el análisis sensorial ($p=0,001$; Tabla 4); por lo que recomendamos la inclusión de achiote harina de semillas en el pienso ofrecido a las codornices comunes. Los panelistas han juzgado que la adición de 1,5% AM a las dietas a base de sorgo de codornices comunes beneficiaron las características de apariencia (4,50), sabor (4,50), color (4.55), aroma (4.25) y textura (4.55) de los huevos de codorniz evaluados (Cuadro 4), siendo esta cantidad consideradas como más atractivas y con mayor aceptación (evaluación global = 5,97) en relación con los demás tratamientos probados¹⁸.

Conclusiones

- La suplementación dietética de harina de achiote (*Bixa orellana L.*) al 1.5%, 3% y 5% en los pollos de engorde Ross 308 mejora el grado de pigmentación de la piel, siendo de preferencia para el consumidor
- La harina de achiote es una alternativa viable y natural a los colorantes sintéticos comúnmente utilizado en la avicultura.
- El nivel de coloración obtenido en el grupo T3 sugiere que una inclusión del 5% de harina de achiote es eficaz para lograr una pigmentación deseable sin comprometer la salud y el crecimiento de las aves.
- La alimentación dietética con harina de achiote no influye en la ganancia de peso del pollo de engorde, pero mejora la calidad organoléptica del producto, siendo muy rentable a la hora de su comercialización.

Conflictos de intereses: los autores declaran no tener conflictos de interés.

Referencias bibliográficas

1. Giorgi A, Marinis P, Granelli G. Secondary Metabolite Profile, Antioxidant Capacity, and Mosquito Repellent Activity of *Bixa orellana* from Brazilian Amazon Region. *Journal of Chemistry*, 2013; 1-11.
2. Ahmed, S., Moni, B. M., Ahmed, S., Gomes, D. J., & Shohael, A. M. (2020). Comparative phytochemical, antioxidant, and antibacterial study of different parts of Doigota plants (*Bixa orellana* L.). *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1). <https://doi.org/10.1186/s42269-020-00349-1>
3. Pantoja L, González Ó. *NutriNews*. Obtenido de Salud intestinal y pigmentación del pollo de engorde. 2020; <https://nutrinews.com/salud-intestinal-y-pigmentacion-del-pollo-de-engorde/>
4. Marcano D. Introducción a la Química de los Colorantes. Obtenido de Colección Divulgación Científica y Tecnológica 2018; : <http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/19390/1/colorantes%20listo%20%2Bisbn.pdf>
5. Devia JE, Saldarriaga L. Planta piloto para obtener colorante de la semilla del achiote (*Bixa orellana*). Universidad EAFIT2003; 39 (131), 8-22 p <https://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/revista-universidad-eafit/article/view/899/805>
6. Al-Masoudi ZA, Al-Kafaji FR. Effect of Adding Annatto Seed Powder (*Bixa orellana*) and Astaxanthin to the Diet in the Productive Performance of Broilers(Ross-308) . *Earth and Environmental Science*. 2023; 1-8.
7. Carranco M, Calvo M, Pérez F. Carotenoides y su función antioxidante. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 2011;61(3), 233 - 241.
8. Méndez M. Evaluación de pigmentación en aves de pollo de engorde de las unidades de producción de grupo pecuario san antonio, zona chiapas, mediante la técnica de colorimetría. 2019 Obtenido de <http://repositoriodigital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/3393/MDRPIBQ2019013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Mora, C. (2014). Utilización de Harina de Achiote (*Bixa Orellana* L) como pigmentantes en el engorde de pollos. Trabajo de Titulación. Universidad Técnica de Machala, Ecuador. Http://Repositorio.Utmachala.Edu.Ec/Bitstream/48000/1451/7/Cd523_Tesis.Pdf
10. Meléndez A, Vicario I, Heredia F. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. *sCielo*, 2004 54(2). Obtenido de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000200003

11. Peña M, Cortés A, Avila E. Evaluación de tres niveles de pigmento de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) sobre la pigmentación de la piel en pollos de engorda. *Técnica Pecuaria en México*. 2004; 42(1), 105 - 111.
12. Rojas, J. Efecto de la Harina de Achiote (*Bixa Orellana L*) en la pigmentación de pollos de carne cobb 500. tesis Universidad Nacional Toribio Rodríguez Mendoza Perú <https://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14077/415/>
13. Carné, S. Xantofilas naturales en el huevo: cuando no basta con tener buen color. *nutriNews*. 2015 <https://nutrinews.com/download/nutrinews-1115-ITPSA-Xantofilas-naturales.pdf>
14. Maldonado M. (2015). Evaluación de tres niveles de harina de achiote (*Bixa orellana L.*) en la pigmentación de piel en pollos parrilleros Ross 308 en el departamento de la Paz. Universidad Mayor de San Andrés. <https://doi.org/123456789/7114>
15. Ordoñez E. Maestría en producción animal. obtenido de "influencia de suplementación alimenticia con orégano (*origanum vulgare*) y complejos enzimáticos en los índices productivos y salud intestinal de pollos de engorde" 2018; <https://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14077/1651/Ordo%c3%b1ez%20Rumi%20che%20Edson%20Miguel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
16. Martínez, Y., Orozco, C. E., Montellano, R. M., Valdiviá, M., & Parrado, C. A. (2021). Use of achiote (*Bixa orellana L.*) seed powder as pigment of the egg yolk of laying hens. *Journal of Applied Poultry Research*, 30(2). <https://doi.org/10.1016/j.japr.2021.100154>
17. Lima, D. N., de Oliveira Carvalho, D. C., Gois, G. C., Vieira, A. A., Moraes, E. A., Antunes, K. V., Queiroz, M. A. Á., Pinheiro, S. R. F., & Brito, C. O. (2022). Yolk color and sensory analysis of eggs of common quails (*Coturnix coturnix coturnix*) fed sorghum-based diet with the addition of annatto seed meal (*Bixa orellana L.*). *Revista de Ciencias Agroveterinarias*, 21(4), 497–503. <https://doi.org/10.5965/223811712142022497>.

/ **Received:** 5 May 2024 / **Accepted:** 12 June 2024 / **Published:** 15 June 2024 /

Citation: Guzmán K, Alcívar F, Intriago G, González R. Harina de achiote (*Bixa orellana L*) en el mejoramiento organoléptico y coloración en pollos de engorde. *Bionatura*. 2024.;9(2). DOI: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.2>

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>.

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

3 Resultados de las acciones en la producción agrícola para alcanzar la Soberanía Alimentaria en Cuba.

Results of actions in agricultural production to achieve Food Sovereignty in Cuba.

Reymundo Escobar Lorenzo ^{1/*}; Yohandra Apa Terrero ²; Roberto Alejandro García Reyes ³.

^{1,2}Universidad de Holguín. Holguín, Cuba

³Delegación provincial de la Agricultura. Holguín, Cuba

* Correspondence: reylor@uho.edu.cu; Tel.: +5351527089

Available from. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.3>

Resumen

El hambre y la necesidad de la producción de alimentos es una temática mundial desde hace varios años, que en mayor o menor medida afecta a todos los países. Las crisis económicas, políticas, las guerras y los fenómenos naturales, han incidido de forma negativa en el abastecimiento requerido a la población en muchos países. Desde hace algunos años se ha analizado la necesidad de alcanzar la soberanía alimentaria y la nutrición requerida para cada ser humano. En este sentido, Cuba ha sido uno de los países que, desde la política del Estado, se han realizado acciones sistemáticas y trazado políticas que contribuyan a alcanzar de forma paulatina esta meta. La investigación analiza los resultados obtenidos en el país en la producción agrícola al cierre del año 2023 y las acciones que se continúan realizando. La aplicación de una encuesta permite determinar los criterios que la población posee sobre el trabajo que se está realizando y las dificultades que aún se deben afrontar para su logro. Se aplican métodos teóricos y empíricos que contribuyen a los análisis y valoración de las políticas trazadas por el Gobierno y que parten de la participación activa de la población desde el municipio.

Palabras claves

Soberanía alimentaria; autoabastecimiento; producción agrícola; acciones; políticas.

Abstract

Hunger and the need for food production have been a global issue for several years, which, to a certain extent, affects all countries. Economic and political crises, wars, and natural phenomena have negatively affected the supply required by the population in many countries. For some years now, the need to achieve food sovereignty and the nutrition required by each human being have been analyzed. In this sense, Cuba has been one of the countries that, through State policy, has carried out systematic actions and outlined policies that have contributed to gradually achieving this goal. This research analyzes the results obtained for the country's agricultural production at the end of 2023 and the

actions that continue to be carried out. The application of a survey allows us to determine the criteria that the population has about the work that is being carried out and the difficulties that must still be faced to achieve it. Theoretical and empirical methods are applied that contribute to the analysis and assessment of the policies outlined by the government and are based on the active participation of the population from the municipality.

Keywords

Food sovereignty; self-sufficiency; agricultural production; Actions; policies.

Introducción

Erradicar el hambre se posicionó dentro de la Agenda internacional en 1974, en el marco de la Conferencia Mundial de la Alimentación realizada en Roma, Italia. En 2015 se fijó como uno de los Objetivos de Desarrollo Sostenible a la seguridad alimentaria y nutricional¹. La soberanía alimentaria es un concepto que se refiere al derecho de los pueblos, comunidades y países a definir sus propias políticas agrícolas y alimentarias, asegurando que la alimentación sea saludable y culturalmente adecuada para ellos. Este concepto fue introducido por la Vía Campesina en 1996 y busca poner a las comunidades locales y a los pequeños productores agrícolas en el centro de los sistemas alimentarios y las políticas agrícolas, en lugar de las demandas de los mercados globales y las empresas multinacionales.

Este concepto es fundamental en debates sobre cómo enfrentar los desafíos globales de la alimentación, como la seguridad alimentaria, el cambio climático, y la equidad social en el ámbito agrícola. La soberanía alimentaria es un concepto que va más allá de la simple autosuficiencia alimentaria; se refiere al derecho de los pueblos a definir sus propias políticas y estrategias sostenibles de producción, distribución y consumo de alimentos que garanticen el derecho a la alimentación para toda la población, basándose en la pequeña y mediana producción, respetando sus propios cultivos y culturas. La visión transformadora de la mencionada Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible reconoce que el mundo en su cambio exige vivir sin hambre, sin inseguridad alimentaria y sin malnutrición, estos son nuevos desafíos que deben superarse; cambios que repercuten en la manera de producir, distribuir y consumir alimentos a nivel mundial².

En el año 1996, en la Cumbre Mundial de la Alimentación, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) propuso que a nivel de individuo, hogar, nación y global, la Seguridad Alimentaria se consigue cuando todas las personas, en todo momento, tienen acceso físico y económico a suficiente alimento, seguro y nutritivo, para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias, con el objetivo de llevar una vida activa y sana³. La inseguridad

alimentaria es atribuida a diversos factores, como por ejemplo: inadecuadas políticas, toma decisiones y el bajo compromiso de autoridades estatales para afrontar el hambre y la pobreza de sus pueblos⁴. La alimentación es fundamental para la salud y el bienestar de todos los seres humanos y tiene múltiples dimensiones de importancia:

1. **Salud física:** la alimentación proporciona los nutrientes necesarios para el mantenimiento de todas las funciones corporales. Una dieta equilibrada aporta energía, proteínas, vitaminas, minerales y fibra, esenciales para el crecimiento, la reparación de tejidos y el funcionamiento óptimo del sistema inmunológico.
2. **Desarrollo cognitivo:** nutrientes como los ácidos grasos omega-3, hierro, yodo, y vitaminas A, B, y D son cruciales para el desarrollo cerebral, especialmente en niños y adolescentes. Una nutrición adecuada está directamente relacionada con mejoras en la capacidad de aprendizaje, memoria, y otras funciones cognitivas.
3. **Prevención de enfermedades:** una dieta saludable puede reducir el riesgo de muchas enfermedades crónicas como enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, obesidad, y ciertos tipos de cáncer. Alimentos ricos en fibras, antioxidantes y nutrientes específicos juegan un papel protector en la salud.
4. **Salud mental y emocional:** la alimentación no solo afecta el cuerpo físico; también tiene un impacto significativo en el estado de ánimo y la salud mental. Deficiencias en ciertos nutrientes pueden contribuir a depresión, ansiedad y otros trastornos mentales.
5. **Cultura y sociedad:** la comida es una parte esencial de la identidad cultural y las tradiciones de los pueblos. Compartir alimentos fortalece lazos sociales y familiares y es una forma de expresar hospitalidad y afecto.
6. **Economía:** la agricultura y la cadena alimentaria son motores significativos de la economía global. La producción, procesamiento, distribución y venta de alimentos crean empleos y contribuyen al desarrollo económico de las comunidades y países.
7. **Sostenibilidad ambiental:** la manera en que se producen y consumen los alimentos tiene un gran impacto en el medio ambiente. Prácticas agrícolas sostenibles pueden ayudar a conservar recursos naturales, reducir la pérdida de biodiversidad y disminuir la huella de carbono asociada a la producción de alimentos.
8. **Seguridad alimentaria:** el acceso constante a alimentos nutritivos es crucial para la estabilidad y seguridad de sociedades enteras. La falta de seguridad alimentaria puede llevar a malnutrición, inestabilidad política y disturbios sociales.

En resumen, una alimentación adecuada es clave para la salud individual y colectiva, el desarrollo económico, la cohesión social y la sostenibilidad ambiental, reflejando cómo este tema es central para

muchos de los desafíos y oportunidades que enfrenta la humanidad. En hogares de bajos ingresos, el porcentaje del gasto destinado a la compra de alimentos es mayor. En las decisiones de los hogares sobre qué alimentos adquirir también influyen factores como el costo de otras necesidades básicas⁵ todo lo cual influye en las condiciones alimentarias.

La seguridad alimentaria se estudia y comprende desde sus dimensiones⁶:

- 1) disponibilidad: la existencia de cantidades suficientes de alimentos para satisfacer las necesidades nutricionales de la población.
- 2) estabilidad: el suministro adecuado de alimentos evitando posibles crisis;
- 3) acceso físico y económico: contar con los recursos necesarios para poder adquirir alimentos y tener una alimentación nutritiva.
- 4) utilización biológica: el conjunto de hábitos y condiciones que permiten tener una alimentación adecuada y equilibrada en nutrientes acorde con cada estado fisiológico del ser humano; también considera el acceso al agua potable, el saneamiento y la salud.

Los problemas de alimentación a nivel mundial son diversos y afectan a distintas poblaciones de maneras variadas. La inseguridad alimentaria tiene una variedad de consecuencias para la salud, como la relación con las enfermedades crónicas y un pobre control metabólico, deterioro en la capacidad cognitiva y en la salud mental, además de alimentación menos saludable⁷. El hambre y la pobreza se han profundizado en las últimas décadas en el planeta, en 2019 se calculó que dos mil millones de personas no lograron acceder a alimentos inocuos, nutritivos y suficientes⁸. Algunos de los principales desafíos relacionados con la alimentación a nivel global están dados en:

1. Desnutrición: a pesar de los avances en otras áreas, la desnutrición sigue siendo un problema grave, especialmente en países de bajos ingresos. Incluye tanto la malnutrición por déficit (falta de nutrientes esenciales) como por exceso (obesidad y enfermedades relacionadas).
2. hambre: más de 800 millones de personas en el mundo sufren de hambre crónica, incapaces de consumir suficientes calorías para llevar una vida normal y activa. Esto se debe a la falta de acceso a alimentos nutritivos, conflictos, pobreza, y problemas estructurales en los sistemas alimentarios.
3. Inseguridad alimentaria: abarca el acceso inconsistente a alimentos nutritivos y suficientes. Las causas incluyen pobreza, inestabilidad política, conflictos, cambio climático, y desperdicio de alimentos.
4. Obesidad y enfermedades relacionadas: a nivel mundial, la obesidad ha aumentado dramáticamente. Esto conduce a problemas de salud como diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer. El sobrepeso y la obesidad son ahora problemas graves en tanto países desarrollados como en desarrollo.

5. Desperdicio de alimentos: aproximadamente un tercio de los alimentos producidos para el consumo humano se pierde o desperdicia. Esto representa una enorme ineficiencia en los sistemas alimentarios y contribuye significativamente al impacto ambiental de la agricultura.
6. Impacto ambiental de la producción de alimentos: la agricultura moderna puede tener efectos devastadores en el medio ambiente, incluyendo deforestación, pérdida de biodiversidad, agotamiento de acuíferos y contaminación por pesticidas y fertilizantes.
7. Desigualdad en el acceso a alimentos: las diferencias económicas y sociales afectan el acceso a alimentos saludables. En muchas áreas, las comunidades de bajos ingresos tienen más dificultades para acceder a alimentos frescos y nutritivos.
8. Cambio climático: el cambio climático afecta la producción de alimentos a través de la alteración de patrones de lluvia, incremento de la frecuencia de eventos climáticos extremos y cambios en las temperaturas. Esto puede llevar a una reducción en la productividad agrícola y afectar la seguridad alimentaria.
9. Problemas de salud pública: las enfermedades transmitidas por alimentos y el acceso inadecuado a agua potable siguen siendo causas significativas de enfermedad y muerte en muchos países.
10. Conflictos y desplazamientos: los conflictos armados y los desplazamientos forzados de personas deterioran los sistemas agrícolas y de distribución de alimentos, exacerbando la inseguridad alimentaria.
11. Dependencia de importaciones de alimentos: muchos países dependen en gran medida de las importaciones para satisfacer sus necesidades alimentarias, lo que los hace vulnerables a fluctuaciones de precios y crisis económicas.
12. Crisis económica: las crisis económicas pueden afectar drásticamente la capacidad de las personas para comprar alimentos, así como la capacidad de los países para importar alimentos necesarios.

Estos desafíos están interconectados y requieren enfoques integrales y colaborativos para abordar las causas subyacentes y encontrar soluciones sostenibles para mejorar la alimentación y la seguridad alimentaria a nivel global. En los últimos años la agricultura durante el COVID-19 ha sido afectada internacionalmente, repercutiendo en la seguridad alimentaria⁹, lo que implicó un deterioro en todos los niveles productivos, la exportación y las relaciones comerciales internacionales.

Los países con mayores dificultades en la alimentación suelen enfrentarse a una combinación de problemas económicos, conflictos, desastres naturales, y desafíos estructurales que afectan su seguridad alimentaria. Entre los países más afectados por la inseguridad alimentaria y las dificultades relacionadas con la alimentación se encuentran; Yemen, República Democrática del Congo, Sudán y Sudán del Sur, Afganistán, Siria, Haití, Etiopía, Nigeria, Somalia y Zimbabue. Después de años de crisis económica y problemas agrícolas, una gran parte de la población enfrenta dificultades para

acceder a alimentos suficientes y nutritivos, a ello se une en varios de estos países, las crisis e inestabilidad política, conflictos internos, desplazamiento de poblaciones y una infraestructura muy limitada, desastres naturales como sequías y terremotos y la existencia de conflictos armados y guerras.

Estos países representan algunos de los casos más urgentes, pero la inseguridad alimentaria es un problema global que afecta a muchas naciones en diferentes grados, requiriendo atención y esfuerzos internacionales para ser efectivamente abordada. Algunos países que han hecho esfuerzos significativos hacia la soberanía alimentaria incluyen:

1. Bolivia: ha implementado políticas para apoyar a los agricultores locales y ha promovido la producción orgánica y el consumo de productos locales.
2. Ecuador: incluyó el concepto de soberanía alimentaria en su Constitución de 2008, promoviendo un sistema alimentario más localizado y sostenible.
3. Nepal: ha sido reconocido por su enfoque en la agricultura sustentable y orgánica, y por apoyar a los pequeños agricultores para lograr la soberanía alimentaria.
4. Venezuela: ha introducido una serie de leyes y políticas para aumentar la producción agrícola interna y reducir la dependencia de las importaciones de alimentos.
5. Mali: a través de la cooperación con organizaciones de agricultores, ha trabajado para garantizar el control local de la producción de alimentos y mejorar la seguridad alimentaria.
6. Senegal: ha promovido la agricultura local y ha buscado reducir su dependencia de las importaciones de alimentos básicos como el arroz.
7. Cuba: desde la década de 1990, ha fomentado la agricultura urbana, y ha desarrollado un modelo de producción más local y sostenible.

Estos países han adoptado diferentes estrategias y grados de enfoque en la soberanía alimentaria, y aunque el camino es complejo y desafiante, sus esfuerzos son pasos hacia un sistema más justo y sostenible de producción y consumo de alimentos. Las diferentes acciones que se desarrollaron desde los gobiernos, organismos y organizaciones en cada país, en aras de alcanzar soberanía alimentaria bajo las condiciones actuales, ha resultado un proceso de significativa importancia para la humanidad. Cuba, como uno de los países que ha estado incrementando las acciones en ello, desde hace algunos años comenzó a implementar planes de acciones para el incremento de las producciones y su seguimiento y control desde lo local, a partir de sus potencialidades en cada territorio y la participación activa de las entidades de la agricultura y la población en general. En el año 2022, en la Gaceta Oficial No. 77 del 28 de julio, se publicó la Ley 148 de Soberanía Alimentaria y Seguridad Alimentaria y Nutricional. En esta ley se establecieron los preceptos fundamentales y lineamientos a seguir en el país para trabajar en función de la soberanía alimentaria. En la misma gaceta se publica

el Decreto 67 como Reglamento a esta ley, con todas las regulaciones a los diferentes organismos partícipes fundamentales en este proceso¹⁰.

La Ley 148, en su artículo 2, plantea que la soberanía alimentaria y el fortalecimiento de la seguridad alimentaria y nutricional son objetivos a alcanzar con el fin de garantizar, progresivamente, la protección del derecho a una alimentación sana y adecuada para todas las personas. Establece la soberanía alimentaria como la capacidad de la nación para producir alimentos de forma sostenible y proporcionar a toda la población acceso a una alimentación suficiente, diversa, balanceada, nutritiva, inocua y saludable, reduciendo la dependencia de medios e insumos externos, respetando la diversidad cultural y la responsabilidad ambiental. Por su parte, la seguridad alimentaria y nutricional comprende el acceso físico y económico que cada persona posee, en todo momento, a alimentos suficientes, equilibrados, inocuos y nutritivos, para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias respecto a los alimentos, con el fin de llevar una vida activa y sana¹¹.

El incremento de las funciones por parte de los territorios y su papel protagónico en el trabajo para alcanzar la soberanía alimentaria, hace que se requiera de un mayor control. El presente trabajo realiza una valoración de los resultados productivos obtenidos en Cuba, al cierre de año y algunas de las consideraciones de las entidades y la población del territorio cubano. En este sentido, se propone como objetivo una valoración de los resultados obtenidos en el sector productivo agrícola del país al cierre de año 2023, para lo cual se establecen como objetivos específicos:

- Analizar la situación de soberanía alimentaria en el mundo y los países más afectados en la actualidad.
- Analizar los resultados alcanzados por el sector agrícola en el país al cierre de año 2023.
- Evaluar los criterios de la población en relación con los esfuerzos para alcanzar la soberanía alimentaria y los logros obtenidos en el sector.

Materiales and métodos

La naturaleza del tema abordado facilitó la investigación de campo, al ser un problema de gran importancia para la población, sus resultados posibilitarán mayor discusión y tratamiento al mismo, así como el análisis de las acciones proyectadas para mitigarla, situación que se presenta en la actualidad.

La revisión bibliográfica consultada permitió evidenciar el nivel de incidencia que posee el tema objeto de estudio a nivel mundial, la atención que se brinda a diferentes niveles y los logros y dificultades que se presentan y que forman parte de los beneficios y perjuicios que la población mundial presenta en la actualidad con la incidencia además de la crisis económico social.

La investigación resulta descriptiva al ir analizando de forma detallada los elementos de la soberanía alimentaria y el desarrollo de acciones en algunos países para alcanzarla. De igual manera, se utilizó la modalidad cualitativa, que permitió fundamentar el problema en base al material bibliográfico tales como informes, artículos de revistas, textos, leyes y conferencias. La modalidad cuantitativa está dada en el análisis de los resultados productivos obtenidos en el cierre de año y la comparación en algunos renglones con el año anterior, que permiten mostrar los avances y retrocesos presentados.

Lo inductivo-deductivo estuvo dado en la necesidad de realizar los análisis de la información obtenida y las acciones desarrolladas, con las necesidades de la población en el suministro alimentario. Se determinan las limitaciones existentes que se debe continuar trabajando para contribuir a alcanzar una soberanía alimentaria con las producciones propias mediante la participación activa de la población. Los enfoques comparativos y argumentativos han sido fundamentales al permitir la observación, a través de investigaciones y publicaciones, de las diversas acciones emprendidas en pos de la soberanía alimentaria en ciertos países, contrastándolas con aquellos a nivel mundial donde no se han implementado políticas y esfuerzos suficientes para asegurar que toda la población tenga acceso a los alimentos básicos necesarios para una nutrición adecuada. Esto ha resultado en disparidades socioeconómicas significativas a nivel global.

Aparejado a los métodos teóricos clásicos, el estudio de campo necesariamente recurre a los métodos empíricos, donde la toma de una muestra de la población permite evidenciar los niveles de satisfacción y criterios de los ciudadanos, con las acciones que se han realizado y los resultados obtenidos. La encuesta tuvo como principal objetivo determinar los criterios de satisfacción de la población con las acciones y resultados actuales.

A la encuesta respondieron 31 profesionales del sector agrícola, 37 campesinos, 58 estudiantes universitarios de Agronomía y 126 integrantes de la población en general, para una muestra de 252, mujeres y hombres con edades entre los 21 hasta 75 años, el 53,9% de ellas con estudios de bachillerato y 28,2% con estudios superiores.

Resultados

La producción de alimentos para la población en el sector agrícola se desarrolla desde las tierras que poseen las entidades estatales, el sector campesino y los organopónicos, muchos de ellos dentro de la ciudad o en sus perímetros. Los análisis realizados en el balance de la producción agrícola al cierre de año, permitió evidenciar que aún no se satisface los planes establecidos y con ello, la demanda necesaria para el suministro a la población con un adecuado balance nutricional.

El Programa de la Agricultura Urbana, Suburbana y Familiar cumplió los principales indicadores productivos comprometidos para el año 2023. Se creció en 4 mil 61 hectáreas, para un total de 16 mil

701 hectáreas, equivalente a 15,2 m² por habitantes (Figura 1), dedicadas a la producción de hortalizas y condimentos frescos¹².

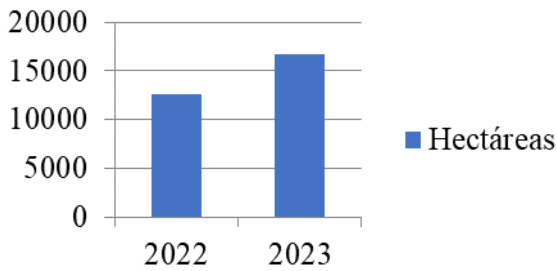


Figura 1. Crecimiento en hectáreas de tierras.

Fuente: elaboración propia.

Las acciones desarrolladas para el uso de tierras y el aprovechamiento de espacios en función de la agricultura urbana, suburbana y familiar, permitió que al cierre de año se hubieran construido 192 nuevos organopónicos y se establecieron 592 nuevas parcelas totalizando 5 mil 810¹³. Con este incremento se produjeron un millón 351 mil 110 toneladas de hortalizas, para un 102 % de cumplimiento con respecto a lo planificado, lo que representa un incremento significativo de 32 mil 979 toneladas con relación al año 2022 (Figura 2). Se incorporaron 69 mil 675 nuevos patios y parcelas para un total de un millón 187 mil 341m².

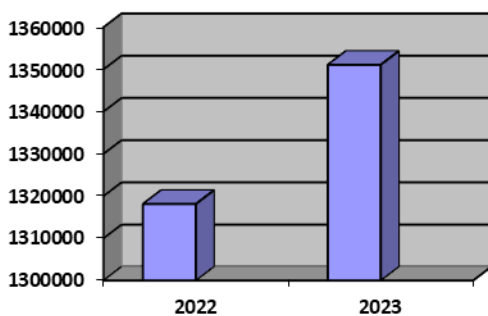


Figura 2. Incremento de la producción en organopónicos y parcelas.

Fuente: elaboración propia.

Un aspecto importante para garantizar las producciones de calidad, es el trabajo para la obtención de semillas. En la provincia se produjeron 46 toneladas de semillas de hortalizas, lo que pudo contribuir a respaldar la demanda en cinco de las especies priorizadas. En el caso de la habichuela no se logró producir la cantidad suficiente para satisfacer la demanda, lo que atentó contra la producción requerida y los altos precios de venta a la población.

Las producciones agrícolas han manifestado un comportamiento similar. De las 9 producciones agrícolas se incumplieron en 7 (viandas, hortalizas, maíz, frijol total, arroz consumo y frutales frescos, cítricos). En la producción de viandas se incumple en 237 mil 790 toneladas en lo que inciden las

organizaciones superiores de dirección empresarial (OSDE) agrícola, ganadero, Tabacuba, Flora y Fauna. Las mayores afectaciones se producen en el cultivo de plátano y boniato.

La producción de hortalizas se incumple en 171 mil 161 toneladas; la afectación principal estuvo en las OSDE Agrícola, Ganadero, Tabacuba y Flora y Fauna. El tomate se incumple en 83 mil 61 toneladas, de las cuales a la industria no se entregaron 27 mil 720 toneladas. El maíz se incumple en 2 mil 484 toneladas. El frijol se incumple en 14 mil 499 toneladas, de las cuales al Ministerio de Comercio Interior (MINCIN) se dejó de entregar 16 mil 121 toneladas, incumpliendo las OSDE Ganadero, Agroforestal y Tabacuba (Figura 3).

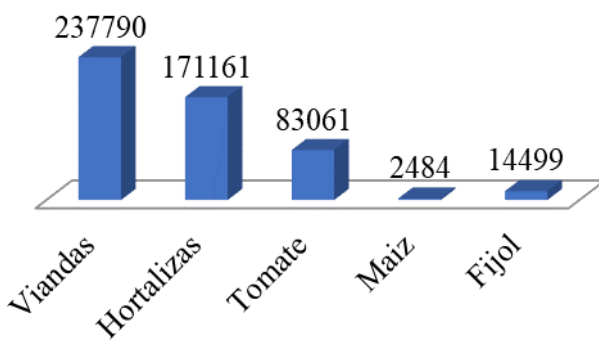


Figura 3. Incumplimiento en las producciones.

Fuente: elaboración propia.

Una de las producciones de atención e importancia en el territorio lo constituye el arroz. Principalmente en el municipio de Mayarí, se desarrolla la mayor siembra del producto por las condiciones existentes y el suministro de agua. Sin embargo, aún no se logra los planes de producción a partir de la demanda que se requiere para la población. Se incumple en 22 mil 406 toneladas. Aun cuando se logra un ligero incremento de la producción, no se cumple con lo planificado, debido a atrasos en las siembras enmarcada en la Campaña de Frío, donde no alcanzó la cantidad de las plantaciones proyectadas (Figura 4), además a las afectaciones de los rendimientos por falta de combustible y paquete tecnológico.

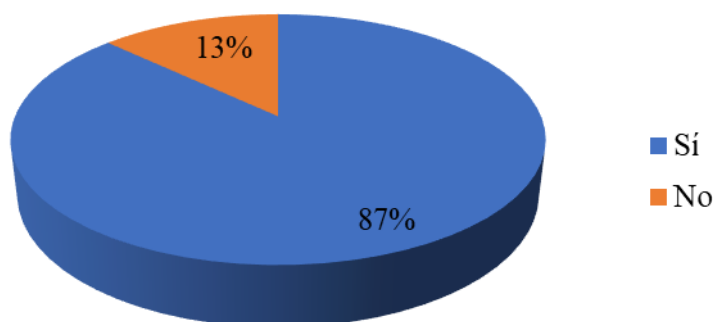


Figura 4. Plantaciones alcanzadas.

Fuente: elaboración propia.

En la producción de Cítricos se incumple en 562 toneladas, mientras que en los Frutales, se incumple en 51 mil 865 toneladas fundamentalmente por las OSDE Agrícola, Ganadera y Tabacuba. Esto hace que la población reciba una gran parte a la venta por el sector campesino y no estatal, lo que encarece las ofertas que se encuentran en los diferentes puntos de ventas y la población no siempre puede acceder a una adecuada cantidad de estos productos de importancia para la nutrición y la salud.

La revisión de los planes de desarrollo y acciones de las principales entidades rectoras en el territorio y el Gobierno, permitió evidenciar la existencia de varias acciones encaminadas a alcanzar la soberanía alimentaria y contrarrestar los resultados obtenidos durante el año 2024. Las acciones se centran en 6 temáticas principales de trabajo¹²:

1. Incremento de la producción.
2. Gestión financiera.
3. Funciones estatales priorizadas: control de la tierra y la masa ganadera, así como la contratación.
4. Reestructuración del sector presupuestado y el empresarial del Ministerio de la Agricultura.
5. Gestión eficiente de la fuerza de trabajo.
6. Trabajo con los cuadros.

Algunas de las acciones principales en estas temáticas para el incremento de la producción, se encuentran dirigidas a:

- Concentrar los recursos disponibles fundamentalmente en los Polos Productivos y las Empresas mayores productoras de cultivos varios en el país.
- Incremento en el uso bioproductos resultado del sistema de ciencia e innovación de la agricultura, como biofertilizantes, bioestimulantes y bioplaguicidas, entre otros bioproductos.
- Siembra escalonada de 4000 hectáreas de plátano por la tecnología extradenso. Alcanzar rendimientos mínimos de 50 ton/ha. Obtener una producción mínima de 200 mil toneladas de plátano.
- Incentivar la entrega de tierras en administración para autoconsumo a los centros de trabajo.
- Incrementar las empresas estatales que gestionan mercados y puntos de ventas.
- Estimular la producción de hortalizas para el autoabastecimiento en las comunidades que tiene el país, mediante nuevos organopónicos, huertos intensivos, patios, parcelas, balcones, terrazas y techos con posibilidades.

- Alcanzar un millón 360 mil toneladas de Hortalizas y Condimentos frescos.
- Impulsar acciones locales que permitan minimizar la problemática de los insumos productivos (sistemas de riego, semillas, abonos orgánicos, manejo agroecológico de plagas, herramientas de trabajo, entre otras), para incrementar el rendimiento.
- Impulsar la producción diversificada de cultivos y animales en las fincas de la Agricultura Suburbana.
- Se destinarán las divisas a respaldar los recursos e insumos de los exportadores y el financiamiento de las principales producciones que impactan en el balance alimentario del país. Esto contribuirá a ir disminuyendo gradualmente la alta dependencia en divisa que este sector tiene del resto de la economía.
- Implementar la compensación de importaciones con exportaciones como una alternativa para el reaprovisionamiento de insumos.
- Se incorporan 48 enrolladores en el año 2024 que benefician a 600 hectáreas.

Al analizar los resultados de la encuesta realizada, se pudo constatar que el personal considera que se han realizado un grupo de acciones que favorecen en los últimos años la producción agrícola, pero los resultados obtenidos aún no son suficientes. Los factores que inciden en que no se logre el cumplimiento de los planes son variados, los criterios relacionados se presentan en la figura 5.

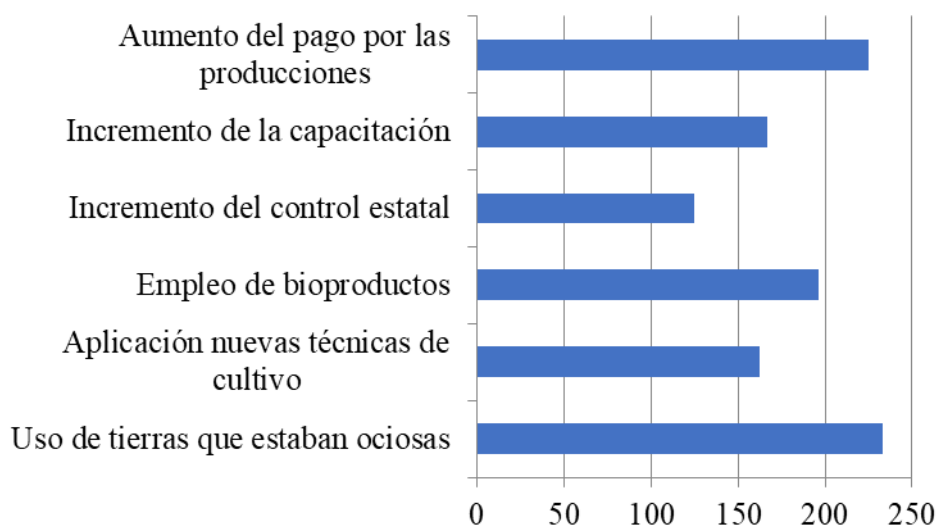


Figura 5. Factores que inciden el en incremento de las producciones.

Fuente: elaboración propia.

El logro de un mayor incremento en las producciones está dado también por la atención que se ofrezca al sector productivo en sus diversas variantes, desde un joven campesino, un alto productor, las entidades estatales hasta el más experimentado de los productores independientes. En este aspecto los encuestados consideran que a pesar de que se aprecia una mayor atención por las entidades

gubernamentales, aún esta no es suficiente (Figura 6), lo que implica que se debe llegar más a la base y buscar las principales necesidades que estos poseen para procurar la ayuda en lo que necesiten.

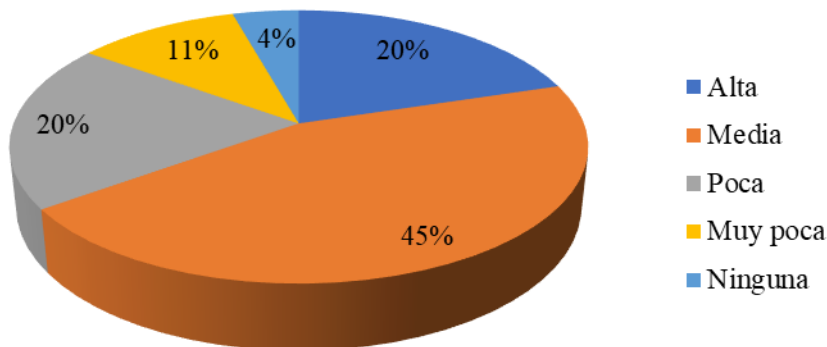


Figura 6. Niveles de atención al sector productivo.

Fuente: elaboración propia.

La población en general posee información sobre las diferentes acciones que se realizan en el sector y por parte del Estado para elevar los niveles alcanzados en la producción de alimentos. La participación de la población ha tenido un importante papel en ellas, sin embargo es variada la opinión de los encuestados con respecto a la contribución de las medidas adoptadas para el incremento de las producciones (Figura 7). Se puede apreciar que varias de estas acciones han contribuido a un mayor nivel en los resultados obtenidos en las producciones, pero aún resulta insuficiente para cubrir la demanda y las necesidades de la población. Resulta importante que las acciones y medidas sean discutidas en las comunidades y hacer partícipes a la población de su seguimiento y control.

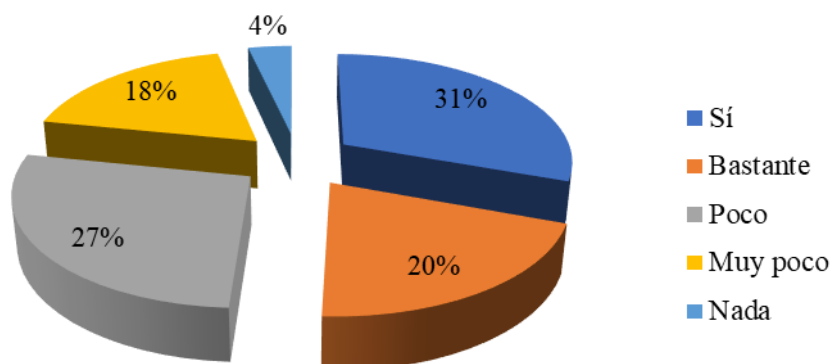


Figura 7. Influencia de las acciones tomadas en el incremento de las producciones.

Fuente: elaboración propia.

Al realizar una comparación entre los años 2020 al 2022 y el cierre de 2023 con respecto a las producciones de alimentos agrícolas y el suministro a la población, los encuestados consideran que

se ha podido apreciar algún incremento. Estos no satisfacen la demanda y por otra parte se ha producido un incremento en los precios de todos los productos, lo que no se ha contrarrestado con la producción sino que la población siente una mayor afectación en su economía a pesar de haber mayor producción con respecto a años anteriores en el último quinquenio (Figura 8).

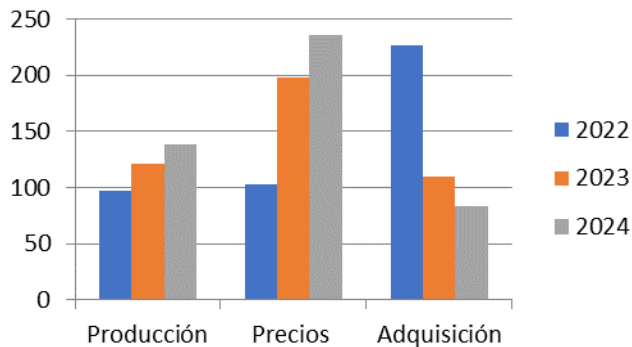


Figura 8. Relación producción-precio-adquisición.

Fuente: elaboración propia.

Las acciones realizadas reflejan un incremento en las producciones, pero la situación económica actual a su vez ha provocado un aumento de los precios y con ello una menor capacidad adquisitiva de la población. Este fenómeno golpea a mayor escala a la familia cubana en sus hogares, lo que implica un mayor esfuerzo por las diferentes entidades y el sector campesino para lograr un incremento mayor en las diferentes producciones que se desarrollan en el país para contrarrestar en parte el incremento de los precios.

Discusión

La producción de alimentos es un asunto de seguridad nacional en todos los países, pero en muchos de ellos se ha convertido en un problema que no ha tenido la completa solución. Varios países realizan esfuerzos para el desarrollo de acciones que permitan incrementar las producciones y que estas lleguen a la mayor cantidad de la población de forma sistemática. Sin embargo, la difícil situación económica, el acceso al agua, las dificultades para adquirir paquetes tecnológicos, poco desarrollo técnico industrial en muchas regiones, entre otros elementos, no favorecen el cumplimiento de este objetivo. A ello se une los impactos del cambio climático, que entre sus consecuencias está el aumento de desastres naturales como las inundaciones y las sequías, que han incrementado las áreas afectadas, el número de personas damnificadas, y la magnitud de los daños¹⁴, incidiendo de forma negativa en la agricultura.

Cuba es uno de los países que ha estado incrementando las acciones para dar un mayor protagonismo a la población, incentivar el papel de las comunidades y los gobiernos municipales, en la diversificación de las producciones y variedad de acciones para su incremento. El gobierno de la isla,

como parte de las acciones estableció la Ley 148, que establece la obligación de los organismos en su participación y apoyo desde las comunidades, para incrementar la producción y comercialización a la población, dando vital importancia a la comunidad y el municipio en el logro del autoabastecimiento.

El desarrollo de proyectos internacionales en la isla, ha permitido el beneficio de un número significativo de productores, que en gran medida han permitido el incremento de las producciones en las localidades y el servicio de suministro directo a la población. Las tecnologías que ha entrado al país tanto por los proyectos como por la adquisición del Estado y su ubicación en entidades agrícolas, polos productivos y campesinos de alto aprovechamiento y rendimiento productivo, han permitido satisfacer en parte las necesidades de la población y con ello disminuir las importaciones. A estas acciones se han unido la fabricación de productos naturales como bioplaguicidas, biofertilizantes y bioestimulantes, además de abonos orgánicos, para contrarrestar la falta de adquisición de paquetes tecnológicos por las afectaciones del bloqueo y favorecer el incremento de las producciones agrícolas con productos naturales.

A pesar de los esfuerzos realizados, un número importante de los renglones en la producción agrícola, no logran alcanzar los planes de producción programados para el año. Este incumplimiento hace que el Estado se vea en la obligación de destinar una cantidad significativa de divisas a la compra de productos de alimentación en el mercado internacional para cubrir la canasta básica de la población en primer lugar. Las múltiples acciones y compras a través de terceros países, encarecen los productos y disminuyen los niveles de adquisición de la isla. En este sentido se trazan y controlan las acciones dirigidas a incrementar las tierras en proceso de explotación, el empleo de las actuales en condiciones de uso y el incremento de patios y parcelas, de forma que la población pueda suplir en parte algunas de las necesidades de alimentos. Se ha podido constatar que las mujeres que contribuyen a la producción de alimentos mediante la creación de huertos rurales y urbanos dedican la mayor parte de sus ingresos a la adquisición de alimentos, destinan tiempo a su preparación y aseguran su distribución entre todos los miembros de la familia¹⁵.

Los incumplimientos están asociados en lo fundamental, a bajos rendimientos provocados por déficit de insumos, deficiente asignación de portadores energéticos, que limitaron las siembras y el riego. En los organopónicos los bajos rendimientos se han debido en lo fundamental al deficiente mantenimiento de la fertilidad de los suelos y sustratos, el uso de semillas con baja calidad genética y el deterioro en los sistemas de riego. Ante la falta de insumos hay que incrementar las áreas de siembra y ante menores rendimientos hay que sembrar más, tarea que debe implicar a todos los sectores de la sociedad, convencidos de la necesidad de contribuir al autoabastecimiento municipal para alcanzar la soberanía alimentaria en el país.

Conclusiones

La alimentación de la población constituye en la actualidad uno de los problemas más grandes a nivel mundial, en la atención a esta problemática se encuentran algunos países que destacan en la atención y prioridad, con el desarrollo de acciones dirigidas al incremento de las producciones desde la aplicación de políticas públicas.

Garantizar la soberanía alimentaria y nutricional, depende en gran medida de la participación activa de la población y no sólo de las entidades estatales que poseen este encargo social, es por eso que lograr el protagonismo y responsabilidad del autoabastecimiento municipal, parte del accionar de cada gobierno con las entidades y la población desde cada una de las comunidades.

Cuba como país subdesarrollado y de pocos recursos industriales y tecnológicos, depende en gran medida de los recursos naturales, por lo que la preparación de las tierras, aplicación de productos naturales y el empleo de la agroecología, resultan elementos esenciales para contribuir al abastecimiento de los principales productos agrícolas a la población y la sustitución de importaciones ante la actual situación económica que enfrenta.

Contribuciones de los autores: conceptualización: REL y RGR; metodología: TAT; instrumento: RGR; validación: REL, YAT y RGR; análisis formal: REL; investigación: RAG y REL; Depuración de datos: YAT; redacción-preparación del borrador original: REL; revisión y edición, YAT y RGR; visualización: YAT; supervisión: RGR; administración del proyecto: REL; adquisición de fondos: RGR. Todos los autores han leído y aceptado la publicación de este manuscrito.

Financiamiento: este manuscrito no recibió financiamiento externo.

Agradecimientos: al Ministerio de la Agricultura (MINAG), a la Delegación Provincial de la Agricultura (DPA) y a la Universidad de Holguín (UHo) por el financiamiento y apoyo en la ejecución de este proyecto de investigación.

Conflictos e intereses: los autores declaran no tener conflicto de intereses

References

1. Garcés, R.P.; Quiroz, Y.S. Enfoques y factores asociados a la inseguridad alimentaria. *Revista Salud Pública y Nutrición*. **2019**, *18*(1), 15-24.
2. Ramírez, R.F.; Vargas, P.L.; Cárdenas, O. La seguridad alimentaria: una revisión sistemática con análisis no convencional. *Espacios*, **2020**, *41*(45), 319-328.
3. Ruderman, A.; Núñez-de la Mora, A. Asociación entre seguridad alimentaria, indicadores de estado nutricional y de salud en poblaciones de Latinoamérica: una revisión de la literatura 2011-2021. *Runa*, **2022**, *43*(2), 117-135.

4. Aulestia, E.M.; Capa, E.D. Una mirada hacia la inseguridad alimentaria sudamericana. *Ciência & Saúde Coletiva*, **2020**, *25*, 2507-2517.
5. Mundo, V.; Unar, M.; Hernández, M.; Pérez, R.; Shamah, T. La seguridad alimentaria en los hogares en pobreza de México: una mirada desde el acceso, la disponibilidad y el consumo. *Salud pública de México*, **2019**, *61*(6), 866-875.
6. FAO. Una introducción a los conceptos básicos de la seguridad alimentaria; 2011. Disponible en: <http://www.fao.org/3/al936s/al936s00.pdf>. (Consultado en: noviembre de 2019)
7. Estrada, A.; Giraldo, N.A.; Deossa, G.C. Inseguridad alimentaria en hogares donde habitan adultos mayores. Medellín, Colombia. *Revista Facultad Nacional De Salud Pública*, **2022**, *40*(1), 1-10.
8. Ramírez, J. Seguridad alimentaria y la agricultura familiar en México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, **2022**, *13*(3), 553-565.
9. Luque, B.G.; Moreno, K.A.; Lanchipa, T.M. Impactos del COVID-19 en la agricultura y la seguridad alimentaria. *Centro Agrícola*, **2021**, *48*(1), 72-82.
10. República de Cuba. Decreto 67 Reglamento de la Ley de Soberanía alimentaria y Seguridad alimentaria y nutricional. Gaceta oficial, **2022**, *77*, 33-44.
11. República de Cuba. Ley 148 Ley de Soberanía alimentaria y Seguridad alimentaria y nutricional. Gaceta oficial, **2022**, *77*, 2-33.
12. República de Cuba. Balance del Sistema de la agricultura. Ministerio de la Agricultura, 2023. La Habana febrero **2024**.
13. República de Cuba. Balance del Sistema de la agricultura. Ministerio de la Agricultura, 2022. La Habana febrero **2023**.
14. Piña Borrego CE. Cambio climático, inseguridad alimentaria y obesidad infantil. *Rev Cubana Salud Publica*. **2020**;45:e1964.
15. Monroy Torres R, Castillo Chávez ÁM, Ruiz González S. Inseguridad alimentaria y su asociación con la obesidad y los riesgos cardiometabólicos en mujeres mexicanas. *Nutr Hosp*. 2021;38(2):388-395.

/ **Received:** 27 May 2024 / **Accepted:** 11 June 2024 / **Published:** 15 June 2024 /

Citation: Escobar Lorenzo, R., Apa Terrero, Y., & García Reyes, R. A. (2024). Resultados de las acciones en la producción agrícola para alcanzar la soberanía alimentaria en Cuba. *Bionatura*, 9(2).

DOI: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.3>

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>.

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

4 Study of DNA damage through cytogenetic evaluation in smokers and vapers with and without nicotine.

Estudio del daño en el ADN mediante evaluación citogenética en fumadores y vapeadores con y sin nicotina.

César Paz-y-Miño ^{1/*}; Ligia Ocampo ²; María Eugenia Sánchez ³; Paola E. Leone ⁴

¹ Facultad de Ciencias Médicas “Eugenio Espejo”, Universidad UTE. Quito, Ecuador

² Génica Laboratorios. Quito, Ecuador

^{3; 4} Laboratorio de Genética y Genómica. Sociedad de Lucha Contra el Cáncer, SOLCA, Quito

*Correspondence: genetica_medica@cesarpazymino.com, (+593 99502 6485)

Available from. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.4>

Abstract

Tobacco and electronic cigarettes are harmful to health and can cause genetic damage: cancer and serious diseases. Some studies have shown that the vapor produced by burning e-cigarettes can also be toxic and carcinogenic. Exposure to tobacco and vaping causes significantly higher DNA damage in different types of cells and tissues. Accumulating evidence indicates that e-cigarette vaping can alter cellular functions and DNA, increasing the risk of cancer and aging. We evaluated cytogenetic damage in individuals exposed to conventional cigarette vapors by burning with nicotine and without nicotine compared with a non-smoking population. The participants had an average age of 30 years (+/-10), with most of them being men, representing 70% of the sample. The results of chromosomal fragility found in the four groups studied (control group, conventional smokers, vapers with nicotine, and vapers without nicotine) showed breaks and gaps in one or both of the chromatids in all exposed individuals, with highly significant statistical differences ($p < 0.001$) compared with the unexposed control group. No statistically significant differences were found between the conventional smokers and the papers with and without nicotine, nor between the two types of papers ($p > 0.05$).

Keywords

Cigarettes; vaping; chromosome breakage; DNA damage.

Resumen

El tabaco y los cigarrillos electrónicos son perjudiciales para la salud y pueden causar daño genético,

cáncer y enfermedades graves. Algunos estudios han demostrado que el vapor generado por la combustión de los cigarrillos electrónicos también puede ser tóxico y carcinogénico. Individuos expuestos al tabaco y al vapeo muestran niveles significativamente elevados de daño en su ADN en diferentes tipos de células y tejidos. La evidencia acumulada sugiere que el vapeo con cigarrillos electrónicos puede alterar las funciones celulares y el propio ADN, aumentando el riesgo de cáncer y envejecimiento. Evaluamos el daño citogenético en individuos expuestos a vapores de cigarrillos convencionales con nicotina y sin nicotina, comparados con una población no fumadora. Los participantes tenían una edad promedio de 30 años (+/- 10), siendo mayoritariamente hombres (70% de la muestra). Los resultados de fragilidad cromosómica encontrados en los cuatro grupos estudiados (grupo de control, fumadores convencionales, vapores con nicotina y vapores sin nicotina) mostraron roturas y brechas en una o ambas cromátidas en todos los individuos expuestos, con diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0,001$) en comparación con el grupo de control no expuesto. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de fumadores convencionales y los vapores con y sin nicotina, ni entre los dos tipos de vapores ($p > 0,05$).

Palabras clave. Cigarrillos; vapeo; rotura cromosómica; daño en el AND.

Introduction

Tobacco use is one of the leading causes of death worldwide. It is estimated that more than eight million people die each year due to tobacco-related diseases. Tobacco contains chemicals that are harmful to health, such as tar, carbon monoxide, and nicotine. These substances can cause genetic damage and increase the risk of cancer and other serious diseases¹⁻³.

In recent years, electronic cigarettes have emerged as an alternative to conventional tobacco. Although initially believed to be a safer option than tobacco, many studies have shown otherwise¹⁻⁵. The vapor produced by e- cigarettes contains toxic and carcinogenic chemicals, albeit at lower levels than tobacco smoke. Additionally, e-cigarette devices may also contain additional ingredients that are toxic and inhaled directly into the lungs¹⁻⁵.

Tobacco and e-cigarettes are two of the most common forms of nicotine consumption today. However, there is significant controversy about which is more harmful to health. Recently, the DNA of the epithelial cells of the oral cavity of 72 tobacco users, vapers and non-consumers was analyzed, finding that those exposed to smoking and vaping had significantly higher levels ($p < 0.005$) of DNA damage between vapers and smokers⁶. It has been known for many years that the consumption of conventional tobacco and electronic cigarettes, depending on their exposure time and composition, causes various cellular, cytogenetic and DNA damage¹⁻¹¹. In a previous in silico study¹, we identified

50 compounds in e-cigarettes with possible carcinogenic effects and genes reported to be deregulated in the oral epithelium of e-cigarette users. The most important health risks include respiratory tract irritation, eyes and skin, with a 50% incidence and 10% cytotoxicity. The types of cancer with the highest risk identified are ovary, uterus, bladder, lung, esophagus and stomach.

Additionally, in a previous study that we carried out in smokers¹², we found an increase in chromosomal damage and telomeric associations (TA), a sign of predisposition of cells to genetic instability reflected in chromosomal damage and DNA breaks. We found that the group exposed to tobacco showed a higher percentage of TA than the control group ($p < 0.001$).

Currently, evidence has accumulated that the vapors of electronic cigarettes alter cell functions and DNA itself. According to the WHO classification, ENDS (Electronic Nicotine Delivery Systems) and conventional cigarettes share some 27 chemicals that have been proven to be harmful to DNA. In our previous study, we found 234 chemical compounds: 150 for conventional cigarettes and 84 for e-cigarettes; we found 34 compounds in common with e-cigarettes and 50 present exclusively in e-cigarettes. Additionally, in 11% of the compounds, their effect on health issues has not been established yet, although half of these have been tested in animals as damaging to DNA¹.

Studies conducted exposing human and animal cells to vapors from conventional and e-cigarettes show an increase of more than three times in cell damage: decreased cell division and DNA degradation, increased apoptosis, shortening of telomeres, and genotoxicity. All of this is associated with a higher risk of cancer and aging⁶⁻²¹.

As far as we have been able to review, there is no study of DNA damage reflected in chromosomal breaks in individuals exposed to vaping with nicotine or Electronic Nicotine Delivery Systems (ENDS) and Electronic Non-Nicotine Delivery Systems (ENNDS). The present work evaluates the cytogenetic damage, according to the consumption of conventional cigarettes, vapers with nicotine and vapers without nicotine, compared with a non-smoking population.

Materials and methods

The experimental and quantitative study was conducted with 120 individuals divided into four groups aged 25 to 40. Each group underwent a survey and had clinical records taken. The study complies with all Ecuadorian regulations' legal and ethical aspects, and the informed consent was thoroughly discussed with the study participants.

The first group exposed to cigarettes included 30 smokers (>5 packs a year). The second group exposed to vaping by burning with nicotine (ENDS) included 30 individuals who consumed 3 to 6 milligrams of nicotine, with at least one year of exposure and no more than four years. The third group of non-nicotine-burning vapers (ENNDS) included 30 individuals with at least one year of exposure and no more than four years. The fourth group was the Control Group (CG), consisting of 30 healthy

individuals of similar ages to those exposed to vaping and tobacco and who were not in contact with vaping or tobacco or other known genotoxic potentials. Additionally, in the analysis of results, it will be considered whether or not there is variation depending on the sex of the individuals, men or women. Peripheral blood T lymphocyte cultures were implemented using the standard technique: 5 milliliters of RPMI-1640 culture medium, supplemented with fetal bovine serum (10%), penicillin (10,000 IU/ml), streptomycin (10 mg/ml), L-glutamine (200 mM), HEPES buffer (1 mM) and phytohemagglutinin (1 mg/ml). Cultures were maintained for 48 h at 37°C. Harvest was carried out using standard techniques. Slides were air-dried and stained with 5% Giemsa. One hundred metaphases per individual were analyzed at 1000X magnification with an optical photomicroscope, recording chromosome fragility: breaks and gaps in one or both chromatids and radial figures. The chi-square test was used for statistical analysis with $p < 0.05$. This methodology has been validated in several studies^{12, 22, 23}.

Results

The average age of the participants was 30 years (+/-10). Although the study did not include the classification of women and men, on average, men represented 70% of the sample. Despite this differentiation, we did not find significant statistical differences between the groups of men and women exposed to these toxins ($p < 0.05$). Table 1 shows the results of chromosomal fragility found in the four groups studied: CG, conventional smokers, vapers with nicotine (ENDS) and vapers without nicotine (ENNDS). The cytogenetic study showed breaks and gaps in one or both of the chromatids and occasional radial figures (<1%) (Figure 1), without finding other alterations such as dicentric chromosomes, rings or fragments. All exposed individuals presented highly significant statistical differences ($p < 0.001$) when compared to the unexposed control group (Table 2). When we compared the group of conventional smokers with vapers with nicotine (ENDS) and without nicotine (ENNDS), as well as when comparing the damage between the two types of vapers, we found no statistically significant differences between them ($p > 0.05$). All exposed groups present significant statistical differences compared to the unexposed 30 healthy individuals control group ($p < 0,001$).

Table 1. Cytogenetic damage produced by conventional tobacco and vaping by burning electronic cigarettes, compared with the control group.

	Number of individuals (70% men)	% of chromosome damage: breaks, gaps and figures
Normal Controls	30	2
Smokers	30	16

Vapers without nicotine (ENNDS)	30	11
Vapers with nicotine (ENDS)	30	14

Table 2. Comparative statistical analysis was done using a Chi-square test and p-value between the exposed groups versus the control normal group (CN).

Sample s	CN/C N	CN/Smoker s	CN/Vapers without nicotine	CN/Vapers with nicotine	Smokers/Vapers without nicotine	Smokers/Vapers with nicotine	Vapers without nicotine/vapers with nicotine
p	>0,05	<0,001	<0,01	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05

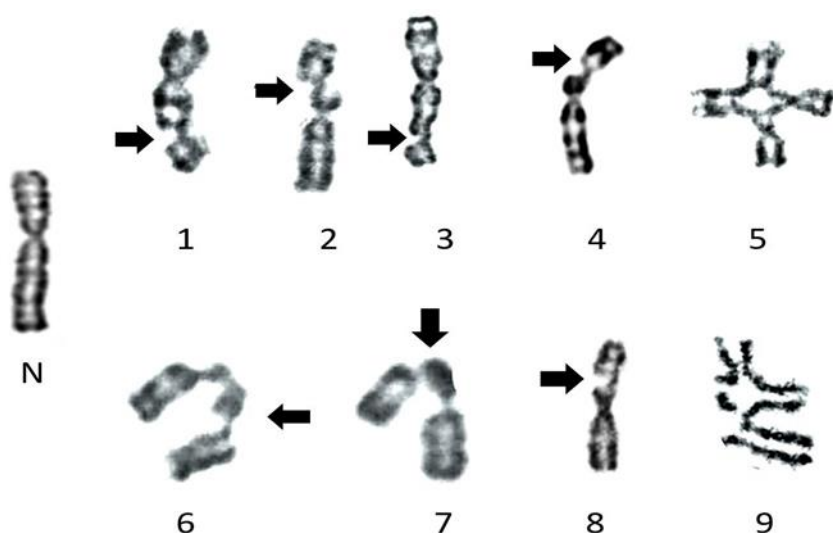


Figure 1. Variety of breaks in one and two chromatids on different chromosomes (1 to 4 and 6 to 8). Tetraradial figure (5). Triradial figure (9). Normal Chromosome (N).

Discussion

Our data show the chromosomal damage produced by traditional tobacco, vaping with nicotine and without nicotine, when compared with the control group, in the same way as conventional cigarettes when compared with electronic ones, do not show statistical differences; their behavior in the percentage of chromosome fragility is the same. Chromosomal damage in one or two chromatids defines vape compounds as genotoxic agents, as evidenced in several articles^{1-14, 16-21, 24}.

The significance of genotoxicity is widely highlighted. Conventional tobacco contains more than 70 chemicals known to be carcinogenic. The tar in tobacco smoke contains substances capable of causing mutations in cells¹⁻¹⁴. A study conducted by the National Cancer Institute found that smokers are up to 15 times more likely to develop lung cancer than non-smokers¹⁴. Other studies have also shown that

tobacco can increase the risk of cancer of the bladder, pancreas, mouth, pharynx, esophagus, larynx, kidney, liver, stomach, and cervix.^{3, 24} E-cigarettes are consumed as a safer alternative to conventional tobacco. However, studies show that nicotine- burning e-cigarettes can also cause genetic damage, using liquids containing nicotine, flavorings, and others such as formaldehyde and acetaldehyde, known to cause DNA damage and increase the risk of cancer^{1, 9- 14, 16-21}.

Moreover, it is documented that vapers have higher levels of toxic chemicals in their urine than non-smokers and conventional cigarette smokers²⁵ or have more significant amounts of DNA damage in mouth cells compared to non-smokers¹⁸. There is evidence that e-cigarettes can damage lung function and cause inflammation in lung tissues and liver damage^{26, 27}. Our data reinforce the criteria for genetic damage from exposure to both types of cigarettes, conventional and e-cigarettes.

It has been shown that the damage of e-cigarette vapor depends on the power of the vaping system. Powers from 18 to 30 Watts produce an increase in DNA damage evaluated by the comet assay, the micronucleus test and the *Pig-a* gene mutation assay, depending on whether the exposure is subacute (4 days), subchronic (3 months) and chronic. (6 months)²⁶. The high-power e-cigarette and a conventional cigarette induced oxidative damage to DNA in the lungs and liver of exposed mice²⁶. Our data agrees with these chronic exposure results since the individuals analyzed in this study were exposed between 6 months and 4 years.

Cytogenetic damage from conventional and e-cigarettes depends on the amount and type of chemicals present in the smoke and vapor¹⁻²¹. Vapes do not contain tar, carbon monoxide, or other harmful chemicals found in conventional tobacco smoke. However, the e-liquids used in e-cigarettes contain other chemicals that can harm health^{1, 19, 26, 27}.

The genotoxic action is demonstrated in studies of DNA alterations. The results of Tommasi et al. (2023), detected significantly higher levels of DNA damage in both vapers and smokers ($p < 0.005$), compared to non- users ($p = 0.020$)⁶, data very similar to our study, which shows highly significant differences between smokers and vapers, compared to the control group.

In the study by Tommasi et al., vapers who used sweet, mint/menthol, and fruit-flavored e-liquids showed higher levels of DNA damage than the control group⁶. Although our study did not analyze these vaping characteristics, it is legitimate to think that chromosomal damage has the same characteristic if we compare controls versus users, which has been widely documented in other studies^{1-14, 16-27}.

In our study, as found in other publications^{6, 26, 27}, the nicotine content of vaping liquids did not predict DNA damage. We evaluated e-cigarettes by burning with at least 3 mg or more of nicotine per load, evidencing cytogenetic damage.

Additional studies have shown, including with adolescents and at the prenatal level^{25, 28}, that while

nicotine levels in e-cigarettes can vary, just because the vapors do not contain the same chemicals found in conventional cigarettes does not mean they are safe.

Moreover, in a previous study¹, in which we reviewed the exclusive chemical compounds of e-cigarettes through in silico selection and which included articles that reported chemical composition and risks associated with health, we detected that, of the chemical compounds classified according to the code According to the "Chemical Abstracts Service" ²⁹ for chemical substances, at least 50 dangerous compounds are present in e- cigarettes.

In addition, the potential carcinogenic effects of vaping are related to the deregulation of epithelial genes in 33 tumors; at least 878 genes published and analyzed in silico are associated with this deregulation in e- cigarette users³⁰.

According to our data from the present study and previous reports^{1, 11}, we conclude that there is actual damage to chromosomes associated with consuming conventional tobacco, ENDS and ENNDS. According to the last findings¹, it could additionally be associated with 11% of new compounds found in e-cigarettes, apart from the 123 compounds typical of conventional cigarettes, 50 typical of e-cigarettes and 34 common to both. This translates into an increased carcinogenic risk that would affect individual health, evidenced in chromosome breaks, since they produce irritation of the respiratory tract, eyes and skin with a 50% higher incidence in consumers, as well as a 10% evidenced by cytotoxic effects, and more significant risks of ovarian, uterine, bladder, lung, esophagus and stomach^{1, 11}.

Although various studies suggest that vaping may be less harmful than conventional cigarettes, there has not been enough long-term research to assess the health risks associated with vaping entirely. Furthermore, some studies suggest that the use of e-cigarettes may be a step towards conventional tobacco consumption and not an effective alternative¹³.

Regarding the impact on public health, some studies ^{5, 7, 8, 14, 15, 20} analyze the relationship between the use of e-cigarettes and the reduction of tobacco consumption. The results showed that although some people may use e-cigarettes as a tool to give up tobacco smoking, it is also common for people who have never smoked to start using them, which can tempt new smokers with their respective genotoxic and carcinogenic risks.

The study has some limitations, such as the variety of vaping products, the concentrations of vaping liquids, and the quality of products used for vaping. This is a current public health problem with so many brands and types of vapes available, which determines that there must be controls and standardization of vaping products. Given our data, the genotoxic risk should be evaluated more broadly in vaper populations. More excellent controls on marketing and consumption will undoubtedly be proposed, as well as education campaigns about the dangers of exposure to vaping

products.

Conclusions

According to our data, electronic cigarettes, like traditional tobacco, are shown to be genotoxic, evaluated by chromosomal studies for fragility. Although electronic cigarettes without nicotine produce less chromosome damage, when compared to electronic cigarettes that do contain nicotine, the statistical differences show that they are equally genotoxic ($p < 0.01$). Electronic cigarettes for vaping should be considered genotoxic whether they contain nicotine or not; the results, when compared with the control population, demonstrate this ($p < 0.001$). A more significant number of studies and analyzed individuals are needed to evaluate the real genotoxicity of electronic cigarettes and to carry out educational and public health campaigns on the risks of their consumption.

Author Contributions: all authors contributed equally to the research, both in the laboratory analysis and in the construction of this article.

Funding: This research received no external funding

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Institutional Ethics Committee of Universidad UTE y Ministerio de Salud.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: This section details where data supporting reported results can be found, including links to publicly archived datasets analyzed or generated during the study. Please refer to the suggested Data Availability Statements in the "Bionatura Research Data Policies" section at <https://www.revistabionatura.com/policies.html>. You might exclude this statement if the study did not report any data.

Acknowledgments: Acknowledgments to the Committee on Human Research (CISH) No. 2018-226E and Ministry of Public Health MSP-DIS-2019-0283-O for approval of this study.

Conflicts of Interest: the authors declare no conflict of interest.

References

1. Armendáriz-Castillo, I.; Guerrero, S.; Vera-Guapi, A.; Cevallos-Vilatuña, T.; García-Cárdenas, J.M.; Guevara-Ramírez, P.; López-Cortés, A.; Pérez-Villa, A.; Yumiceba, V.; Zambrano, A.K.; Leone, P.E.; Paz-y-Miño, C. Genotoxic and carcinogenic potential of compounds associated with

- electronic cigarettes: A systematic review. *BioMed Res Int.* 2019; 1386710. DOI: 10.1155/2019/1386710.
2. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. *Public Health Consequences of E-Cigarettes*. Washington, DC: The National Academies Press. 2018. [Internet]. [Consulted Jul 2023]. Available in: <https://www.nap.edu/catalog/24952/public-health-consequences-of-e-cigarettes>
 3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Health Effects of Cigarette Smoking*. 2021. [Internet]. [Consulted Jul 2023]. Available in: https://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/fact_sheets/health_effects/effects_cig_smoking/index.htm
 4. US Department of Health and Human Services. *The Health Consequences of Smoking—50 Years of Progress: A Report of the Surgeon General*. 2014. [Internet]. [Consulted Jul 2023]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK179276/>
 5. World Health Organization (WHO). *Tobacco*. 2021. [Internet]. [Consulted Jul 2023]. Available in: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tobacco>
 6. Tommasi, S.; Blumenfeld, H.; Besaratinia, A. Vaping Dose, Device Type, and E-Liquid Flavor are Determinants of DNA Damage in Electronic Cigarette Users. *Nicotine Tob Res*, 2023. [Internet]. [Consulted Jul 2023]. Available in: <https://doi.org/10.1093/ntr/ntad003>.
 7. Environmental Health Perspectives. *Metals in emissions of electronic cigarettes: results from a risk assessment*. 2018. [Internet]. [Consulted Jul 2023]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5936451/>
 8. Levy, D.T.; Yuan, Z.; Li, Y.; Prevalence and Characteristics of E-Cigarette Users in the United States. *Int J Environ Res Public Health*, 2017, 14(10):1200. DOI: 10.3390/ijerph14101200
 9. Farsalinos, K.E.; Poulas, K.; Voudris, V.; Le Houezec, J. Electronic cigarette use in the European Union: analysis of a representative sample of 27 460 Europeans from 28 countries. *Addiction*, 2016, 111:2032–40. <https://doi.org/10.1111/add.13506>.
 10. Lee, H.W.; Park, S.H.; Weng, M.W.; Wang, H.T.; Huang, W.C.; Lepor, H.; Tang, M.S. E-cigarette smoke damages DNA and reduces repair activity in mouse lung, heart, and bladder as well as in human lung and bladder cells. *Proc Nat Acad Sci*, 2018, 115(7), E1560-E1569. <https://doi.org/10.1073/pnas.171818511>

11. Tsai, J.C.; Saad, O.A.; Magesh, S.; Xu, J.; Lee, A.C.; Li, W.T.; Chakladar, J.; Fuster, M.M.; Chang, E.Y.; Wang-Rodriguez, J.; Ongkeko, W.M. Tobacco Smoke and Electronic Cigarette Vapor Alter En- hancer RNA Expression That Can Regulate the Pathogenesis of Lung Squamous Cell Carcinoma. *Cancer (Basel)*. 2021, 13(16): 4225. DOI: 10.3390/cancers13164225
12. Paz-y-Miño, C.; Pérez, J.C.; Dávalos, V.; Sánchez, M.E.; Leone, P.E. Telomeric associations in cig- arette smokers exposed to low levels of X-rays. *Mutat Res*. 2001, 490(1), 77-8016. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(00\)00156-X](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(00)00156-X)
13. Barrington-Trimis, J.L.; Samet, J.M.; McConnell, R. Flavorings in Electronic Cigarettes An Unrec- ognized Respiratory Health Hazard? *JAMA*, 2014, 312(23), 2493-2494. DOI: 10.1001/jama.2014.14830
14. National Cancer Institute (NCI). Smoking and Cancer. 2021. Recuperado de <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/tobacco/smoking-fact-sheet>
15. US Food and Drug Administration (FDA). Vaporizers, E-Cigarettes, and other Electronic Nicotine Delivery Systems (ENDS). 2021. [Internet]. [Consulted Jul 2023]. Available in: <https://www.fda.gov/to- bacco-products/products-ingredients-components/vaporizers-e-cigarettes-and-other-electronic-nicotine-delivery-systems-ends>
16. Alexandrof, L.B.; Ju, Y.K.; Haase, K.; Van Loo, P.; Martincorena, I.; Nik-Zainal, S.; Totoki, Y.; Fujimoto, A.; Nakagawa, H.; Shibata, T.; Campbell, P.J.; Vineis, P.; Phillips, D.H.; Stratton, M.R. Muta- tional signatures associated with tobacco smoking in human cancer. *Science*, 2016, 354(6312), 618-622. DOI: 10.1126/science. aag0299
17. Kaur, G.; Pinkston, R.; Mclmore, B.; Dorsey, W.C.; Batra, S.K.; Singh, A.P. Immunological and toxicological risk assessment of e-cigarettes. *Eur Respir Rev*, 2018, 27(147), 170119. DOI: 10.1183/16000617.0119-2017
18. Lee, H.W.; Park, S.H.; Weng, M.W.; Wang, H.T.; Huang, W.C.; Lepor, H.; Wu, X.R.; Chen, L.C.;
19. Tang, M.S. E-cigarette smoke damages DNA and reduces repair activity in mouse lung, heart, and bladder as well as in human lung and bladder cells. *Proc Natl Acad Sci*, 2018, 115(7), E1560-E1569. DOI: 10.1073/pnas.1718185115
20. Park, J.Y.; Kim, H.J.; Kim, H.J. The effects of cigarette smoke on immune responses and the immune system in respiratory tissues. *Clin Exp Otorhinolaryngol*, 2018, 11(2), 69-74. DOI: 10.21053/ceo.2017.00833

21. Zhang, Y.; Sumner, W.; Chen, D.R. In vitro particle size distributions in electronic and conventional cigarette aerosols suggest comparable deposition patterns. *Nicotine Tob Res*, 2013, 15(2), 501-508. DOI: 10.1093/ntr/nts165
22. Zhang, Y.; Sumner, W.; Chen, D.R. In vitro exposure systems and dosimetry assessment tools for inhaled tobacco products: Workshop proceedings, conclusions and paths forward for in vitro model use. *Altern Lab Anim*, 2017, 45(4), 195-213. DOI: 10.1177/026119291704500305
23. Galloway, S.M.; Aardma, M.J.; Ishidate, M.; Ivett, J.L.; Kirkland, D.J.; Morita, T.; Mosesso, P.; So-funi, T. Report from working group on in vitro test for chromosomal aberrations. *Mutat Res*, 1994, 312 (1994) 241–261. DOI: 10.1016/0165-1161(94)00012-3
24. Carrano, A.V.; Natarajan, A.T. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques, in: *Proceedings of the International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens*, Publication no.14, *Mutat Res*, 1998, 204, 379–406. DOI: 10.1016/0165-1218(88)90036-5
25. Natarajan, A.T. Origin and significance of chromosomal alterations, in: G. Obe (Ed.), *Mutation in Man*, Springer, Berlin, Germany, 1988, pp. 156–176
26. Rubinstein, M.L.; Delucchi, K.; Benowitz, N.L.; Ramo, D.E. Adolescent exposure to toxic volatile organic chemicals from e-cigarettes. *Pediatrics*, 2018, 141(4), e20173557. DOI: 10.1542/peds.2017-3557
27. Platel, A.; Dusautoir, R.; Gwenola, R.; Kervoaze, G.; Dourdin, G.; Gateau, E.; Talahari, S.; Huot,
28. L. Simar, S. Ollivier, A. Laine, W. Kluza, J. Gosset, P. Garçon, G. Anthérieu, S.; Guidice, J-M.; Ness-lany, F. Comparison of the in vivo genotoxicity of electronic and conventional cigarettes aerosols after subacute, subchronic and chronic exposures. *J. Hazard Mater*, 2022, 5, 423. DOI: 10.1016/j.jhaz-mat.2021.127246
29. Moses, E.; Wang, T.; Corbett, S.; Jackson, G.R.; Drizik, E.; Perdomo, C.; Perdomo, C.; Kleerup, E.; Brooks, D.; O'Connor, G.; Dubinett, S.; Hayden, P.; Lenburg, M.E.; Spira, A. Molecular Impact of Electronic Cigarette Aerosol Exposure in Human Bronchial Epithelium. *Toxicol Sci*, 2017, 155(1), 248–257. DOI: 10.1093/toxsci/kfw198
30. Römer, P.; Gómez Putzer, A.; Kemmerich, R.; Mathes, B. Effects of Prenatal Electronic Cigarette Exposure On Foetal Development: a Review of the Literature. *GebFra Science*, Review/Übersicht, 2021, 81(11),1224-1237. DOI: 10.1055/a-1524-5155

31. CAS, "Chemical Abstracts Service". American Chemical Society, 2023, <https://www.cas.org/>.
32. Hoadley, K.A.; Yau, C.; Hinoue, T.; Wolf, D.M.; Lazar, A.J.; Drill, E.; Shen, R.; Taylor, A.M.; Cherniack, A.D.; Thorsson, V.; Akbani, R.; Bowlby, R.; Wong, C.K.; Wiznerowicz, M.; Sanchez-Vega, F.; Robert-son, A.G.; Schneider, B.G.; Lawrence, M.S.; Noushmehr H.; Malta, T.M. Cancer Genome Atlas Net- work. Stuart, J. M. Benz, C. C. Laird P, W. Cell-of-Origin Patterns Dominate the Molecular Classification of 10,000 Tumors from 33 Types of Cancer. *Cell*, 2018, 173(2) 291–304, e6, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.022>

/ **Received:** 7 May 2024 | **Accepted:** 13 June 2024 | **Published:** 15 June 2024 |

Citation: Paz-y-Miño C, Ocampo L, Sánchez ME, Leone PE. Evaluation of DNA damage through cytogenetic approach in smokers and vapers with and without nicotine compared with control group. *Bionatura*. 2024;9(2). DOI: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.6>

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>.



All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

5 Análisis de riesgos operacionales en una planta procesadora de sábila.

Operational risk analysis in an aloe vera processing plant.

Noel Acacio-Chirino^{1/*} ; Jonnattan Cancino-Camperos² .

¹Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda UNEFM

²Grupo de investigación ingeniería de riesgo, Universidad Nacional Experimental

Francisco de Miranda UNEFM, Venezuela;

*Correspondencia: noelacacio@correo.unefm.edu.ve.

Available form. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.5>

Resumen

La investigación tuvo como objetivo diseñar un análisis de riesgos operacionales (Hazop) de los procesos de una planta de productos a base de sábila con el propósito de identificar aquellos peligros potenciales y significativos en las operaciones implicadas en el procesamiento de sábila. Se diagnosticó la situación actual de las operaciones de la planta, se identificaron los nodos del proceso, se analizaron las consecuencias de las desviaciones encontradas en los nodos identificados y se formularon las medidas preventivas y recomendaciones para disminuir la tolerancia a niveles aceptables. Un equipo multidisciplinario revisó la información contenida en los diagramas disponibles, entregados para su estudio utilizando la metodología hazop. La información se registró en matrices de riesgo, tomando en cuenta los criterios de severidad y de frecuencia de ocurrencia para establecer los niveles de riesgo. A partir del diagnóstico de los procesos se encontraron situaciones de riesgo con condiciones de operación críticas como altas temperaturas, altas presiones, que pueden provocar accidentes. Se definieron diez (10) nodo equipos, a partir de cuyo análisis se documentaron cuarenta y un (41) recomendaciones, cuatro (04) correspondientes a riesgo reducible y treinta y siete (37) de riesgo bajo. No se identificaron recomendaciones de riesgo intolerable ni de riesgo alto.

Palabras clave. Análisis; hazop; peligros; procesos; riesgos; sábila.

Abstract

The objective of this research was to design an operational risk analysis (Hazop) of the processes of an aloe-based product plant with the purpose of identifying potential and significant dangers in the operations involved in aloe processing. The current situation of the plant operations was diagnosed, the process nodes were identified, the consequences of the deviations found in the identified nodes

were analyzed, and preventive measures and recommendations were formulated to reduce tolerance to acceptable levels. A multidisciplinary team reviewed the information contained in the available diagrams, which were prepared for study using the hazop methodology. The information was recorded in risk matrices, considering the criteria of severity and frequency of occurrence to establish risk levels. From the diagnosis of the processes, risk situations were identified under critical operating conditions, such as high temperatures and high pressures, which can cause accidents. Ten (10) node teams were defined, from whose analysis forty-one (41) recommendations were documented, four (04) corresponding to the reducible risk, and thirty-seven (37) of low risk. No intolerable risk or high-risk recommendations were identified.

Keywords. Analysis; hazop; dangers; processes; risks; Aloe Vera.

Introducción

Los hechos que ponen en riesgo la vida o la salud del hombre han existido desde siempre. En consecuencia, también desde siempre, el hombre ha tenido la necesidad de protegerse. Pero cuando estos hechos o condiciones de riesgo se circunscriben al trabajo, históricamente, el tema de la producción ha recibido mayor importancia que el de la seguridad, ya que es sólo recientemente que el hombre, como persona natural y como persona jurídica, ha tomado conciencia de la importancia que reviste la salud ocupacional y la seguridad en el trabajo¹.

En épocas más recientes y con el inicio de la era industrial, los cambios en las condiciones de trabajo fueron mucho más drásticos que los acontecidos hasta entonces, los trabajos en las fábricas e industrias aumentaron considerablemente los riesgos, evidenciando la necesidad de tratamientos específicos a estas nuevas situaciones.

Los accidentes y las enfermedades profesionales se convirtieron en aspectos importantes del nuevo mundo laboral, y es ese proceso de industrialización, lo que trajo consigo el uso de equipos y sustancias que constituyeron factores de riesgo para las personas que las manipulan y al ambiente.

Las consecuencias de estos accidentes suelen ser: pérdidas de vidas o daños a la salud humana, impactos ambientales negativos, perjuicios económicos, efectos psicológicos en la población, comprometimiento de la imagen de la industria y del gobierno².

En Venezuela, esta situación se puede evidenciar al observar el auge industrial no sólo de las grandes industrias, sino de la pequeña y mediana empresa, en las cuales también se realizan actividades que de una u otra forma representan situaciones de riesgo para los trabajadores que muchas veces desconocen las medidas de seguridad en el trabajo que realizan, lo cual se traduce en accidentes y a largo plazo, en enfermedades derivadas de las actividades que realizan.

El análisis de riesgos se emplea para identificar los peligros y amenazas del proyecto y/o instalación, considerando las sustancias peligrosas, condiciones operativas y los posibles peligros, así como las salvaguardas, medidas de seguridad y protecciones consideradas para cada una de las áreas que conforman la instalación, Hazop es una técnica cualitativa para identificar riesgos, permite un análisis más sistemático de las desviaciones de proceso que pueden producirse, sus causas y defensas contra las mismas. Si estas son significativas y las salvaguardas son inadecuadas o insuficientes, se deben recomendar acciones para reducir el riesgo. Los resultados deben ser una lista que contenga los hallazgos representativos donde se identifican los riesgos del proceso, las desviaciones operativas, las causas, las consecuencias, las salvaguardas y las recomendaciones³.

Los objetivos del hazop son los siguientes⁴:

- 1.- Detectar riesgos, sus orígenes, sus consecuencias y sus remedios mediante análisis, cualitativo pero sistemático y escrupuloso (si se hace bien), que considera el meollo del proceso que son las desviaciones de sus variables.
- 2.- Facilitar, al discernimiento de los analistas, decidir cuáles de éstos deben ser objeto de análisis más afinado mediante métodos más detallados y/o cuantitativos.

En un sitio de trabajo donde se cuente con más de diez trabajadores, los Empleadores están obligados a realizar las gestiones pertinentes para la prevención de riesgos ocupacionales, operacionales, ambientales y de procesos, además de velar por la salud, seguridad e higiene del personal laboral; hecho que se ampara en el código de trabajo⁵.

La técnica del hazop es el método disponible de análisis de riesgos más riguroso, pero no puede proporcionar la seguridad completa de que todos los riesgos han sido identificados ya que el resultado del estudio depende fundamentalmente del desempeño del equipo. El hazop es un trabajo de equipo y el éxito o fracaso del mismo es de todo el equipo⁶.

Los cambios a la metodología hazop plantean un gran inconveniente; y es que pone en duda la rigurosidad del estudio en sí; queda a criterio del moderador y su análisis previo el cómo dividir los nodos y cuales desviaciones son las más importantes para llevar al equipo multidisciplinario, pudiendo pasar por alto de manera involuntaria desviaciones que potencialmente podrían ser importantes o incluso críticas⁷.

Con el fin de conocer la aplicación de la metodología de Hazop en la industria, un análisis de los riesgos asociados en los procesos de producción de acetileno se desarrolló en la empresa AGA S.A.⁸, donde deben contar con sistemas de seguridad, salud e higiene ocupacional que permitan la óptima protección de la salud de los trabajadores, contra riesgos de naturaleza física, química, mecánica, eléctrica, ergonómica y ambiental, debido a que en las plantas de acetileno de baja y alta densidad son instalaciones que por su naturaleza de sus procesos incluyen muchos puntos vulnerables a la

presencia de riesgos de fuga, incendio, explosión y dispersión tóxica, siendo los eventos que agravan estos riesgos en la planta las variaciones de operación de los equipos y procedimientos que pueden originar una alteración en el funcionamiento del proceso.

La empresa AGA S.A. requiere de un sistema que garantice el cumplimiento de las desviaciones encontradas fuera del estándar internacionales como de los aplicados internamente para incrementar la protección de los trabajadores y optimizar los procesos en el área de manufactura de acetileno, para lo cual se describen los principales indicadores de gestión del Sistema de Seguridad y Salud Ocupacional de la compañía, a través del análisis de los riesgos de la planta de acetileno, utilizando como técnicas, el panorama de riesgos, el método de William Fine, el método Hazop, la Norma ISO 9001: 2008, reporte de accidentes e incidentes de la planta y el *check list* para auditar riesgo de incendio en la planta de acetileno y el Método simplificado de evaluación de riesgo de incendio Meseri.

Después de haber analizado los principales riesgos de la planta de acetileno, se identifican las causas y consecuencias del problema referido al sistema de salud y seguridad ocupacional de la empresa, utilizando las técnicas de diagnóstico mencionadas anteriormente, más los diagramas de Ishikawa y Pareto.

Una vez que se ha llevado a cabo el diagnóstico de la situación actual de la planta de acetileno, se elabora la propuesta la cual consiste en considerar el cumplimiento de las distintas auditorías realizadas en la planta de acetileno, para mejorar las condiciones de protección de los trabajadores ante los riesgos de seguridad y salud de toda la empresa y las zonas aledañas.

A partir del diagnóstico los principales factores de riesgo laborales en la planta de acetileno, son riesgo de incendio y de contaminación con gas acetileno por la manipulación inadecuada de los cilindros y equipos que corresponden a los tipos eléctrico, químico y mecánico, los cuales pueden ocasionar conatos, afectar a la salud de los empleados en las vías respiratorias y piel, así como golpes y caídas, lesiones graves e incluso la muerte, si están fuera de control.

La aplicación de la técnica Hazop permitió identificar 32 nodos a partir de lo cual se recomiendan 273 acciones para disminuir los riesgos a niveles aceptables.

La propuesta para la compañía, consiste en el análisis de riesgos en los procesos de producción del acetileno y propuesta de elaboración de un manual de procedimientos, para controlar los riesgos laborales de mayor incidencia, el cual incluirá medidas de seguridad para la formación, capacitación y motivación del talento humano, además del control del uso de los equipos de protección personal y la adquisición de detectores de flama, de fugas de acetileno y manómetros, para mantener controlados los riesgos en la planta y prevenir adecuadamente los accidentes de trabajo y las enfermedades ocupacionales.

Esta investigación permite analizar los riesgos en planta no solamente mediante la técnica hazop, sino que permite la localización y priorización de los riesgos mediante otras técnicas para evaluación de riesgos. También se apoya en herramientas de sistemas de gestión a fin de diagnosticar las causas y efectos de los problemas y la evaluación económica para la aplicación de medidas propuestas de seguridad, salud e higiene del trabajo para el control óptimo de los riesgos en la planta de acetileno, lo cual sirve de referencia para el análisis de riesgos en fábricas de menor complejidad.

En un diagnóstico y evaluación ocupacional de un laboratorio farmacéutico⁹, donde no se contaba con ningún sistema de análisis de riesgos o de seguridad ocupacional y se realizó una evaluación de la situación actual del laboratorio. Se revisaron los registros históricos de accidentes en el laboratorio. Posteriormente, se realizó una evaluación de la situación actual del laboratorio. Esta tarea gozó de buena aceptación por parte de los directivos, quienes manifestaron su interés por conocer el estado de su empresa en cuanto a instalaciones, equipo de protección personal (EPP), atención a emergencias y salud ocupacional.

Se desarrollaron cuatro cuestionarios, los cuales abarcaron los temas de interés, además de otros propios del área de almacén. Tales cuestionarios coadyuvaron en precisar un diagnóstico de la situación actual de la empresa. Se evaluaron las respuestas. Con ellas se hicieron las debidas correspondencias con los datos históricos de los accidentes. Por último, se realizaron las recomendaciones pertinentes con el fin de evitar accidentes posteriores.

Esta investigación proporciona información relevante, ya que se presenta una situación similar a la presentada en la fábrica para procesamiento de sábila, con lo que la forma de abordaje de la situación del laboratorio puede servir como referencia a la hora de diagnosticar la situación de los procesos de la fábrica. También aporta aspectos teóricos como los métodos de análisis de riesgos (OWAS, Hazop, métodos probabilísticos, método de la EPA, método encuesta-auditoría. También describe la metodología para los análisis de riesgos, así como los lineamientos para la elaboración de un manual de riesgos.

Un estudio de riesgos y operatividad hazop que se realizó para la unidad de regeneración de aminas (ARU) a ser construida en un complejo petroquímico y refinador en la provincia de Manabí, Ecuador¹⁰. Para lo cual se revisaron los diagramas de instrumentación y proceso (P&IDs), se procedió a categorizar cada escenario del proceso usando la matriz de riesgos que la empresa posee dentro del Sistema de Riesgos. En esta etapa no se consideran las salvaguardas existentes y futuros escenarios para reducir riesgos. En este análisis se hicieron un total de 14 recomendaciones y 14 parking lot dando un total de 28 puntos de acción para esta unidad. Con este análisis se conocen las causas y las consecuencias de un fallo en un sistema y es más sencillo evitarlo, y poder introducir las salvaguardas adecuadas para prevenir este fallo. Estas salvaguardas deben ser apropiadas al riesgo existente y

deben permitir alcanzar a su vez altos niveles de disponibilidad de la planta. Las recomendaciones fueron hechas con la intención de prevenir causas o mitigar consecuencias, proponiendo la implementación de medidas de reducción de riesgos suficientes y adecuadas al proceso

Esta investigación permite tomar en detalle aspectos propios de la técnica hazop y su metodología, así como el uso de la matriz de riesgos y la forma de realizar recomendaciones a partir del análisis realizado.

Estas investigaciones permiten servir como un punto de apoyo a este trabajo de investigación ya que en existen investigaciones sobre análisis hazop en plantas de alimentos a ase de sábila, teniendo en cuenta que son trabajos aplicados a plantas de mayor complejidad, donde los procesos se dan en condiciones extremas y que representan mayor peligrosidad. Por otra parte, se debe tener en cuenta que los análisis de riesgos no limitan su aplicación a pequeñas o grandes plantas o fábricas, como es el caso de la planta para el procesamiento de sábila, aun cuando la magnitud de los riesgos que afectan al proceso no es grave, si son importantes determinarlos, pues de ellos depende la calidad del producto, teniendo en cuenta que es un producto alimenticio¹¹.

Para llevar a cabo el procesamiento de sábila, la planta procesadora cuenta con una serie de equipamientos que van desde el área de procesamiento de la materia prima, procesamiento primario, líneas de proceso principales (gel de sábila, trocitos de gel, jugos), secado de restos de corteza, pasando por el área de mezcla y envasado, área de fabricación de envases e instalaciones de servicios auxiliares. Muchos de estos procesos involucran operaciones de escaldado, tratamientos con vapor, esterilización, tratamientos UHT, que involucran equipos que conllevan a situaciones de riesgo ya que existen condiciones de operación críticas como altas temperaturas, altas presiones, riesgos eléctricos, manejo de combustibles, donde la planta no tiene documentada, revisada ni actualizada la identificación de riesgos y problemas operativos en los procesos que realizan.

Por otra parte, para poder cumplir con las certificaciones y permisos reglamentarios establecidos en las normativas venezolanas, se requiere una información detallada de los aspectos relativos a la ingeniería de riesgo, a fin de dar cumplimiento y resguardar la integridad de todo el personal que labora en la fábrica.

El propósito de este trabajo es desarrollar un análisis de riesgos operacionales Hazop, (*de HAZard and OPerability analysis*) de los procesos de una planta procesadora de sábila, a fin de analizar sistemáticamente las causas y las consecuencias de las desviaciones de las variables de los procesos de la fábrica y controlar los riesgos operacionales que puedan afectar a las personas, a la comunidad, a los bienes físicos y al medio ambiente.

Materiales y métodos

Se conformó un equipo multidisciplinario de análisis integrado por 7 ingenieros, con experiencia en la operación del sistema y de los equipos, experiencia en la inspección y manutención de equipos, conocimiento de la química del proceso, conocimiento de los objetivos de la seguridad (SIAHO), y experiencia y conocimiento en la técnica hazop (ingeniero de riesgo CRP-PDVSA), y recopilada la información que se utilizó durante el análisis (diagramas de flujo del proceso DFP, procedimientos operativos, procedimientos de emergencia, planos de planta), se procedió a la aplicación de la técnica Hazop.

Se realizaron entrevistas no estructuradas al personal que labora en la planta para conocer detalladamente los procesos realizados y las condiciones bajo las cuales son realizados.

Mediante sesiones de grupo, se aplicaron los principios de la técnica hazop y la información recabada se registró en matrices de riesgo y hojas de registros de resultados hazop y tablas diseñadas según las normas del manual de seguridad industrial¹².

La metodología empleada para realizar el análisis hazop en la planta procesadora de sábila se resume en la figura 1.

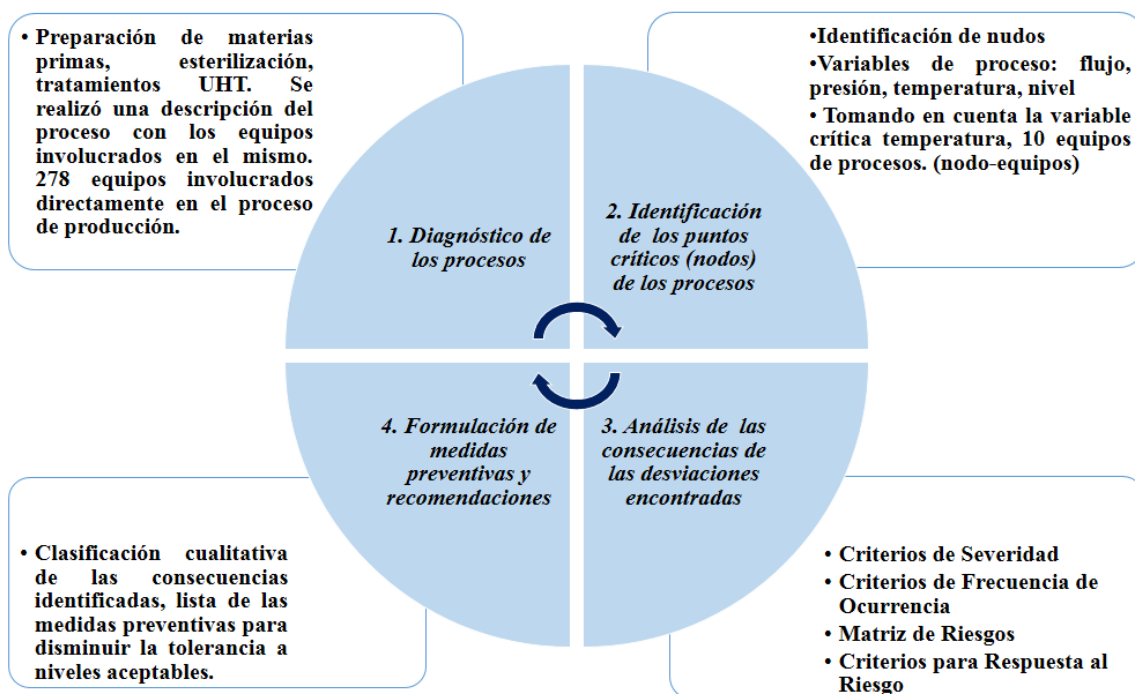


Figura 1. Metodología para el análisis de Hazop en la planta procesadora de sábila

Fuente: Elaboración propia.

El equipo fija las desviaciones que se consideran necesarias para a aplicación del estudio de Hazop, utilizando las palabras clave que aplican en los procesos, tal como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Desviaciones consideradas.

Ítem	Desviación

1	Alto flujo
2	Bajo/No Flujo
3	Flujo reverso
4	Alta Temperatura
5	Baja Temperatura
6	Alta Presión
7	Baja Presión
8	Alto Nivel
9	Bajo Nivel

Posteriormente al diagnóstico de los procesos e identificación de los nodos, se presentan los criterios de severidad, criterios de frecuencia de ocurrencia, que permiten establecer los niveles de riesgo en cada nodo definido. Esta información se obtiene de las normas de la industria petrolera venezolana ¹².

Tabla 2. Criterios de Severidad¹².

Posible severidad potencial					
	Comunidad	Personas	Pérdidas oportunidad y Activos Costo total en USD	Ambiente	Imagen
	C	P	PO	A	I
1	Olores o ruidos molestos.	Primeros Auxilios o asistencia médica	Breve interrupción a la operación. Perdidas de oportunidad y daños. <\$500 M	Afectación Leve sin amenaza ambiental	–Demanda de un tercero por < \$ 10M – \$100M –Cobertura mediática local, quejas telefónicas de la comunidad

2	Lesiones menores o Efectos reversibles a la salud	Lesión con tratamiento médico, sin tiempo perdido (TR)	Parada de planta menor a 1 semana. Pérdidas de oportunidad y daños \$500 M < \$ 1 MM	Contaminación dentro del límite de batería que puede causar daño ambiental	- Demanda de un tercero por \$ 100 M – \$500 M – Campaña mediática adversa extensiva e ámbito regional
3	Múltiples lesiones o daños moderados a la salud	Múltiples lesiones serias o discapacidad temporal (TP)	Parada de planta entre 1 y 2 semanas. Pérdidas de oportunidad y daños \$1 MM < \$ 5MM	Contaminación inmediata fuera del límite de batería	- Demanda de un tercero por \$ 500 M – \$5 MM – Campaña mediática adversa extensiva e ámbito nacional
4	Al menos una fatalidad o discapacidad total permanente	Al menos una fatalidad o discapacidad total permanente	Parada de planta entre 2 y 4 semanas. Pérdidas de oportunidad y daños \$ 5 MM <\$ 50MM	Fuga masiva de contaminantes, Daño ambiental significativo a largo plazo	- Demanda múltiples de terceros que totalizan \$5 MM –\$50 MM – Campaña mediática adversa extensiva en ámbito

					nacional e internacional.
					–
					Investigación gubernamental
5	Múltiples Fatalidades o Daños irreversibles a la salud.	Múltiples fatalidades	Parada de planta mayor a 4 semanas. Pérdidas de oportunidad y daños > \$50 MM	Daño ambiental a gran escala, irreversible	–Gerente o Supervisor privado de libertad – Demanda múltiples de terceros que totalizan > \$ 5 MM

Tabla 3. Criterios de Frecuencia de Ocurrencia¹².

Categoría	Frecuencia anual	Capas de Protección y su Relación con la Frecuencia.
Valor	Descripción	
A	Improbable -Baja probabilidad de que el escenario de riesgos ocurra. -1 cada 100 años	Se cuenta con cuatro o más capas de protección independiente y altamente confiable. La falla de tres capas no debería ser el iniciador de un evento no deseado
B	Remoto Puede ocurrir una vez en los próximos 30 años.	Se cuenta con tres capas de protección independiente y altamente confiable. La falla de dos capas no debería ser el iniciador de un evento no deseado.
C	Probable – Probablemente puede ocurrir (más de una vez en los próximos 10 años).	-Se cuenta con una historia de ocurrencia en la industria y con consecuencias asociadas. Se cuenta con dos capas de protección independiente y altamente confiable. La falla de una capa no debería ser el iniciador de un evento no deseado.

D	Ocasional	<ul style="list-style-type: none"> – Alta probabilidad (más de una vez en el próximo año). – Ha ocurrido durante los últimos 2 años. 	Para prevenir eventos no deseados se cuenta con una sola capa de protección independiente y la acción del operador.
E	Cierto	<ul style="list-style-type: none"> – Muy alta probabilidad (más de una vez por mes). – Ha ocurrido al menos tres veces durante los últimos 12 meses. 	Para prevenir eventos no deseados solo se tiene procedimientos operacionales y la acción del operador.

Una vez establecido los niveles de riesgo, para el establecimiento de las medidas preventivas, se tienen los criterios descritos en la tabla 4.

Tabla 4. Criterios para respuesta al riesgo¹².

Categoría	Nivel riesgo	Resolución	Descripción
5	Intolerable	Requiere inmediata acción	Medidas para reducir el riesgo a un nivel tolerable son mandatorias y se requiere realizar a ACR.
4	Alto	Requiere acción	Reducir el riesgo a un nivel tolerable. Las recomendaciones se deben cumplir en un lapso tiempo determinado no mayor a un año, no obstante, se requieren tomar medidas temporales para controlar el riesgo. Se requiere realizar un análisis de consecuencias para definir tipo de estudio.
3	Reducible (Zona ALARP)	Requiere acción	Las recomendaciones individuales o combinación de ellas deben evaluarse mediante la aplicación de un Análisis Costo - Beneficio-Riesgo. Se deben cumplir en un lapso tiempo determinado no mayor a dos años, no obstante, se requieren tomar medidas temporales para controlar el riesgo.
2	Bajo	Acción a discreción del equipo	Las recomendaciones individuales o combinación de ellas deben evaluarse

mediante la aplicación de un Análisis Costo - Beneficio.			
1	Insignificante	No acción	-

Diseño del análisis de riesgos operacionales (Hazop) de los procesos de la planta procesadora de sábila.

Premisas del estudio

Las condicionantes con las que se estuvo de acuerdo y realizó esta identificación de peligros son las siguientes:

- Incendio.
- Daños a personal
- Daños a equipos.
- Pérdida de producción.
- Parada de plantas.
- Paro de proceso.
- Explosión.
- Los sistemas funcionan bien, cuando operan de acuerdo con la intención del diseño.
- Los sistemas funcionan bien, cuando son bien mantenidos en acuerdo a la frecuencia establecida por el mantenedor.
- Los riesgos y problemas de operatividad se generan de las desviaciones a la intención de diseño.
- Se asume que el sistema será operado dentro de los límites de seguridad y de no alarma.
- Se cuenta con operadores capacitados.
- Los procedimientos escritos son adecuados.
- Se cumplen las políticas y normas de la empresa.

Información de seguridad de los procesos

La información de seguridad de los procesos consta de tres aspectos: (1) la química, (2) la tecnología y el (3) equipo del proceso. Para cada uno de estos aspectos existen requerimientos específicos de información que fueron cumplidos para que el análisis sea válido. A continuación, se describen los requerimientos específicos de información revisados para cada uno de estos aspectos.

La aplicación de la metodología Hazop se realizó con apoyo de los diagramas de tuberías e instrumentación, diagramas de flujo de proceso, experiencia de los participantes y los procedimientos operacionales de la unidad.

Documentación del Hazop

Es importante documentar el análisis para apoyar las buenas decisiones de riesgo, para preservar los resultados del análisis para su uso futuro (en revalidaciones) como evidencia de que el estudio se realizó de acuerdo a buenas prácticas y para apoyar otras actividades relacionadas con la administración de riesgos (como la elaboración de procedimientos operativos, la administración del cambio, la investigación de incidentes).

Los resultados del análisis Hazop se presentan normalmente en forma de tablas. Una tabla de formato normal contiene seis columnas: número de ítem, desviaciones, causas, consecuencias, salvaguardas y recomendaciones. En este caso se añadieron las columnas correspondientes a la matriz de riesgo empleada para así presentar la información de forma completa¹³.

Resultados

La planta procesadora de sábila comprende las unidades productivas tal como se muestran en la figura 2.



Figura 2. Unidades productivas de la planta procesadora de sábila.

Los principales procesos involucran el equipamiento como se muestra en la figura 3.

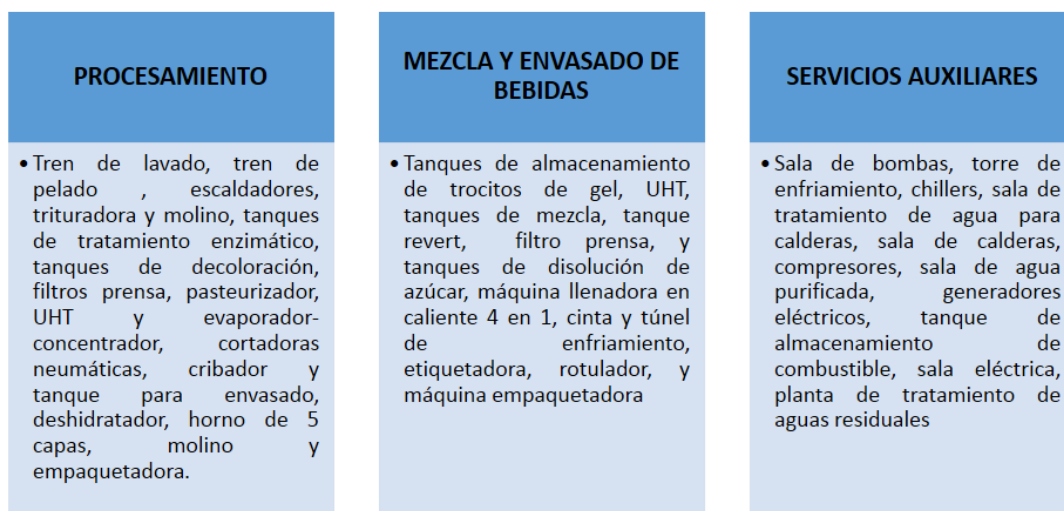


Figura 3. Principales procesos de producción de gel de sábila con el equipamiento industrial.

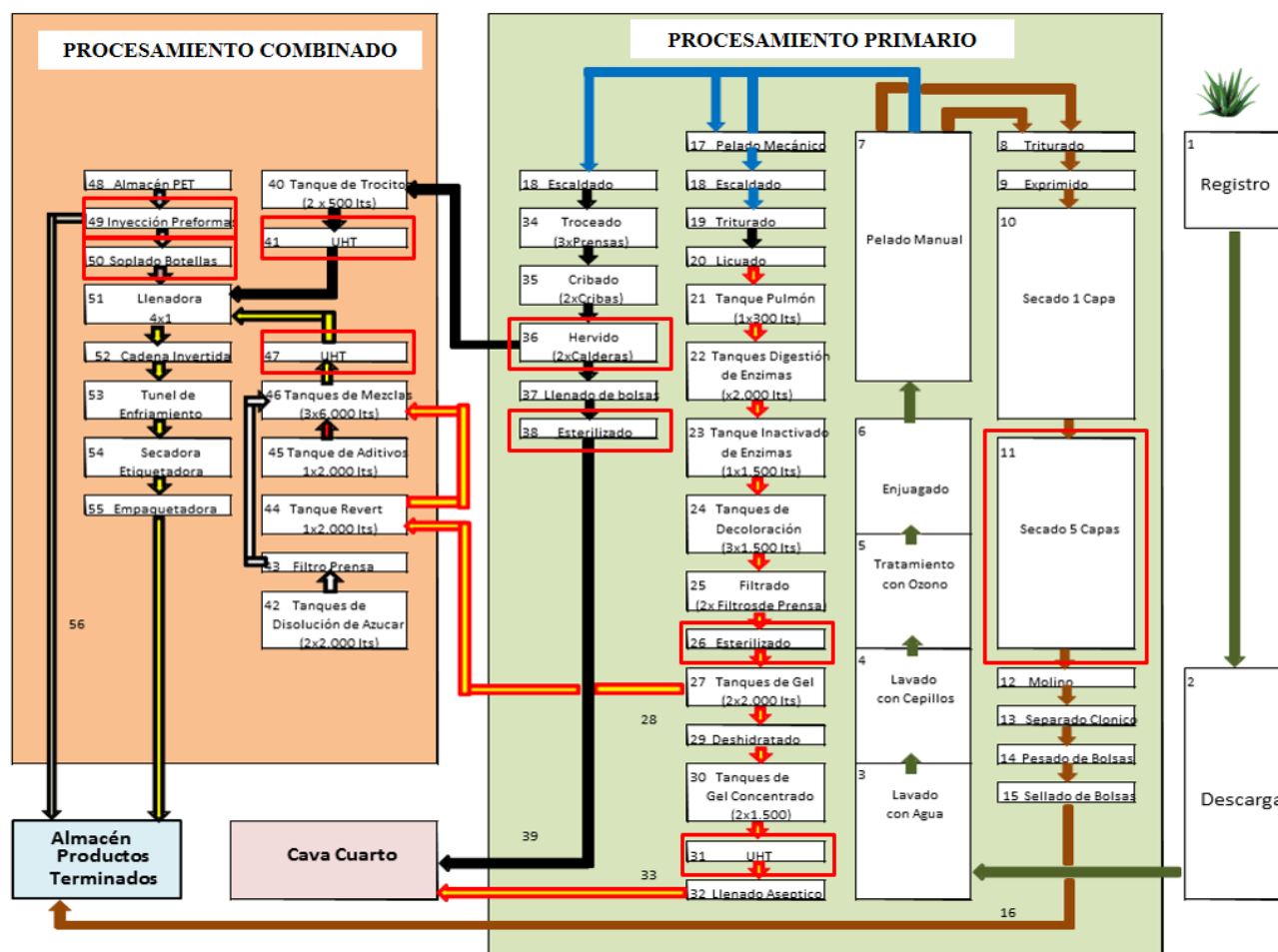


Figura 4. Diagrama de flujo de la procesadora de sábila.

La figura 4 muestra la secuencia de etapas en el procesamiento de sábila para las principales líneas de producción, se indican las operaciones requeridas para transformar las pencas de sábila en los productos terminados. Se resaltan los 10 equipos de proceso que a su vez constituyen los nodos de

proceso y que permiten la aplicación de la técnica de hazop, analizando las desviaciones en cada nodo definido.

Equipos críticos identificados en la planta procesadora de sábila

A partir del diagnóstico y las condiciones de operación analizadas, mediante una sesión de grupo, se fija la temperatura como variable crítica debido a que es la que presenta variaciones significativas en todos los procesos y a partir de esto, se identifican los equipos que operan a temperaturas sobre los 50 °C ya que a partir de esta temperatura se producen quemaduras profundas¹⁴, donde se establecen los siguientes equipos críticos, tomando como patrón tres parámetros, (si la falla es del equipo: detiene la planta en un 100%, si puede causar más de una fatalidad y si ocasiona daño al medio ambiente). Los equipos que cumplieron con por lo menos uno de los parámetros consideraron de alto impacto o críticos. Siendo estos: caldera pirotubular 1, caldera pirotubular 2, horno secador de cinturón de 5 capas, maquinaria de esterilización de tipo plato, hervidor de esterilización (autoclave), maquinaria esterilización UHT de jugo concentrado, máquina de esterilización de jugo de sábila UHT, máquina de esterilización de trocitos de sábila UHT, máquina sistemática de inyección plástica y el soplador-organizador de botellas, los mismos se muestran en la figura 4.

El porcentaje de equipos críticos del área de producción de la planta es de 3,7%, lo cual representa diez equipos de un total de doscientos setenta y ocho (278) equipos pertenecientes al área de operaciones de procesamiento de sábila. De estos equipos críticos el 100% cumple con el criterio de fatalidad y 50% con el criterio de continuidad operativa.

Tabla 5. Listado de secciones o nodos de estudio.

Nodo	Intención general del nodo	Temperatura de operación	Presión de operación
1.- AC CD 01 Caldera Pirotubular 1	Generar vapor para las áreas de procesamiento.	175 °C	827.371- 999.74 kPa
2.- AC CD 02 Caldera Pirotubular 2	Generar vapor para las áreas de procesamiento.	175 °C	827.371- 999.74 kPa
3.- 010507 Horno secador de cinturón de 5 capas	Secado de residuo de concha de penca de sábila	90 °C	-
4.-010217 Maquinaria de esterilización de tipo plato	Concentrar gel de sábila	90 °C	-

5.- 010314 Hervidor de esterilización (autoclave)	Esterilizar trocitos de sábila	121 °C	2999.22 kPa
6.-010223 Maquinaria esterilización UHT de jugo concentrado	Esterilizar gel de sábila	132 °C	-
7.- 020501 Máquina de esterilización de jugo de sábila UHT	Esterilizar jugo con gel de sábila	132 °C	-
8.- 020502 Máquina de esterilización de trocitos de sábila UHT	Esterilizar trocitos de sábila	132 °C	-
9.- 020701 Máquina sistemática de inyección plástica	Elaborar preformas de PET	285 °C	917002.72 kPa
10.- 020703 Soplador-organizador de botellas	Fabricar botellas de PET	120 °C	344.738 kPa

Resultados del Hazop

Los resultados del análisis Hazop consisten en una lista de recomendaciones o en un informe completo que describe todas las desviaciones del proceso examinadas.

Tabla 6. Resultados de hazop nodo: 1.- Caldera Piro-tubular 1, Planos: 09176D-B04-03, Equipos involucrados: AC CD 01, Desviación: 1. Alto flujo (combustible a la caldera).

Posibles causas	P ¹	Posibles consecuencias	S ²	N ³	Protección	Protecciones	Protecciones	P	S	N	Recomendaciones	Responsabilidad
					Control y Contención	Preventivas	Mitigación					
1. Fuga / rotura	C	1.1. emanaciones de	5	5	1.1.1. Drenaje	1.1.1. Alarma y	1.1.1. Sistema fijo	B	4	3	1. Realizar procedimientos de	Superviso r sala de calderas

¹ Posible severidad potencial,

² Severidad

³ Nivel de riesgo

en acceso rios, bridas, válvul as en línea de entrad a de combu stible del quemador	humo y gases tóxicos con fatalidad es y personas lesionad as			fuera de la caldera . . 106~ 07por bajo Flujo.	disparo de la P04C0 . 106~ 07por bajo Flujo.	contra incendio . 1.1.2. Procedi miento operacio nal/ emergen cia.			emergenci as en sala de calderas	
C	1.2. Formaci ón de una piscina de fuego con posibilid ad de un pool fire.	5 5 P	5	1.1.2. Drenaj e y pendie nte hacia un lugar fuera del área de la caldera .	1.1.1. Alarma y disparo de la P04C0 106~ 07por bajo Flujo.	1.2.1. Sistema fijo contra incendio . .	B	3 3 P O	3 3 2. Revisar y/o actualizar los planes de emergenci a para eventos mayores en el cual se vea afectada la comunidad . 3. Incorporar la formación	Superviso r de SHIAO

de personal en situaciones de emergencia. 4. Evaluar la factibilidad de instalar un sistema de rociadores que proteja la AC CD 01 activado a través de un sistema de detección de fuego.

Tabla 7. Resultados de hazop Nodo 1: Caldera Piro tubular. Nodo: 1.- Caldera Piro tubular 1, Planos: 09176D-B04-03, Equipos involucrados: AC CD 01, Desviación: 4. Alta Temperatura, Intención de Diseño Parámetro: 193 °C.

Posibles causas	P	Posibles consecuencias	S	N	Protección Control y	Protección Preventivas	Protección Mitigación	P	S	N	Recomendaciones	Responsabilidad

Contenci

ón

1. Incrustaciones en la tubería	C 1.1 Rotura de las tuberías 1.2 Parada de planta	3 3 P O	3	1.1.1 Para da De mantenim iento general cada 4 años.	1.1.1. Capacit ación persona l	1.1.1. Procedi miento operacio nal	C 1 P O	2	5. Incorporar el plan de mantenim ento preventivo la caldera AC CD 01	Supervisor sala de calderas
2. Falla en el sensor de temperatura a la salida de la chimenea	C 2.1 Explosión 2.2 Múltiples fatalidades	5 5 P	5	2.1.1. Plan de Mantenim iento instrumen tación.	2.1.1. Capacit ación Persona l.	2.1.1. Procedi miento Operaci onal. 2.1.2. Procedi miento operacio nal/emergen cia.	C 1 P O	2	6. Incluir en el planeamien to previo el escenario de explosión en la caldera AC CD 01 7. Incluir plan de formación para los operadores de calderas. 8. Incluir un stock de repuestos asociado al	Coordinad or de SHIAO

sistema de control de temperatura.

Tabla 8. Resultados del hazop Nodo: 3.- Horno secador de cinturón de 5 capas, Planos: 09176D-P01-02, Equipos involucrados: 010507, Desviación: 6. Alta Presión (vapor a las válvulas), Intención de Diseño Parámetro: 1 MPa.

Posibles causas	P	Posibles consecuencias	S	N	Protección y Contención	Protecciones Preventivas	Protecciones Mitigación	P	S	N	Recomendaciones	Responsabilidad
1. Fuga / rotura en accesorios, bridas, válvulas de vapor al horno.	C	1.1. Sobrepresión en la línea, Fuga de vapor. Posibles daños mecánicos en la línea por expansión térmica.	4	4	1.1.1. Capacidad personal	1.1.1. Mantenimiento preventivo de las válvulas de vapor.	1.1.1. Procedimiento Operacional	D	1	2	19. Evaluar la factibilidad de instalar un sistema de seguridad en las válvulas de vapor del horno. 20. Identificar las válvulas de vapor y colocar	Gerente de Operaciones

avisos y
 precintos
 de
 seguridad
 en las
 mismas

Tabla 9. Principales recomendaciones, responsables y nivel de riesgo (NR) asociado.

Recomendación	Usada en*	Responsabilidad	NR
1. Realizar procedimientos de emergencias en sala de calderas	Posibles causas: 1.1.1, 2.1.1	Supervisor sala de calderas	3
2. Revisar y/o actualizar los planes de emergencia para eventos mayores en el cual se vea afectada la comunidad.	Posibles causas: 1.1.1, 2.1.1	Supervisor de SHIAO (Seguridad Industrial, Ambiente e Higiene Ocupacional)	3
3. Incorporar la formación de personal en situaciones de emergencia.	Posibles causas: 1.1.1, 2.1.1	Supervisor de SHIAO	3
8. Incluir un stock de repuestos asociado al sistema de control de temperatura.	Posibles causas: 1.4.2, 2.4.2	Gerente de Operaciones	2
9. Evaluar la instalación de un sistema de alarma por alta temperatura a la salida de la chimenea.	Posibles causas: 1.4.2, 2.4.2	Gerente de Operaciones	2
19. Evaluar la factibilidad de instalar un sistema de seguridad en las válvulas de vapor del horno.	Posibles causas: 3.6.1	Gerente de Operaciones	2
20. Identificar las válvulas de vapor y colocar avisos y precintos de seguridad en las mismas.	Posibles causas: 3.6.1	Supervisor de SHIAO	2

Discusión

* Leyenda: 1.1.1: Nodo: 1, Desviación: 1, causas: 1.

De acuerdo a lo mostrado en la tabla 9, producto del análisis desarrollado en el estudio hazop no existen recomendaciones relacionadas con peligros con riesgo intolerable (No aceptable) así como de riesgo alto. Las recomendaciones relacionadas con riesgo reducible (aceptables implementando acciones de control) corresponden al 10 % de las recomendaciones cuya implementación debe justificarse con base en análisis de tipo técnico y de costo-beneficio.

Por otra parte, un 90 % de las recomendaciones corresponden a riesgo bajo, es decir aceptable o tolerable. En principio, para este tipo de riesgo no se requieren implementar medidas de control de riesgo adicionales, sin embargo, se recomienda su evaluación a fin de establecer la conveniencia de su implementación, a fin de contribuir con la operación segura y confiable de las instalaciones y equipos de proceso.

Cabe resaltar que el total de las recomendaciones generadas pueden proveer protecciones adecuadas para las condiciones analizadas, pero ello no implica que las partes responsables de desarrollar los planes de acción finales en la planta procesadora de sábila limiten su planificación a la ejecución y cierre de las acciones propuestas, toda vez que puede considerarse necesario incluir medidas adicionales a las que surgieron durante la ejecución del Hazop.

Se debe tomar en cuenta al factor humano como responsable de algunas de las desviaciones y al factor capacitación como una cuestión a mejorar, ya que es necesario que muchas desviaciones estén asociadas a la falta de capacitación¹⁵.

Es importante que la metodología hazop deba tener un seguimiento, ya que este permite a la organización evaluar el sistema completo y nos ofrece las medidas correctivas que se deban implementar para que el área se encuentre en un excelente estado¹⁶.

Conclusiones

Se determinaron procesos que implican tratamientos con vapor, esterilización, tratamientos UHT, que involucran equipos que conllevan a situaciones de riesgo ya que existen condiciones de operación críticas como altas temperaturas, altas presiones, que pueden provocar accidentes.

Se definieron diez (10) secciones o nodo-equipos de estudio, tomado como variable crítica la temperatura, debido a que es la que presenta variaciones significativas en todos los procesos y es la condición que puede ocasionar accidentes.

Se detectaron peligros asociados a diferentes tipos de riesgo: riesgo intolerable (no aceptable), riesgo alto, riesgo reducible y riesgo bajo.

Se formularon 4 recomendaciones relacionadas con riesgo reducible y corresponden al 10 % del total de las recomendaciones y su implementación requiere un análisis económico para minimizar los costos considerables de inversión en seguridad para la planta procesadora.

Se formularon 37 recomendaciones que corresponden a riesgo bajo, es decir aceptable en la que no se requieren implementar medidas de control de riesgo adicionales. Esto corresponde al 90 % de las del total de las recomendaciones.

La falta de información observada en los diagramas de procesos, impactaron en la aplicación de la metodología, ya que no se dispone de diagramas actualizados ni con información completa que ayuden a la identificación de otros nodos que pudieran ser de importancia, sin embargo, permitieron abordar la técnica de Hazop.

Financiamiento: esta investigación no recibió ninguna subvención específica de organismos de financiación de los sectores público, comercial o sin fines de lucro.

Agradecimientos: los autores agradecen a los ingenieros de riesgo de PDVSA, ingenieros de procesos de la planta procesadora de sábila que aportaron con su conocimiento para la versión final del manuscrito, así como a todo el personal que directa o indirectamente aportó al desarrollo de esta investigación.

Conflictos de interés: los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

1. Gallegos W. Revisión histórica de la salud ocupacional y la seguridad industrial. *Revista Cubana de Salud y Trabajo*. 2024;13(3):45-52. Disponible en: <https://revsaludtrabajo.sld.cu/index.php/revsyt/article/view/600/612>
2. Viña-Rodríguez J, Camejo Giniebra JJ, Castañeda Valdés A. Métodos de estudio más utilizados para el análisis de riesgos de procesos con sustancias peligrosas. *Revista CENIC Ciencias Químicas*. 2021;52(2):138-160. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24422021000200138&lng=es&tlng=es
3. Aguilar K, Sosa S, Cadenas M. Uso de la Metodología HAZOP para el Análisis de Riesgo en Estaciones de Almacenamiento de Combustibles de Aviación. *Artículos del Congreso Internacional de Investigación Academia Journals Celaya, México*. 2021. Disponible en: <https://ciateq.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1020/542/1/Usode%20de%20la%20metodologia%20HAZOP.pdf>
4. Storch de Gracia JM. *Manual de Seguridad Industrial en Plantas Químicas y Petroquímicas. Fundamentos, Evaluación de riesgos y diseño. Volumen I*. Madrid: Mc Graw Hill; 1998.
5. Barros Enriquez JD, Avemañay Morocho AM, Villafuerte Lopez MI, Punina Guerrero DJ, Valencia Rodriguez EG. Análisis e identificación de riesgos de operabilidad en procesos críticos de servicios petroleros, mediante la aplicación de la metodología HAZOP, en la industria

- ecuatoriana. *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades*. **2023**;4(2):3804–3813. <https://doi.org/10.56712/latam.v4i2.871>
6. Buitrago B, Rodríguez L, Herrera E. Diseño del programa de gestión de seguridad de procesos bajo la norma OSHA 29 CFR 1910.119 para químicos altamente peligrosos en la industria de alimentos. *Trabajo de grado de especialización*. Universidad Ecci. Colombia. **2021**. Disponible en:
<https://repositorio.ecci.edu.co/bitstream/handle/001/962/Dise%c3%b1o%20del%20programa%20de%20gesti%c3%b3n%20de%20seguridad%20de%20procesos%20bajo%20la%20norma%20osha%2029%20cfr%201910.119%20para%20qu%c3%admicos%20altamente%20peligrosos%20en%20la%20industria%20de%20alimento.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
7. Arriagada B. *Adaptación de Metodología Hazop en el Estudio Funcional de Sistemas Automáticos, Aplicado a una Empresa de Producción de Alimento para Ganado. Memoria de titulación*. Universidad Técnica Federico Santa María. Valparaíso, Chile. **2020**. Disponible en:
<https://repositorio.usm.cl/server/api/core/bitstreams/a28b31cb-00a5-475d-a12c-b1993bd84853/content>.
8. Arias M. *Análisis de Riesgos en los Procesos de Producción del Acetileno y Propuesta de Elaboración de un Manual de Procedimientos. Tesis de Maestría*. Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. **2014**. Disponible en:
<https://repositorio.ug.edu.ec/server/api/core/bitstreams/e7c5ea8b-22e1-4b51-8594-a6067ddc2881/content>
9. Arreola S. *Diagnóstico y Evaluación Ocupacional de un Laboratorio Farmacéutico: Caso de Estudio. Tesis de Maestría*. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F. **2011**. Disponible en:
<https://repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/15822/1/TESIS%201.pdf>
10. Peñaherrera V. *Análisis Hazop de la unidad regeneradora de aminas. Tesis de Maestría*. Universidad San Francisco de Quito, Ecuador. **2012**. Disponible en:
<https://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/1385>
11. Castillo M. *Evaluación de los riesgos operacionales mediante la metodología HAZOP en la empacadora Coral del Pacífico en la ciudad de Esmeraldas. Tesis de Maestría*. Esmeraldas, Ecuador. **2021**. Disponible en:
<https://repositorio.puce.edu.ec/server/api/core/bitstreams/65a898aa-1cf9-4fa9-9001-30ad2b82dd9d/content>.
12. Petróleos de Venezuela S.A. *Norma SI-S-19. Gestión y control de desviaciones. Manual de Seguridad Industrial. Volumen 1*. Publicación de PDVSA. Venezuela. **2013**.

13. Rodríguez Camacho ML, Navarrete Procopio M, Zezatti Flores V, Ochoa Ortíz A. Desarrollo de un entorno virtual para operar de forma segura el proceso de desorción utilizando el método HAZOP. *Programación matemática Y Software*. **2024**;16(1):1–10.
<https://doi.org/10.30973/progmat/2024.16.1/1>
14. Chirino CN. Algunos aspectos del manejo del paciente quemado en un servicio de cirugía infantil. A propósito de 47 pacientes pediátricos. Ila. Parte. *Revista Argentina de Dermatología*. **2023**;104. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/img/revistas/rad/v89n3/html/v89n3a05.htm>
15. Pinheiro DF, Martins H dos S. Aplicación de la técnica HazOp como herramienta de gestión de riesgos en una distribuidora de bebidas. *Investigación, Sociedad y Desarrollo*. **2020**;9(11):e3349119951. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i11.9951>
16. Almeida C. "Diseño de un procedimiento de actuación en caso de fuga de amoníaco en una planta cervecera industrial". *Trabajo de fin de carrera*. Universidad Internacional SEK. Quito, Ecuador. **2021**. Disponible en: <https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/4117/1/Almeida%20Valencia%20Carlos%20Enrique.pdf>.

/ **Received:** 14 May 2024 | **Accepted:** 06 June 2024 | **Published:** 15 June 2024 |

Citation: Acacio-Chirino N, Cancino-Camperos J. Análisis de riesgos operacionales en una planta procesadora de sábila. *Bionatura*. **2024**;9(2). DOI: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.5>

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>.




All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

6 Development of an instant drink rich in polyphenols from the flower of the majagua (*Talipariti elatum*).

*Desarrollo de una bebida instantánea rica en polifenoles a partir de la flor de la majagua (*Talipariti elatum*).*

Dairon Iglesias Guevara ¹; Danae Pérez Santana ²/*; Alicia Casariego Año ³.

^{1;2;3} Department of Foods, Institute of Pharmacy and Foods,
University of Havana, Havana, Cuba

*Correspondence: danayprez@gmail.com

DOI: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.6>

Abstract

The aim of this research was to develop a drink powder enriched with a concentrated extract of majagua flowers (*Talipariti elatum*). An experimental design was carried out using the numerical optimization method with an I-Optimal response surface design to generate a model mathematician who described the alterations of the response variables while considering the conditions of the process. Using the co-crystallization method, a dry granular material was obtained in a matrix of sucrose. The powder systems were characterized regarding the variables: humidity, total polyphenol content, cohesiveness, and acceptability; A sensory analysis was also carried out during the preparation of the system instant. The best responses were obtained for an extract value of 6.4% and estimated values of 1.85% humidity; 69.23 mg AGE/100 g; with a cohesiveness acceptable and a statistical convenience of 61%. The obtained powder was characterized by homogeneity, adequate fluidity, and high solubility capacity in watery systems. For the sensory evaluation, the most important descriptors were smell and taste. The ready-made system obtained excellent quality and sweet taste; it turned out to be light but pleasant to the palate, receiving a rating of “I like it” from some consumers.

Keywords. Instant beverage co-crystallization in sucrose; majagua flowers; polyphenols.

Resumen

El objetivo de esta investigación fue desarrollar una bebida en polvo enriquecida con un extracto concentrado de flores de majagua (*Talipariti elatum*). Se llevó a cabo un diseño experimental utilizando el método de optimización numérica con un diseño de superficie de respuesta I-Optimal

para generar un modelo matemático que describiera las alteraciones de las variables de respuesta considerando las condiciones del proceso. Utilizando el método de co-cristalización, se obtuvo un material granular seco en una matriz de sacarosa. Los sistemas en polvo se caracterizaron en cuanto a las variables de humedad, contenido total de polifenoles, cohesividad y aceptabilidad; también se realizó un análisis sensorial durante la preparación del sistema instantáneo. Las mejores respuestas se obtuvieron para un valor de extracto del 6.4% y valores estimados de 1.85% de humedad; 69.23 mg AGE/100 g; con una cohesividad aceptable y una conveniencia estadística del 61%. El polvo obtenido se caracterizó por su homogeneidad, adecuada fluidez y alta capacidad de solubilidad en sistemas acuosos. En la evaluación sensorial, los descriptores más importantes fueron el olor y el sabor. El sistema listo para consumir obtuvo una excelente calidad y un sabor dulce; resultó ser ligero pero agradable al paladar, recibiendo una calificación de "me gusta" por parte de algunos consumidores.

Palabras clave. Bebida en polvo instantánea, co-cristalización en sacarosa, flores de majagua, polifenoles.

Introduction

In recent years, a large number of powdered beverages based on plant extracts have emerged, innovative products that set a new trend in the market and have experienced rapid growth over time. Powdered soft drinks or instant beverages are products consumed by both children and adults of all ages. The modern consumer demands products that have excellent organoleptic characteristics, provide health benefits and make up for the possible deficiencies that the current pace of life is causing¹. Plant extracts are a rich and complex source of active ingredients with diverse chemical and physical properties, which makes them a viable alternative for the food industry.

The majagua flower (*Talipariti elatum*) is considered an important source of bioactive compounds such as phytosterols, phenols, organic acids, some of which have antioxidant properties and are considered to have others that are still being studied, always with the vision of improving human health; its phenolic content as gossypetin-3'-O-glucoside and glycosylated derivatives of quercetin have demonstrated their antimicrobial action, neuroprotective and also against cancer².

The co-crystallization method is a microencapsulation process where two ingredients are incorporated into a porous conglomerate of sucrose microcrystals formed by spontaneous crystallization. It is a flexible and economical alternative, since it is a simple procedure; many products can be encapsulated using this technique, such as fruit juices or pulps, essential oils, flavorings, among others³.

The contribution of polyphenols in food provides great benefits to the health of the organism. Consumption, their effects are fundamentally a consequence of their antioxidant properties. They have vasodilatory effects; they are also capable of improving the lipid profile and attenuating the oxidation of low-density lipoproteins (LDL); they have clear anti-inflammatory effects and in turn are capable of modulating the processes of apoptosis in the vascular endothelium. Other multiple benefits they offer are: improving digestion and brain health, reducing the impact of diseases such as type 2 diabetes and even the appearance of certain types of cancer ⁴.

As additives are highly questioned, soft drinks have become an object of study, since among the ingredients the best known is sugar and not all of them contain it. In soft drinks we can find additives such as colorants, flavorings, clouding agents (to give the appearance of consistency), anti-humectants and anti-caking agents, acidulants, sweeteners and preservatives ¹.

Other important additives to take into account are sweeteners, since they provide the sweet taste to the preparation. The mixtures of these are found in soft drinks and in some cases with sugar to reduce the nutritional value of the beverage. From the nutritional point of view, the calories they provide per serving of consumption correspond to carbohydrates from sugars ¹.

Taking into account this background, the following research hypothesis was proposed: what concentration of majagua flower extract allows obtaining an instant beverage rich in polyphenols with acceptable quality using co-crystallization in sucrose?

In order to respond to the proposed hypothesis, the objective was to develop an instant beverage rich in polyphenols from the majagua flower (*Talipariti elatum*).

Materials and methods

The flowers of majagua (*Talipariti elatum*) used were collected manually, selecting in general those that presented the same characteristics of vegetative state, size, color, absence of spots, cracks and visible morphological alterations by fungi and parasites. The petals were separated from each other and from the pistil in each flower and were frozen at -32 °C until their subsequent use.

Obtaining the extract

Extracts were prepared maintaining a mass/solvent ratio of 1:2, with a 78% hydroalcoholic mixture (acidified with 1% w/v citric acid) and extraction time 12 hours. The maceration was carried out in a sieve at 250 min⁻¹ at room temperature. At the end of the extraction time, the resulting mixture was filtered under vacuum, discarding the solid residue. The hydroalcoholic extract was concentrated in a rotoevaporator Mod. R-114 rotoevaporator (BÜCHI, Switzerland) at 40 °C and 100 min⁻¹ until a concentration of total solids between 10 and 11% was obtained.

Total solids, pH, and total phenolic content were determined in the extract ⁵.

Experimental design

To determine the maximum concentration of extract to be used in the experimental design of the instant beverage, 4 samples were prepared with different concentrations of concentrated majagua flower extract (0.5, 1, 1.5 and 2 mL per 100 mL of a beverage prepared by adding 150 μ L of strawberry flavoring; 0.4 g of red colorant, 14 g of sucrose and 0.25 g of citric acid). Samples were evaluated using a 10-cm linear scale, structured every 2 cm with increasing intensity categories ⁶ of bitter aftertaste and overall quality with a scale from terrible to excellent according to quality categories ⁷. The panel consisted of 5 trained tasters.

Design Expert 11.1.0.1 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA) was used for the experimental design and processing of the results. The numerical optimization method used was the I-Optimal response surface design, which generated a mathematical model that described the alterations of the response variables taking into account the process conditions. The independent variable was the concentrated extract content (A). The response variables were total phenol content, moisture, cohesiveness and acceptability.

Obtaining powdered drinks

For each experimental run, sucrose syrups were prepared. First, 50 g of sugar was weighed and 17% (w/w) water was added, mixed in a 200 mL beaker in order to obtain a concentrated solution ⁸. It was heated on an electric hotplate until a temperature of 130 °C was reached ⁹, which indicated the degree of supersaturation necessary for spontaneous crystallization to occur upon cooling. At that point, the syrup was removed from heating and the amount of extract specified in Table 1 to which strawberry aroma (14 μ L/g sucrose) and 0.03% (w/w) red color had previously been added was quickly added. Subsequently, the mixture was subjected to constant stirring for 600 min⁻¹ with the aid of a portable mechanical stirrer, equipped with straight metal blades 4 cm in diameter ⁸. The stirring process was stopped when the formation of a granular solid material was observed. The granular material was placed in Petri dishes and then subjected to a drying process at 55 °C in an oven with forced air circulation for 24 hours. After this time, the samples were manually ground and sieved with a 1 mm sieve ³. Finally, the sieved samples were mixed with citric acid (1.78%) and placed in a desiccator until the corresponding analyses were carried out.

For the quantification of total polyphenols, 0.5 g of the powdered beverage was taken and dissolved in 5 mL of distilled water. It was vortexed (IKA 3, Germany) for 3 minutes⁵. Determinations were performed as indicated in the previous section. The results were expressed as mg AGE/100 g of powdered beverage. The % retention was also determined taking into account the polyphenol content added at the beginning of the co-crystallization.

It was determined by indirect gravimetry (volatilization), by drying in a thermobalance (Sartorius Mod, MA-40, Germany) at 120 °C to constant mass, with the purpose of separating the water from the powdered product. The Hausner index measures the flow properties of the powders. Values above 1.25 indicate powders with low flowability; values below 1.25 indicate free-flowing powders¹⁰.

The data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) using the SPSS computer program (IBM SPSS Statistics.25.) and the rank test was used Duncan multiples to compare the differences between the treatments evaluated. The significance level used was $p \leq 0.05$. The data obtained is presented as mean (standard deviation).

Results

Table 1 shows the characterization carried out on the majagua flower extract and afterwards. Having been concentrated in terms of the most important physical and chemical parameters.

Table 1. Physical and chemical indicators of the extract and concentrated extract of flowers of majagua (n = 3).

Indicators	Mean (Standard deviation)	
	Extract	Concentrated Extract
pH	3,67 (0,01)	2,81 (0,02)
Total Solids (%)	4,06 (0,34)	10,81 (0,54)
Total Polyphenol Content (mg AGE/ mL)	3,24 (0,13)	10,26 (0,16)

Figure 1 represents the results obtained to determine the allowable extract levels in the drink according to the evaluation of the tasters using the global intensity and quality scale.

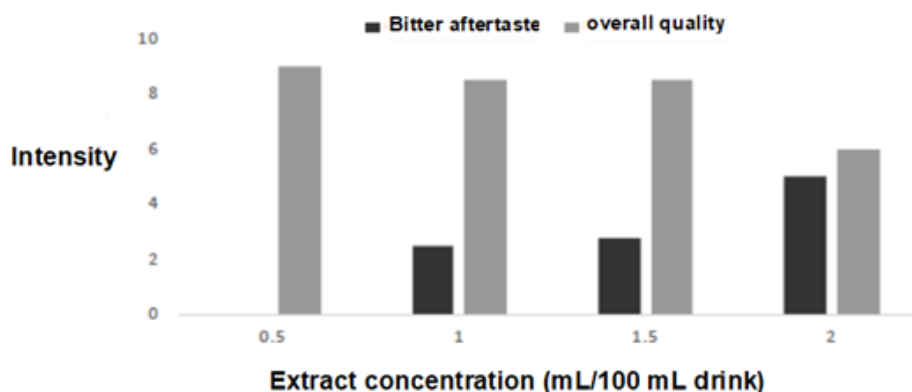


Figure 1. Evaluation of the maximum concentration of extract to be used in the formulation of the drinks.

Table 2 shows the formulations with an extract content higher than 8% (w/w) it was not possible to obtain powdered systems. The consistency obtained reflects the high levels of moisture and amorphous regions in the structures formed. To obtain a powdered product after drying, a granular consistency with a dry appearance must be produced during the co-crystallization process. Moisture increased with increasing extract concentration, being higher than 2 % for concentrations of 8 %. Moisture higher than 2 % caused an increase in the cohesiveness of the powders.

Table 3 shows the significance of the regression analysis of variance for the response variable moisture. It was observed that the linear model was significant at 95.0% confidence level. The R² statistic indicated that the fitted model explained 87.43% of the variability of moisture content in the formulated powders. The lack of fit F-value of 0.29 implies that the lack of fit is not linear for $\alpha=0.05$. As shown in Figure 2, the co-crystallization process produced a dry product and only gentle drying at 55 °C was necessary to obtain a powder with free-flowing particles at humidities below 2 %. The equation obtained for the model shows that the average moisture content of all experimental runs is 2.12 % (intercept of the fitted equation).

Table 2. Results obtained for the experimental design matrix.

Experimental runs	Extract (%)	Consistency	Total polyphenol content (%)	Humidity (%)	Cohesiveness HI	Acceptance
		Creamy	-	-	-	-
1		Dry granular	87,42	2,24	1,29 (0,01)	4,96 (0 ,96)
2	12		(1,75) a	(0,20) a	a	a
3	8					
4	4	Dry granular	42,97	1,21	1,18	4,92 (0 ,98)
5	10		(0,96) b	(0,13) d	(0,005) b	a
6	8					
7	6	Creamy				
8	8		-	-	-	-
9	4					
	4	Dry granular	85,87	2,04 (0,22)	1,29 (0,01)	4,81 (0,85)
	8		(2,12) a	ab	a	a
10		Dry granular	63,34	1,92 (0,26)	1,23 (0,008)	3,35 (1,09)
			(0,96) c	b	c	a

		Dry granular	86,65 (1,16) a	2,04 (0,09) ab	1,29 (0,01) a	4,42 (0,90) a
		Dry granular	41,28 (2,55) b	1,44 (0,12) cd	1,19 (0,007) b	4,35 (1,29) a
		Dry granular	43,11 (0,70) b	1,57 (0,11) c	1,20 (0,009) b	4,58 (1,10) a
		Dry granular	86,55 (1,82) a	2,07 (0,37) ab	1,28 (0,01) a	4,58 (1,33) a
11	12	Creamy	-	-	-	-

Table 3. Analysis of variance for the humidity present in the powdered drink.

Factor	F-value	p-value
Model	41,73	0,0007
Extract (A)	41,73	0,0007
Lack of fit	1,37	0,2951
R-squared		0,8743
adjusted R-squared		0,8534

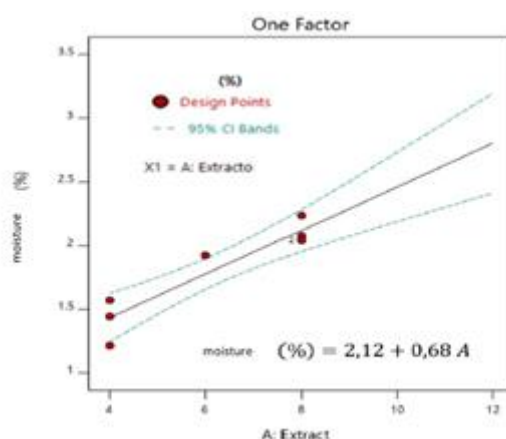


Figure 2. Estimated response surface for the humidity variable according to the fitted equation.

The total polyphenol content present in the co-crystallized products is closely related to the composition of the extract and the levels incorporated into the sucrose matrix. In this regard, Table 4 shows the significance of the regression analysis of variance for the response variable: polyphenol content.

Table 4. Analysis of variance for the CPT and cohesiveness of the analyzed powders.

Factor	Cohesiveness		Total polyphenol content	
	F-value	p-value	F-value	p-value
Model	480,63	<0,0001	4445,88	<0,0001
Extract (A)	480,63	<0,0001	4445,88	<0,0001
Lack of fit	3,61	0,1160	1,89	0,2272
R-squared	0,9877		0,9987	
adjusted R-squared	0,9856		0,9984	

Figure 3 a, shows the adjusted equation for the cohesivity response variable. On average, the powders obtained were not very cohesive (according to the intercept); an increase in the extract led to a slight increase in cohesivity. The formulated powders presented a high content of polyphenols (Figure 3 b), obtaining an average of 86.49 mg AGE/ 100 g of powdered beverage.

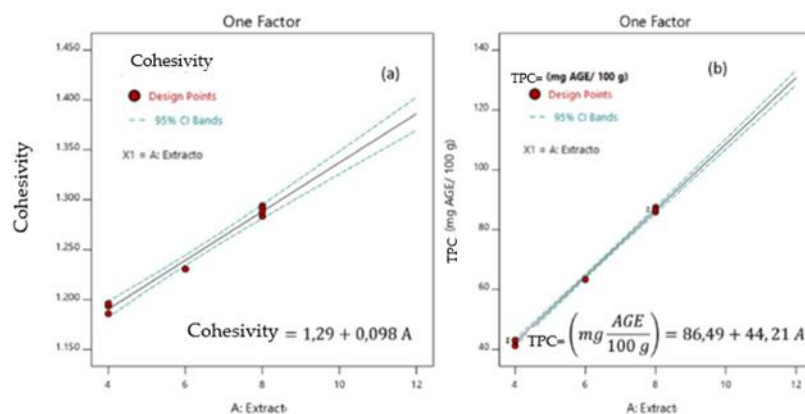


Figure 3. Estimated response surface for the cohesivity (a) and TPC (b) variables according to fitted equations.

For the numerical optimization of the process of obtaining the instant beverage, the intervals shown in Table 5 were used as restrictions. Under these restrictions, an optimum was obtained for an extract concentration of 6.4 % and estimated values of 1.85 % moisture; 69.23 mg AGE / 100 g with an acceptable cohesiveness (1.25) and a statistical convenience of 61 %.

Table 5. Constraints for the optimization of the co-crystallization process.

Parameters	Criteria	Lower limit	Upper limit
Extract (A)	En el rango	6	8
Moisture	En el rango	1,21	2,24

Total Phenol Content (TPC)	Maximizar	41,2762	87,4182
Cohesivity	En el rango	1,18	1,25

Discussion

The values corresponding to all the indicators increased when the concentration process was carried out except for the pH, which decreased, mainly conditioned by the addition of citric acid to the hydroalcoholic mixture. This is a desired value, since anthocyanins are more stable in this pH range (Table 1).

The total solids content provides relative information on the amount of non-volatile constituents present in the extract. The percentage (unconcentrated extract) corresponded to that reported ¹¹. The total solids content (4.06% TS) was slightly lower than reported ¹² (5.57% TS), which could be mainly due to the extraction method, which in this case was maceration.

Regarding the content of total polyphenols (3.24 mg/mL), similar results were obtained to the study¹³ (3.58 mg/mL) in a hydroalcoholic extract of *Talipariti elatum*; higher than that obtained¹⁴, 2.3 mg/mL of polyphenols in a majagua flower extract for the formulation of a mayonnaise-type dressing and below 6.90 mg/mL of polyphenols obtained ¹². In the study of phenolic compounds present in the flowers of the species *Talipariti elatum* and quality control of its fluid extract.

In general, the difference in the results could be conditioned by the influence of extrinsic factors (characteristics of the ecosystem where the plant grows, harvesting season, among others) and intrinsic factors (ontogenic factors, phenological state, among others) on the plant material, that lead to variations in the content of metabolites and therefore in the total solid content.

As can be seen (Figure 1), up to the concentration of 1.5 mL of concentrated extract per 100 mL of drink, the perception of the bitter aftertaste turned out to be very light with an overall quality of very good according to the evaluated scale. In the case of the maximum concentration, the bitter aftertaste was light to moderate, influencing the overall quality to decrease considerably. From this result it is deduced that the maximum concentration of the extract to be evaluated should not be greater than 1.5. Moisture increased with increasing extract concentration being higher than 2 % for concentrations of 8 % (Table 2). The conditions used for the extract in the sucrose matrix are similar to those proposed by several authors with different plant species. Deladino ¹⁵ was one of the first to attempt to encapsulate a phenolic extract by co-crystallization by studying the incorporation of yerba mate extract. He investigated whether the concentration of the extract affected the physicochemical properties of the co-crystallized product by adding 0.7 g of lyophilized extract to 100 g of sucrose.

Years later, they published an investigation on the encapsulation of marjoram extract by co-crystallization varying only the concentration of the extract. Three different concentrations were used; 10 mL of 3, 5 and 10 g of dried marjoram leaves dissolved in 100 mL of distilled water, to which 50 g of sucrose was added ¹⁶.

Other authors also encapsulated green tea extract by co-crystallization and concluded that the effect of extract concentration on encapsulation efficiency was significant, where extract concentration was used as a variable in the design ¹⁷.

The content of total polyphenols varied in correspondence with the levels of extract in the sucrose matrix reaching a concentration higher than 85 mg (AGE)/100 g of powdered beverage (dry basis). In this sense, the most important variable in terms of temperature effects on the polyphenolic compounds in the extract is the retention variable, which shows for all the concentrations evaluated. Retention values higher than 90 % were obtained taking into account the content added at the beginning of the process, being similar for all the concentrations analyzed ($p > 0.05$).

In the case of the acceptance variable, the results show that there were no significant differences between the observed responses. All the instant beverage formulations presented levels of liking between “I slightly like” and “I like” according to the scale used “I like it” according to the scale used. Considering the potential health benefits of the beverage, the results achieved in sensory terms are very favorable and stimulate the consumption of the instant beverage.

The moisture content of powders (Table 3) can influence the particles and volume, properties, physical-chemical and biological stability, which consequently affects handling and processing operations¹⁸. Regarding humidity and water activity, they are two interrelated terms that are influenced by several factors, including water content, type of active compound and amorphous/crystalline ratio¹⁹.

Similar moistures (Figure 2) were reported by several authors ^{16,20}; these values are favorable to avoid deterioration of the products during storage. Also in 2019 a study was reported ^{21,22} on co-crystallized samples of *Securigera securidaca* L. seed extracts with moisture contents of 0.08 and 0.14, respectively resulting much lower than those obtained in the present investigation.

It is observed (Table 4) that the linear model was significant at 95.0% confidence level, showing that there was a statistically significant relationship between the extract content in the formulations. The R statistic indicated that the fitted model explained more than 95% of the observed variability. The effect observed for the cohesiveness variable indicates that this parameter is of importance for obtaining an instant beverage with adequate flow properties. For both cases, the lack of fit was not significant with respect to pure error.

The sustained increase in polyphenols (Figure 3) is evidence that this is a method that offers an efficiency to cover the active ingredients in the extract presenting numerous advantages. Encapsulated food bioactive components play an important role in improving the efficacy of functional foods. With innovative approaches innovative approaches for the stabilization of food ingredients, properties and health benefits. The main advantages of encapsulation by co-crystallization are its simplicity and the fact that it enhances the physical properties of active ingredients (solubility, wettability, flowability and stability) and masks bitter tastes ²³.

Considering that it was possible to obtain properly adjusted models ¹², we proceeded to explore the described surface to find the combination of levels in the factors that result in an optimal value of the response, this was possible since the models found explain more than 70 % of the behavior in terms of the adjusted R² (Table 5).

Conclusions

The unconcentrated mahogany flower extract presented a value of 4.06% total solids and a polyphenol content of 3.24%; in the case of the concentrated extract, the value was 10.81% total solids and a total polyphenol content of 10.26%. The concentrated extract content directly influenced the moisture, total polyphenol content and cohesiveness of the powders. An optimal instant beverage was obtained with extract concentration values of 6.4 % and estimated moisture and total polyphenol content values of 1.85 % and 69.23 mg AGE / 100 g respectively, with an acceptable cohesiveness (1.25) and a statistical convenience of 61 %.

Conflicts of Interest: the authors declare no conflict of interest.

References

1. Justyna B, Michał S. Quality of New Functional Powdered Beverages Enriched with Lyophilized Fruits—Potentially Bioaccessible Antioxidant Properties, Nutritional Value, and Consumer Analysis. *Appl. Sci.* **2020**, *10*, 3668. doi:10.3390/app10113668.
2. François F, Monan M, Nossin E., Smith J, Marcelin O. Antioxidant activity of an isomer of gossypitrin (gossypetin-3'-Oglucoside) isolated in the petals of *Talipariti elatum* Sw., and determination of total phenolic content of the total flower. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, **2016**, *5*, 200-208.
3. Torreso R, Arteaga T, Montes E. Propiedades físicas de productos cocristalizados de jugo de maracuyá y pulpa de guayaba y su cinética de cocristalización. *TecnoLógicas*, **2021**, *24*(52), 158-175.
4. Marín J, Mut M, Espinoza A, Pérez O, Ávila M, Góngora J, González A. Consumption and main

- dietary sources of polyphenols in graduates of a bachelor's degree in Nutrition from a public university in southeastern Mexico. *Acta Universitaria*, **2023**, 33, e3863. doi:/10.15174.au.2023.3863.
5. Milanes R., Alonso D., González G. A. Farmacognosia de la droga "flores de majagua" (*Talipariti elatum* s.w., familia *Malvaceae*). IV. Estandarización del extracto fluido. *Cub. Plant. Med.*, **1999**, 3(2):82-87.
 6. Norma Cubana 6658: **2021**. Análisis sensorial. Metodología. Guía general (ISO 6658:1985, IDT). La Habana.
 7. Duarte C. Tesis de doctorado. Modelo de evaluación la calidad sensorial para la industria alimentaria cubana. La Habana, Cuba: Instituto de Farmacia y Alimentos. **2017**.
 8. Andrade R., Blanquicett K, Rangel R. Efecto del pH, sólidos solubles y zumo adicionado sobre el color y la vitamina C de zumo de naranja agria cocristalizado. *Información tecnológica*, **2016**, 27(6), 129-134.
 9. Montes E, De Paula C, Ortega F. Determinación de las condiciones óptimas de encapsulamiento por co-cristalización de jugo de maracuya (*Passiflora edulis*). *Temas agrarios*, **2007**, 12(1): 5-12.
 10. Peraza C. Obtención de un colorante en polvo a partir del fruto del cerezo negro (*Syzygium cumini*). Tesis de Licenciatura en Ciencias Alimentarias. Universidad de La Habana, Cuba. **2018**.
 11. Quiala Z. Estudio de los compuestos fenólicos presentes en las flores de la especie *Talipariti elatum* s.w. y control de calidad de su extracto fluido. Tesis presentada en opción al Título de Máster en Química Farmacéutica. La Habana. **2013**.
 12. Gutiérrez Y, Welch W, Scull R, García V, Delgado L. Propuesta de una formulación semisólida a partir de un extracto hidroalcohólico de *Talipariti elatum* Sw./ *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias*, **2017**, 3(2).
 13. Hernández-Torres C, Iliina A, Ventura-Sobrevilla J, Belmares-Cerda R, Contreras-Esquivel J, Michelena G, Martínez-Hernández J. La microencapsulación de bioactivos para su aplicación en la industria. *ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar*, **2016**, 50(1), 12-19.
 14. Hayes G. *Food Engineering Data Handbook*. New York, EE. UU: Weley & Sons. 1987, pp145-160.
 15. Deladino L, Navarro A, Martino M. Microstructure of minerals and yerba mate extract co-crystallized with sucrose, *Journal of Food Engineering*, **2010**, 96(3),410-415, doi.org/10.1016/j.foodeng.2009.08.015.
 16. Federzoni V, Alvim I, Fadini A, da Silva L, Queiroz M. CocrySTALLIZATION of paprika

- oleoresin and storage stability study. *Food Science and Technology*, **2019**, 39, 182-189.
17. Akbari M, Mahoonak S, Sarabandi K, Ghorbani A. Physicochemical properties and antioxidant activities of green tea extract microencapsulated by cocrystallization technique. *Journal of Food Science & Technology*, **2019**, 15(85), 179–193.
18. Kaur P, Elsayed A, Subramanian J, Singh A. Encapsulation of carotenoids with sucrose by co-crystallization: Physicochemical properties, characterization and thermal stability of pigments, *LWT-Food Science and Technology*, **2021**, 140, 110810, doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110810.
19. Marpaung A, Lee M, Kartawiria I. The development of butterfly pea (*Clitoria ternatea*) flower powder drink by co-crystallization. *Indonesian Food Science & Technology Journal*, **2020**, 3(2), 34–37, doi.org/10.22437/ifstj.v3i2.10185..
20. Nik A, Vazifedoost M, Didar Z, Hajirostamloo B (), The antioxidant and physicochemical properties of microencapsulated bioactive compounds in *Securigera securidaca* (L.) seed extract by co-crystallization, *Food Quality and Safety*, **2019**, 3(4), 243–250, <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyz022>
21. Irigoiti Y, Yamul D, Navarro A. Co-crystallized sucrose with propolis extract as a food ingredient: Powder characterization and antioxidant stability. *LWT*, **2021**, 143, 111164.
22. Sarabandi K, Mahoonak A, Akbari M. Physicochemical properties and antioxidant stability of microencapsulated marjoram extract prepared by cocrystallization method. *Journal of Food Process Engineering*, **2019**, 42(1), Article e12949. doi.org/10.1111/jfpe.1294.
23. Chezanoglou E, Goula A. Co-crystallization in sucrose: A promising method for encapsulation of food bioactive components. *Trends in Food Science & Technology*, **2021**, 114, 262-274.

/ **Received:** 19 May 2024 / **Accepted:** 29 May 2024 / **Published:** 15 June 2024 /

Citation: Iglesias Guevara D, Pérez Santana D, Casariego Año A. Development of an instant drink rich in polyphenols from the flower of the majagua (*Talipariti elatum*). *Bionatura*. 2024;9(2). DOI: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.6>

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>.

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.




Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



7 Enzymatic deacetylation of chitin using beta-glucosidase as a biocatalyst.

Desacetilación enzimática de quitina utilizando beta-glucosidasa como biocatalizador.

Iván Cisneros ¹*; Caridad Curbelo ²; Luzmila Burbano ³.

^{1,3} Universidad Técnica de Manabí / Portoviejo / Ecuador

² Universidad Tecnológica de La Habana “José Antonio Echeverría”, CUJAE / La Habana / Cuba

* Correspondence: nel-son.cisneros@utm.edu.ec; Tel.: +593 95 895 1590

Available from: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.7>

Abstract

This study focuses on the enzymatic deacetylation of chitin using beta-glucosidase as a biocatalyst, as part of the search for sustainable alternatives. Chitin extracted from seafood waste is transformed into chitosan using traditional methods that raise environmental concerns due to their high energy and water consumption, as well as the possibility of depolymerization. Enzymatic deacetylation is a more environmentally friendly option that uses emulsin, a beta-glucosidase, to catalyze the process and achieve a homogeneous, soluble, and intact product. However, these enzymatic methods are limited in terms of time and cost. Experiments were carried out at various reaction times (1, 2, 4, 8 hours) and enzyme-substrate ratios (E/S, 0.5:1, 1:1 mg/g). Chitosan was characterized using potentiometric and viscometric methods to determine the degree of deacetylation and the molar mass, respectively. These results highlight the possibility of obtaining chitosan with varying degrees of deacetylation by adjusting the experimental parameters. It was observed that enzymatic treatments affected the degree of deacetylation but not the molar mass, indicating the possibility of optimizing the process by increasing the enzyme concentration and reaction time. In conclusion, this study emphasizes enzymatic deacetylation as an ecological method for obtaining chitosan and provides perspectives for optimizing enzymatic parameters.

Keywords. Beta-glucosidase; chitosan; emulsine; enzymatic deacetylation.

Resumen

Este estudio se enfoca en la desacetilación enzimática de quitina utilizando beta-glucosidasa como biocatalizador, como parte de la búsqueda de alternativas sostenibles. La quitina, obtenida de residuos de mariscos, se convierte en quitosano mediante métodos tradicionales que plantean preocupaciones ambientales debido a su alto consumo de energía y agua, así como la posibilidad de despolimerización. La desacetilación enzimática se presenta como una opción más ecológica, utilizando emulsina como beta-glucosidasa para catalizar el proceso y obtener un producto homogéneo, soluble e intacto. Sin embargo, estos métodos enzimáticos enfrentan limitaciones en términos de tiempo y costo. Se llevaron a cabo experimentos variando los tiempos de reacción (1, 2, 4, 8 horas) y las relaciones enzima-sustrato (E/S, 0.5:1, 1:1 mg/g). La caracterización del quitosano se realizó mediante métodos potenciométricos y viscométricos para determinar el grado de desacetilación y la masa molar, respectivamente. Los resultados resaltan la posibilidad de obtener quitosano con diferentes grados de desacetilación mediante la optimización de parámetros experimentales. Se observó que los tratamientos enzimáticos afectan el grado de desacetilación, pero no la masa molar, lo que sugiere estrategias para optimizar el proceso mediante el aumento de la concentración de enzima y el tiempo de reacción. En conclusión, este estudio subraya la desacetilación enzimática como un método ecológico para la producción de quitosano, proporcionando perspectivas para mejorar los parámetros enzimáticos.

Palabras clave. Beta-glucosidasa; quitosano; emulsina; desacetilación enzimática.

Introduction

Polymers derived from synthetic sources are derived from non-renewable resources, posing environmental problems due to their non-biodegradability and the generation of waste and toxic compounds during synthesis. Consequently, there is a global effort to seek sustainable and eco-friendly polymers¹. To achieve this, the use of natural fibers and agricultural residues in combination with matrices created from fully renewable biomaterials or biopolymers has become increasingly widespread². These materials can meet the required performance and quality attributes for various applications.

Chitin, an abundant biopolymer after cellulose, is extracted from shellfish waste and is insoluble in most solvents. Chitosan, derived from chitin, is soluble in acidic aqueous solutions and is suitable for forming films and fibers³. Chitosan is valued for its versatility, and its applications depend on its origin, properties, and extraction method⁴. It is primarily used in agriculture, paper, textiles, and wastewater treatment, with potential applications in energy⁵ and the environment⁶.

Traditional chitosan production involves the use of strong alkaline systems at high temperatures, consuming significant energy and water⁷. More environmentally friendly methods are sought, such

as enzymatic deacetylation of chitin, which reduces toxic effluents and prevents depolymerization ^{8,9}. However, this method has limitations regarding hydrolysis time and process cost ^{10,11,12}.

For standardized enzymatic activity, specific steps should be followed, varying based on the enzyme type and application¹³. This involves consulting regulations, solid separation, chromatography, deodorization, dilution, concentration determination, concentration reduction, and pressure control¹⁴. Factors such as pH, temperature, pressure, substrate concentration, and inhibitors can affect enzymatic activity¹⁵.

Chitin deacetylases (CDAs) modify chitin by removing acetyl groups, and while limited microorganisms have been studied for their CDAs, there is potential in others. Exploring new CDAs and different approaches remains crucial for achieving pure chitosan and chito-oligosaccharides (COS) ¹⁶.

Emulsin catalyzes the hydrolysis of β 1- \rightarrow 4 bonds in chitin. Although it is not a chitin deacetylase, a study showed its capacity to deacetylate chitin using emulsin extracted from sweet almonds. This process occurs in a solid state and benefits from mild conditions, preserving the polymer's structure β -glucosidase is sustainably produced by microorganisms or genetically modified organisms ^{17,18,19}. Enzymatic deacetylation of chitin involves selectively removing acetyl groups from GlcNAc units, altering the polymer's structure and properties. Beta-glucosidase catalyzes the hydrolysis of glucosidic bonds between GlcNAc units, releasing glucose and acetate¹⁶. This enzyme can act on acetyl groups attached to GlcNAc units, promoting polymer deacetylation. Various models have been proposed for the kinetics of chitin deacetylation, with researchers exploring the use of ions and ultrasound²⁰. The activity of chitin deacetylase has been evaluated under different conditions, revealing multi-step processes and modified Michaelis-Menten equations²¹.

While the exact mechanism of beta-glucosidase catalyzing chitin deacetylation is not fully understood, it is suggested that the enzyme interacts with acetyl groups, facilitating their removal. Enzymatic deacetylation using beta-glucosidase offers advantages over other methods, occurring under mild conditions and allowing controlled modification of chitin²². This process is compatible with gentle reaction conditions, preserving the polymer's structure and functional properties, making it particularly relevant in biomedical applications²³.

Beta-glucosidase can be sustainably sourced from microorganisms or genetically modified organisms. Its use has potential applications across various industries, including food, pharmaceuticals, regenerative medicine, cosmetics, and textiles, offering efficiency, selectivity, and sustainability^{24,25}. Further research on this enzyme presents opportunities for innovative biotechnological processes. This study aims to explore the use of emulsin as a beta-glucosidase

catalyst in enzymatic deacetylation for a more efficient and environmentally friendly production of chitosan²⁶.

Materials and methods

Materials

The shrimp exoskeleton was obtained at the Bilbosa packing plant in the city of Manta, Ecuador, and was kept frozen at -4 °C before its use. This material was treated using the process described by Cisneros Pérez et al. (2019) for enzymatic chitin extraction²⁷. The obtained chitin had a molar mass of 7.18×10^5 g/mol and a minimum degree of acetylation of 67.80%. The other reagents used were of analytical grade and were acquired from S. D. Fine Chemicals (Mumbai, India).

The enzymatic deacetylation process of chitin was carried out following the guidelines established by Sedano Torres (2020)²⁸. A 5% sulfuric acid solution was added to chitin in a 1:30 (w/v) ratio, maintaining the pH at 4, as a pretreatment to improve its solubility. To this chitin solution, beta-glucosidase enzyme (derived from sweet almonds, Type 2A, 10U/mg) was added in enzyme-substrate (E:S) ratios of 0.5:1 and 1:1 (mg/g). The mixture was refluxed and agitated at 40 °C for intervals of 1, 2, 4, and 8 hours (Table 1). Subsequently, the resulting chitosan was vacuum-filtered and dried for two hours at 50 °C in an oven. Finally, the enzyme was inactivated by raising the temperature to over 60 °C before its final characterization, where the chitosan's molar mass was determined using the viscosimetric method, and its degree of deacetylation was assessed using the potentiometric method, as indicated by Ramírez Márquez et al. (2016) y De la Paz et al. (2012)^{29,30}.

Table 1. Experimental design of chitin samples for enzymatic deacetylation.

Sample	Quantity of enzyme (mg) Beta-Glucosidase	Time (h)
Q1	0.5	1
Q2	0.5	2
Q3	0.5	4
Q4	0.5	8
Q5	1	1
Q6	1	2
Q7	1	4
Q8	1	8

Experiment Design

All experiments were conducted in triplicate, and average values were reported. An analysis of variance (ANOVA) was performed, and differences between variables were evaluated for significance using a one-way ANOVA with Tukey's post hoc test. The software GraphPad InStat version 3.05 for Windows 95 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) was used. A statistical difference with $p < 0.05$ was considered significant.

Characterization of deacetylated chitin

Characterization focuses on two fundamental aspects: the determination of the molecular weight and the degree of deacetylation as indicated by Curbelo C., et al. (2021)³¹. The objective of determining the molecular weight is to ensure that enzymatic treatments are not so severe as to cause excessive depolymerization, which would be reflected in a decrease in molecular weight and, therefore, limit their applications. On the other hand, the degree of deacetylation serves to differentiate whether the product obtained is chitin or chitosan, which are mainly distinguished by their solubility, establishing the 50% deacetylation as the limit³².

Degree of deacetylation

As indicated, the degree of N-acetylation of chitin was determined by potentiometric titration³³. For this purpose, 0.5 g of chitin was dissolved in 20 mL of 0.3 M HCl and titrated with a solution of 0.1 M NaOH. The titration was carried out by measuring the pH change every 2 mL of added base until reaching a pH value of approximately 11. The degree of deacetylation (DD) was determined by obtaining the derivative of the pH as a function of the volume of NaOH used. These values are plotted, and two inflection points (V1 and V2) are obtained, which are applied in equation (1). These points represent the amount of acid necessary to protonate the amino groups of chitin and determine the degree of deacetylation of the sample. This value is subtracted from 100 to obtain the degree of acetylation (DA) of the chitin sample (equation 2).

$$DD = 16.1 * (V2 - V1) * f/w \quad (1)$$

$$DA = 100 - 16.1 * (V2 - V1) * f/w \quad (2)$$

f: molarity of the NaOH used in the titration (0.1M)

w: weight of the sample (chitin) used (0.5g)

Molecular weight by intrinsic viscosity

According to the modified method of Martínez Robinson (2012), 0.02 g of purified chitin was dissolved in 25 mL of a solution of dimethylacetamide (DMAc) with 5% lithium chloride for 24 hours³⁴. The parameters were determined using the Mark-Houwink equation, with the constants *a* and *K* being 0.69 and $2.4 \times 10^{-4} \text{ L g}^{-1}$, respectively.

The intrinsic viscosity ($[\eta]$) of the chitosan samples was measured using a Canon-Fenske 300 viscometer (ASTM D 445), using a solution of 0.3 M acetic acid and 0.2 M sodium chloride as the solvent and maintaining the viscometer in a thermostatic bath at 40 ± 0.01 °C. The drop times of the solvent (t_0) and the polymer solutions (t_i) at known concentrations were measured. From these values, the relative viscosity ($\eta_{rel} = t_i / t_0$) and specific viscosity ($\eta_{spe}C = \eta_{rel} - 1$), as well as the reduced viscosity ($\eta_{red} = [\eta] = \eta_{spe}C/C$), were calculated. By extrapolating to zero concentration in a plot of reduced viscosity versus concentration, the intrinsic viscosity was obtained, and finally, the molar mass (M_v) was determined using the Mark-Houwink equation (equation 3).

$$M_v = ([\eta]/K)^{1/a} \quad (3)$$

Donde: $K = 0.074$ mL/g, $a = 0.796$ a 30 °C

Results

The molecular weight of the chitin used as raw material for enzymatic deacetylation, with a 95% confidence level, was measured at $7.18 \pm 0.15 \times 10^5$, and its degree of acetylation was 13.08 ± 0.65 %. The chitosan with the highest degree of deacetylation was obtained with an enzyme/time ratio of 1:8 (mg/h). On the other hand, the sample with the lowest degree of deacetylation was obtained with an E/t ratio of 0.5:1 (mg/h).

Table 2. Degree of deacetylation of chitosan by potentiometric titration method.

Trial	Beta-Glucosidase weight (g)	Volume of inflection (cm ³)	Volume of 1 inflection (cm ³)	Volume of 2 inflection (cm ³)	Potentiometric titration %DD
0.5:1	0.5023	1.32	5.58		38.46
0.5:2	0.5011	1.58	5.32		44.98
0.5:4	0.5022	1.52	7.18		51.29
0.5:8	0.5011	1.50	7.20		51.41
1:1	0.5014	2.30	7.30		57.79
1:2	0.5023	2.38	7.24		57.69
1:4	0.5016	1.34	8.20		64.19
1:8	0.5013	1.34	8.12		64.23

In Table 2, it was also observed that as the reaction time increases, the degree of deacetylation increases, indicating that the reaction time can potentially be gradually increased, similar to what happens when increasing the enzyme concentration.

To determine the molecular weight after enzymatic treatments, some samples were grouped based on the similarity of their degrees of deacetylation, which were rounded. The assays were conducted in quintuplicate.

In Table 3, the five assays are presented for the samples whose previously determined degrees of deacetylation were approximately 38, 44, 51, 57, and 64%. Based on these data, their concentration was calculated, and their drop time was measured to determine the intrinsic viscosity and consequently the molecular weight.

Table 3. Molecular weight of chitosan as a function of the degree of deacetylation.

%DD	Dissolution	Drop Time	Concentration (g/cm ³)	Molecular Weight (g/mol)	Mv	Intrinsic Viscosity (cm ³ /g)	R ²
38	1	132.35	8.59E-04	1.39E+05	599.89	0.9939	
	2	127.15	7.97E-04				
	3	121.35	7.32E-04				
	4	115.9	6.68E-04				
	5	110.21	5.92E-04				
44	1	132.05	8.49E-04	1.24E+05	551.42	0.999	
	2	127.1	7.95E-04				
	3	121.3	7.31E-04				
	4	115.8	6.68E-04				
	5	110.1	5.96E-04				
51	1	131.32	8.19E-04	1.12E+05	510.16	0.9987	
	2	127.1	7.79E-04				
	3	122.02	7.24E-04				
	4	117.8	6.79E-04				
	5	111.2	6.03E-04				
57	1	133.4	8.44E-04	1.04E+05	480.05	0.9976	
	2	128.3	7.91E-04				
	3	123.2	7.42E-04				

	4	115.7	6.59E-04			
	5	110.0	5.96E-04			
	1	134.4	8.49E-04			
	2	127.3	7.79E-04			
64	3	122.2	7.30E-04	1.01E+05	599.89	0.9939
	4	115.8	6.61E-04			
	5	110.2	5.96E-04			
	AVERAGE		1.16±0.16E+05			

In Table 3, it is also observed that the molecular weight is practically the same for all assays with an average value of $1.16 \pm 0.16 \times 10^5$ g/mol, being approximately 70% lower compared to the original value of chitin.

Discussion

According to Guzhñay Lozano (2022)³⁵, the values allow the characterized chitin (Table 2) to be considered industrial-grade chitin, with a molecular weight close to 10^5 . The sample with the lowest degree of deacetylation was obtained with an E/t ratio of 0.5:1 (mg/h). This result may be attributed to the use of a lower amount of enzyme compared to the fixed amount of substrate. Now, according to the study by Dima, Sequeiros, and Zaritzky (2013)³², for the product obtained to be considered chitosan, it must have a molecular weight of around 10^5 and a degree of deacetylation between 50 and 60%. These parameters are met in all samples except Q1 and Q2. This indicates that with an enzyme-substrate ratio E/S (0.5:1, mg/g) and more than two hours of reaction time, chitosan is obtained; while with the E/S ratio (1:1, mg/g), chitosan is obtained from the first hour of reaction.

When comparing enzymatic treatment times with various authors, similarities with the obtained results are evident. Ramírez et al. (2016)²⁹ experimented under similar conditions with two hours of treatment, achieving chitosan with low dye absorption capacity (qualitative deacetylation test). Similarly, Tello Palma (2017)²⁵ treated "Rainbow" trout scales with emulsin for 45 minutes at temperatures of 35, 50, and 40 °C, obtaining deacetylation levels below 40%, attributing this result to the high ash content (75%). However, Dimas et al. (2017)³² using slightly higher E/S ratios than those used in this study at 40 °C for 45 minutes, achieved deacetylation levels above 90%.

Table 3 shows that, regardless of the treatment applied, the reduction in molar mass is similar, with no significant differences between treatments at a 95% confidence level. The difference in the average value of this molar mass compared to the initial value could be due to the pretreatment of chitin with sulfuric acid. It is estimated that sulfuric acid treatment can cause depolymerization in chitin with low

ash content. In contrast, a high ash content can reduce the efficiency in chitosan production²⁵. As previously mentioned, each enzyme responds differently, necessitating a specific approach for its study and optimization³⁶.

Conclusions

Characteristics of chitin are similar to those reported for industrial chitins. However, its molecular weight was slightly low, which could be attributed to the pre-treatment with sulfuric acid applied to the raw material.

After the enzymatic treatments for the deacetylation of enzymatic chitin, was observed that the process can still be optimized by increasing the value of both factors.

Producing pure chitosan or chitosan oligosaccharides (COS) with specific degrees of polymerization (DP) and degree of acetylation (DA) remains challenging.

Future research should focus on discovering new chitin-acetylase enzymes (CDAs) with unique properties, understanding their catalytic mechanisms, and modifying chitinous substrates and CDAs for efficient catalysis.

Competing Interest: The authors declare no conflict interest.

Author Contributions: The author and their collaborators indicate below their contributions to the research process and the achievement of results:

Conceptualization, Iván Cisneros; methodology, Iván Cisneros; software, Iván Cisneros; validation, Iván Cisneros; formal analysis, Iván Cisneros and Luzmila Burbano; investigation, Iván Cisneros; writing, Iván Cisneros and Luzmila Burbano; supervision, Caridad Curbelo. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

References

1. Sousa, F. D. B. de. A Simplified Bibliometric Mapping and Analysis about Sustainable Polymers. *Mater. Today Proc.* **2022**, *49*, 2025–2033. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.08.210>.
2. Bari, E.; Sistani, A.; Morrell, J. J.; Pizzi, A.; Akbari, M. R.; Ribera, J. Current Strategies for the Production of Sustainable Biopolymer Composites. *Polymers* **2021**, *13* (17), 2878. <https://doi.org/10.3390/polym13172878>.
3. Hudson, S. M.; Jenkins, D. W. Chitin and Chitosan. In *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*; Mark, H. F., Ed.; Wiley, **2003**. <https://doi.org/10.1002/0471440264.pst052>.

4. Joseph, B.; James, J.; Kalarikkal, N.; Thomas, S. Chapter 1 - Advances in Biopolymer Based Surgical Sutures. In *Advanced Technologies and Polymer Materials for Surgical Sutures*; Thomas, S., Coates, P., Whiteside, B., Joseph, B., Nair, K., Eds.; Woodhead Publishing Series in Biomaterials; Woodhead Publishing, **2023**; pp 1–17. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819750-9.00008-5>.
5. Peter, S.; Lyczko, N.; Gopakumar, D.; Maria, H.; Nzihou, A.; Thomas, S. Chitin and Chitosan Based Composites for Energy and Environmental Applications: A Review. *Waste Biomass Valorization* **2021**, *12*. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01244-6>.
6. Hossin, M.; Alshaqsi, N.; Al Touby, S.; Sibani, M. A Review of Polymeric Chitin Extraction, Characterization, and Applications. *Arab. J. Geosci.* **2021**, *14*. <https://doi.org/10.1007/s12517-021-08239-0>.
7. Pakizeh, M.; Moradi, A.; Ghassemi, T. Chemical Extraction and Modification of Chitin and Chitosan from Shrimp Shells. *Eur. Polym. J.* **2021**, *159*, 110709. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110709>.
8. Tyliczszak, B.; Drabczyk, A.; Kudłacik-Kramarczyk, S.; Sobczak-Kupiec, A. Sustainable Production of Chitosan. In *Studies in Systems, Decision and Control*; **2020**; pp 45–60. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11274-5_4.
9. Akmalovna, I. G.; Nosirovich, U. B.; Maxamatdinovich, T. S.; Abduvakhobovna, U. G.; Nematullayevic, A. A.; Qosimovna, H. C. Physicochemical properties of chitin and chitosan from died honey bees *Apis Mellifera* of Uzbekistan.. *J. Crit. Rev.* **2020**, *7* (04). <https://doi.org/10.31838/jcr.07.04.21>.
10. Sánchez, L.-F.; Cánepa, J.; Kim, S.; Nakamatsu, J. A Simple Approach to Produce Tailor-Made Chitosans with Specific Degrees of Acetylation and Molecular Weights. *Polymers* **2021**, *13* (15), 2415. <https://doi.org/10.3390/polym13152415>.
11. Gonçalves, C.; Ferreira, N.; Lourenço, L. Production of Low Molecular Weight Chitosan and Chitooligosaccharides (COS): A Review. *Polymers* **2021**, *13* (15), 2466. <https://doi.org/10.3390/polym13152466>.
12. Ramasamy, P.; Sekar, S.; Paramasivam, S.; Suri, P.; Chinnaiyan, U.; Singh, R.; Tanguturi Raghavaiah, B. P.; Seshadri, V. D. Sulfation of Chitosan from *Sepia Kobiensis* as Potential Anticoagulant and Antibacterial Molecule. *Nat. Prod. Res.* **2022**, *36* (12), 3216–3222. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1956492>.

13. Sedano Torres, N. Método Para La Obtención De Quitosano Mediante Desacetilación De Quitina Por Medio De La Enzima Emulsina, October 1, **2020**. <https://patentscope.wipo.int/search/es/detail.jsf?docId=WO2020197372> (accessed 2024-02-22).
14. Devnani, B.; Ong, L.; Kentish, S.; Gras, S. Structure and Functionality of Almond Proteins as a Function of pH. *Food Struct.* **2021**, *30*, 100229. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2021.100229>.
15. Purich, D. Chapter 7. Factors Influencing Enzyme Activity. *Enzyme Kinet. Catal. Control* **2010**, 379–484. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380924-7.10007-9>.
16. Zhang, Y.; Luo, X.; Yin, L.; Yin, F.; Zheng, W.; Fu, Y. Isolation and Screening of a Chitin Deacetylase Producing *Bacillus Cereus* and Its Potential for Chitosan Preparation. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2023**, *11*. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1183333>.
17. Yang, W.; Su, Y.; Wang, R.; Zhang, H.; Jing, H.; Meng, J.; Zhang, G.; Huang, L.; Guo, L.; Wang, J.; Gao, W. Microbial Production and Applications of β -Glucosidase-A Review. *Int. J. Biol. Macromol.* **2024**, *256*, 127915. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127915>.
18. Zazueta, L.; Alicia, B. Obtención de quitosano por el método biotecnológico optimizado y su aplicación como recubrimiento para el control de antracnosis en papaya. **2023**.
19. De Aguiar Saldanha Pinheiro, A. C.; Martí-Quijal, F. J.; Barba, F. J.; Tappi, S.; Rocculi, P. Innovative Non-Thermal Technologies for Recovery and Valorization of Value-Added Products from Crustacean Processing by-Products—An Opportunity for a Circular Economy Approach. *Foods* **2021**, *10* (9), 2030.
20. ElMekawy, A.; Hegab, H. M.; El-Baz, A.; Hudson, S. M. Kinetic Properties and Role of Bacterial Chitin Deacetylase in the Bioconversion of Chitin to Chitosan. *Recent Pat. Biotechnol.* **2013**, *7* (3), 234–241. <https://doi.org/10.2174/1872208307666131202192453>.
21. Chai, J.; Hang, J.; Zhang, C.; Yang, J.; Wang, S.; Liu, S.; Fang, Y. Purification and Characterization of Chitin Deacetylase Active on Insoluble Chitin from Nitratreductor *Aquimarinus* MCDA3-3. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *152*, 922–929. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.308>.
22. Zhang, Y., Luo, X., Yin, L., Yin, F., Zheng, W., & Fu, Y. Isolation and screening of a chitin deacetylase producing *Bacillus cereus* and its potential for chitosan preparation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *11*, 1183333. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 30 March **2023**.
Sec. Bioprocess Engineering
Volume 11 - 2023 <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1183333>.

23. Li, X.; Jiang, G.; Wang, G.; Zhou, J.; Zhang, Y.; Zhao, D. Promising Cellulose–Based Functional Gels for Advanced Biomedical Applications: A Review. *Int. J. Biol. Macromol.* **2024**, *260*, 129600. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129600>.
24. Joseph, S. M.; Krishnamoorthy, S.; Paranthaman, R.; Moses, J. A.; Anandharamakrishnan, C. A Review on Source-Specific Chemistry, Functionality, and Applications of Chitin and Chitosan. *Carbohydr. Polym. Technol. Appl.* **2021**, *2*, 100036. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100036>.
25. Labeaga Viteri, A. Polímeros biodegradables. Importancia y potenciales aplicaciones. **2018**.
26. Godse, R.; Bawane, H.; Tripathi, J.; Kulkarni, R. Unconventional β -Glucosidases: A Promising Biocatalyst for Industrial Biotechnology. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2021**, *193* (9), 2993–3016. <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03568-y>.
27. Cisneros Pérez, I.; Curbelo Hernández, C.; Andrade Díaz, C.; Giler Molina, J. M.; Cisneros Pérez, I.; Curbelo Hernández, C.; Andrade Díaz, C.; Giler Molina, J. M. Evaluación de la extracción enzimática de quitina a partir del exoesqueleto de camarón. *Cent. Azúcar* **2019**, *46* (1), 51–63. ISSN 2223-4861.
28. Sedano Torres, N. ‘Método Para La Obtención De Quitosano Mediante Desacetilación De Quitina Por Medio De La Enzima Emulsina’. Clasificación internacional C08B37/08. N° de solicitud PCT/MX2020000031. **2020**-10-01. https://patentscope.wipo.int/search/es/detail.jsf?docId=WO2020197372&_cid=P12-LWDLT4-26997-1. **2020**.
29. Ramírez Márquez, J.; Castro Lino, A.; Padilla Velasco, A. L.; Rivera Ortega, J. Á.; Mercedes Hernández, M. A.; Meléndez Balbuena, L. Obtención de Quitosano a partir de jaiba por un método químico y la formación de perlas para retención de colorante. *Rev. Tend. En Docencia E Investig. En Quím.* **2016**, *2* (2), 2448-6663. https://zaloamati.azc.uam.mx/bitstream/handle/11191/8451/Obtencion_de_Quitosano_a_partir_de_jaiba_2016.pdf?sequence=1
30. De la Paz, N.; Fernández, M.; Darío López, O.; Nogueira, A.; García, C. M.; Pérez, D.; Tobella, J. L.; Montes de Oca, Y.; Díaz, D. Optimización del proceso de obtención de quitosano derivada de la quitina de langosta. *Rev. Iberoam. Polímeros* **2012**, *13* (3), 103–116. <https://www.observatorionoplastico.com/ficheros/articulos/69430789826115900.pdf>

31. Curbelo Hernández, C.; Palacio Dubois, Y.; Fanego Hernández, S.; Curbelo Hernández, C.; Palacio Dubois, Y.; Fanego Hernández, S. Desacetilación de quitina obtenida por vía química de exoesqueletos de camarón *Litopenaeus Vannamei*. *Cent. Azúcar* **2021**, *48* (3), 53–61.
32. Dima, J. B.; Sequeiros, C.; Zaritzky, N. Chitosan from Marine Crustaceans: Production, Characterization and Applications. In *Biological Activities and Application of Marine Polysaccharides*; Shalaby, E. A., Ed.; InTech, **2017**. <https://doi.org/10.5772/65258>.
33. Kasaai, M. R. Various Methods for Determination of the Degree of N-Acetylation of Chitin and Chitosan: A Review. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57* (5), 1667–1676. <https://doi.org/10.1021/jf803001m>.
34. Martínez Robinson, K. G. *Caracterización Físicoquímica y propiedades funcionales de quitina extraída de caparazon de camaron (Penaeus Sp)*. **2012**. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo., 1006 (1000),. <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/1000>.
35. Guzhñay Lozano, C. G. Evaluación de la eficiencia de extracción de quitina de la cáscara de camarón (*Litopenaeus vannamei*), obtenida enzimáticamente con papaína y quimotripsina. bachelorThesis, **2022**. <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/21665/1/UPS-CT009516.pdf>
36. Grahame, D. A. S.; Bryksa, B. C.; Yada, R. Y. 2 - Factors Affecting Enzyme Activity. In *Improving and Tailoring Enzymes for Food Quality and Functionality*; Yada, R. Y., Ed.; Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; Woodhead Publishing, **2015**; pp 11–55. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-285-3.00002-8>.

/ **Received:** 20 May 2024 / **Accepted:** 12 June 2024 / **Published:** 15 June 2024 /

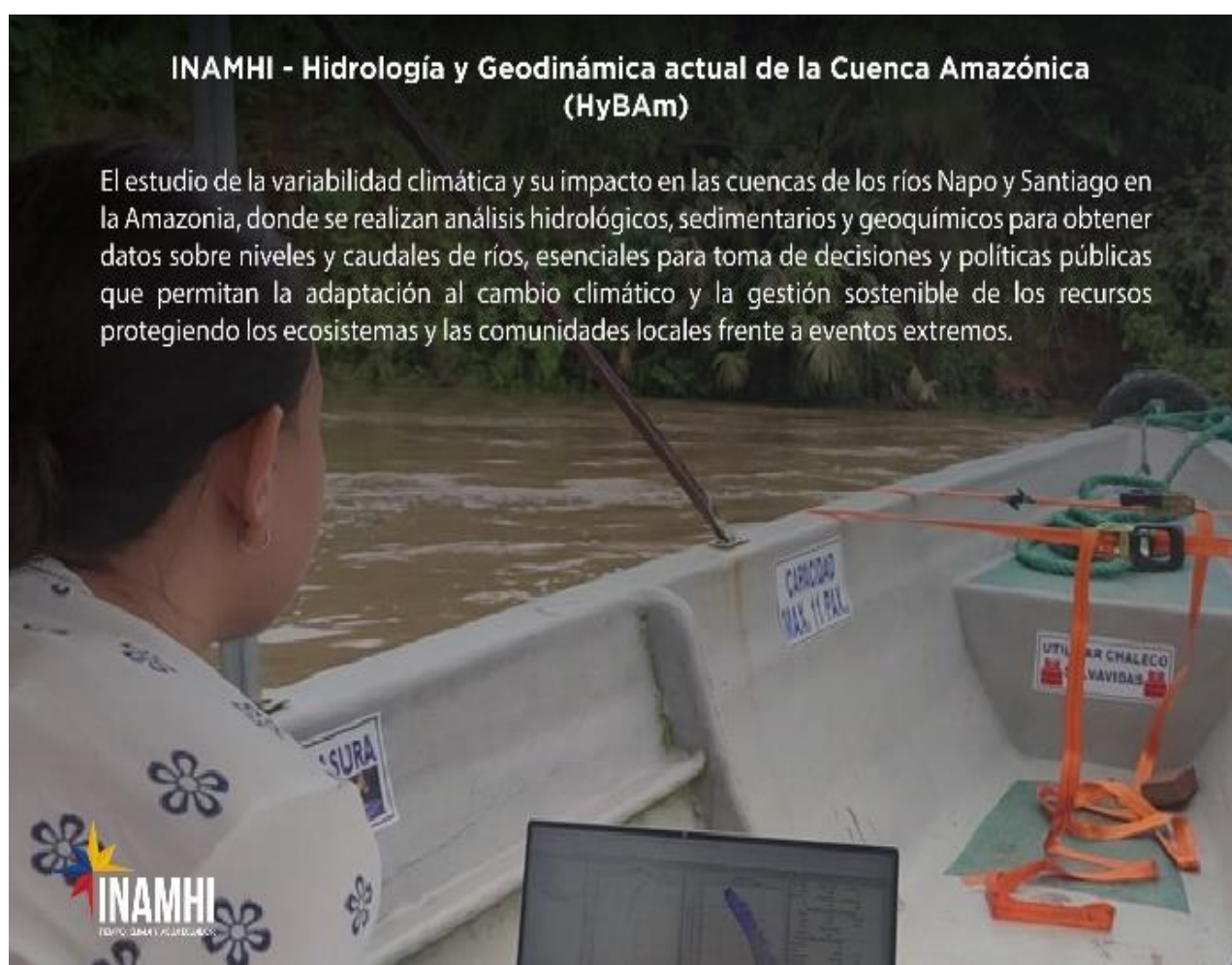
Citation: Cisneros I, Curbelo C, Burbano L. Enzymatic deacetylation of chitin using beta-glucosidase as a biocatalyst for chitosan production. *Bionatura*. 2024;9(2). DOI: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.7>

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>.

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



8 Capacidad antioxidante y caracterización fisicoquímica de una bebida refrescante con zumos de bilimbi y sandía.

Antioxidant capacity and physicochemical characterization of a refreshing drink with bilimbi and watermelon juices.

David Wilfrido Moreira Vera ¹/*Quinche Leonardo Félix López ²; Heidi Pierina Loor Vera ³; Luis Miguel Muñoz Mendoza ⁴.

^{1,2,3,4} 1 Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López,
Calceta, Ecuador

* Correspondencia: dmoreira@espam.edu.ec

Available from: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.8>

Resumen

El propósito de esta investigación fue determinar la capacidad antioxidante y características fisicoquímicas de mezclas de zumos de bilimbi (*Averrhoa bilimbi*) y sandía (*Citrullus lanatus*) y agua en una bebida refrescante. Se utilizó un Diseño de Mezclas Simplex-Centroide con una réplica, resultando 20 unidades experimentales de 1000 cm³. Se evaluó pH, sólidos solubles, viscosidad y la capacidad antioxidante mediante el método ABTS. Los resultados mostraron que los valores de pH oscilaron entre 3,16 y 3,92, los sólidos solubles entre 13,75 % y 15,45 %, y la viscosidad entre 1,60 y 2,30 mPa.s. La capacidad antioxidante varió entre 1504,3 a 2082,85 µmol Equivalente de Trolox/cm³ en la bebida. Los resultados obtenidos indican que la bebida refrescante con una combinación de 23,33 % de zumo de bilimbi, 43,33 % de zumo de sandía y 33,33 % de agua posee los niveles más altos de antioxidantes y cumple con las normativas ecuatorianas vigentes.

Palabras clave. Bebida funcional; bilimbi, capacidad antioxidante, compuestos bioactivos.

Abstract

The purpose of this study was to determine the antioxidant capacity and physicochemical characteristics of mixtures of bilimbi (*Averrhoa bilimbi*) and watermelon (*Citrullus lanatus*) juices and water in a refreshing drink. A simplex centroid mixture design was used with one replication, resulting in 20 experimental units of 1000 cm³. pH, soluble solids, viscosity, and antioxidant capacity were evaluated using the ABTS method. The results showed that the pH values ranged between 3,16 and 3,92, the soluble solids ranged from 13.75% to 15.45%, and the viscosity ranged from 1.60 to

2.30 mPa.s. The antioxidant capacity varied between 1504,3 and 2082,85 $\mu\text{mol Trolox equivalent/cm}^3$. The results obtained indicate that the refreshing drink with a combination of 23,33 % bilimbi juice, 43,33 % watermelon juice, and 33.33 % water has the highest levels of antioxidants and complies with current Mexican regulations.

Keywords. Functional drink, Bilimbi, antioxidant capacity, bioactive compounds

Introducción

Los compuestos bioactivos presentes en frutas han atraído la atención de los consumidores y la comunidad científica teniendo en cuenta las evidencias epidemiológicas sólidas que muestran los beneficios de la ingesta de fruta en la prevención de enfermedades humanas. Los compuestos bioactivos más comunes presentes en frutas tropicales son las vitaminas (C y E), carotenoides, compuestos fenólicos y fibra dietética¹.

Ecuador es un país productor de diversas frutas tropicales, siendo una de ellas la sandía (*Citrullus lanatus*), la cual es una planta herbácea y rastrera perteneciente a la familia de las cucurbitáceas. Su producción se da principalmente en las provincias de Guayas, Santa Elena y Manabí, esto debido a las excelentes condiciones climáticas que presentan dichas provincias para su cultivo. Sin embargo, es importante indicar que el procesamiento en jugos, bebidas, pulpas, néctares que se le da a esta fruta es insuficiente².

De igual manera, el bilimbi o biribiri (*Averrhoa bilimbi*) es un árbol frutal perteneciente a la familia de las oxalidáceas. Esta fruta es cultivada en regiones de clima tropical y subtropical, su desarrollo es mejor en lugares con temperaturas de 25 °C y 1000 cm^3 de precipitaciones promedio por año³.

Las frutas tropicales son excelentes fuentes de vitaminas, fitoesteroles, polifenoles, y antioxidantes. A pesar de que se tiene un amplio conocimiento de los beneficios del consumo de frutas, en la actualidad los consumidores buscan alimentos prácticos y convenientes, que permitan el ahorro de tiempo y aporten un beneficio en su salud⁴.

Las bebidas de frutas, se caracterizan por contener compuestos bioactivos, como el ácido ascórbico, tocoferoles, carotenoides y polifenoles, que generan efectos antioxidantes y anticancerígenos en la salud de los consumidores⁵. Por lo cual, la elaboración de una bebida refrescante con frutas tropicales con compuestos bioactivos, como lo son el bilimbi y la sandía, es una alternativa práctica de consumo de un alimento que aporte beneficios nutricionales a los consumidores.

Una de las propiedades nutricionales que más destacan en la sandía, es su alta capacidad antioxidante, atribuida a la molécula de licopeno, el cual, por su estructura, forma enlaces con los radicales libres, que tiene efectos antioxidantes, antiinflamatorios y quimioterapéuticos sobre las enfermedades

cardiovasculares, neurodegenerativas y algunos tipos de cáncer, la ingesta de licopeno reduce la inflamación y mejora la funcionalidad de lipoproteínas de alta densidad (HDL)⁶

De igual manera, el fruto de bilimbi o biri-biri entre sus compuestos bioactivos destaca su contenido de vitamina C, siendo este 72,9 mg/100 g; contenido de polifenoles que oscilan entre los 50 y 55 mg/100 g, lo cual determina que el fruto tiene un alto poder antioxidante⁷.

Por lo cual, esta investigación se realizará con el propósito de aprovechar las propiedades nutricionales de las frutas tropicales producidas en el país como son el bilimbi y la sandía, para la elaboración de una bebida refrescante a base de frutas, que cumpla con la NTE INEN 2337:2008, que establece los parámetros fisicoquímicos que deben cumplir los “Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales” en el Ecuador⁸.

Por lo antes mencionado, el objetivo de esta investigación es determinar los efectos antioxidantes y fisicoquímicos de las mezclas de zumos de bilimbi, sandía y agua para la elaboración de una bebida refrescante.

Materiales y métodos

Ubicación

La investigación se realizó en el Taller de Frutas y Hortalizas y en el Laboratorio de Bromatología de la Carrera de Agroindustria de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”, ubicada en el sitio Limón a 4 km del centro de la ciudad de Calceta, cantón Bolívar, provincia de Manabí-Ecuador. Su ubicación geográfica es 49°35.25' S de latitud y 80°11'10.54" W de longitud⁹. Los análisis de capacidad antioxidante se realizaron en el Laboratorio de la Universidad Técnica de Manabí, extensión Chone, su ubicación geográfica es 41°15.8' S de latitud y 80°07'25.4" W de longitud¹⁰.

Tipo, alcance y enfoque de la investigación

La investigación experimental se identifica porque existe una manipulación intencionada de la variable independiente y se analiza la influencia que tiene sobre la variable dependiente¹¹.

Por lo cual, la presente investigación fue de tipo experimental, considerando como variables independientes las mezclas obtenidas en las combinaciones de zumos de bilimbi, zumo de sandía y agua, de las cuales se evaluó su efecto en las propiedades antioxidantes y fisicoquímicas.

Técnicas analíticas

Análisis fisicoquímicos

Los análisis fisicoquímicos que se realizaron se presentan en la NTE INEN 2337:2008, la misma que incluye los requisitos que deben cumplir las bebidas de frutas.

Determinación de pH

Se realizó mediante el método potenciométrico que se utiliza para la determinación de pH en productos de vegetales y de frutas, este método de ensayo se especifica en la NTE INEN ISO 1842:2013¹².

Determinación de sólidos solubles (° Brix)

Se realizó mediante el método refractométrico que se utiliza para la determinación de sólidos solubles en productos vegetales y de frutas, este método de ensayo se especifica en la NTE INEN ISO 2173:2013¹³.

Determinación de viscosidad

Se determinó la viscosidad utilizando un viscosímetro rotacional de Marca BDV-8S, el cual funciona por la rotación del husillo, en el cual se sumergió la bebida refrescante para medir su resistencia a una velocidad adecuada. Esta metodología se describe en el Manual del Laboratorio de Bromatología de la Carrera de Agroindustria de la ESPAM MFL.

Análisis de capacidad antioxidante

Los análisis de capacidad antioxidante se realizaron mediante el método ABTS. Este método se basa en la reducción de la coloración verde/azul producida por la reacción del radical ácido 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS•+) con el antioxidante que contiene la muestra. El método ABTS es, por tanto, un método que evalúa la actividad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) de la muestra en estudio¹⁴.

Factores en estudio

Los factores en estudio o variables independientes que se consideraron para la presente investigación son los componentes principales de la bebida refrescante, y son los siguientes:

- X₁: Zumo de bilimbi
- X₂: Zumo de sandía
- X₃: Agua

Diseño experimental

La investigación fue de tipo experimental y se utilizó el programa estadístico Statgraphics Centurión XVI.I para obtener un diseño de mezclas simplex-centroide, con una réplica, mediante el cual se evaluó el efecto de las mezclas en la capacidad antioxidante, características fisicoquímicas y sensoriales de la bebida refrescante, para las mezclas se utilizaron niveles bajos y altos de los tres principales componentes (zumo de bilimbi, zumo de sandía y agua) (ver tabla 1). En el diseño de mezclas los componentes están ajustados para que la sumatoria de los mismos sea 100 % (ver tabla 2).

Tabla 1. Componentes de la mezcla.

Componentes	Bajo	Alto
-------------	------	------

Zumo de bilimbi	20	30
Zumo de sandía	40	50
Agua	30	40

Tabla 2. Tratamientos obtenidos mediante el Diseño de mezclas Simplex-Centroide.

Tratamientos	% Zumo de bilimbi	% Zumo de sandía	% Agua
T1	30,00	40,00	30,00
T2	20,00	50,00	30,00
T3	20,00	40,00	40,00
T4	25,00	45,00	30,00
T5	25,00	40,00	35,00
T6	20,00	45,00	35,00
T7	23,33	43,33	33,33
T8	26,67	41,67	31,67
T9	21,67	46,67	31,67
T10	21,67	41,67	36,67

Unidad experimental

La unidad experimental fue de 1000 cm³ de bebida refrescante de frutas por cada tratamiento (mezcla), que a la vez fue replicado una vez, obteniéndose así un total de 20 unidades experimentales. La bebida se elaboró utilizando las diferentes proporciones de zumo de bilimbi, zumo de sandía y agua obtenidas en el diseño de mezclas Simplex-Centroide, adicionalmente se agregó el 10 % de azúcar y el 0,07 % de goma xantana.

La bebida fue envasada en botellas de vidrio de 311 cm³ para almacenarlas en refrigeración a 4 °C y posteriormente realizar los análisis de capacidad antioxidante y fisicoquímicos.

Variables a medir

➤ Características funcionales

- Capacidad antioxidante

➤ Características fisicoquímicas

- pH
- Sólidos solubles (°Bx)

- Viscosidad

Manejo del experimento

➤ Extracción de los zumos de bilimbi y sandía

Clasificación: El bilimbi se obtuvo de una finca ubicada en el sitio “El Bejuco” perteneciente al Cantón Chone, separando los frutos que presentaban magulladuras o cortes, mientras que, la sandía de variedad Crimson Sweet se obtuvo en el mercado municipal de la ciudad de Calceta. Los frutos se clasificaron de acuerdo a su índice de madurez considerando un intervalo de 4 a 5 °Bx y 1,35 a 1,40 % de acidez para el bilimbi, y un intervalo de 7 a 8 °Bx y 0,07 a 0,08 % de acidez en la sandía.

Lavado: Las frutas por separado se lavaron en una solución de agua con hipoclorito de sodio en una concentración de 100 ppm para su correcta desinfección.

Cortado: De forma manual utilizando un cuchillo, se realizaron cortes verticales de aproximadamente 1 cm en los frutos de bilimbi, mientras que, la sandía se cortó por la mitad y luego se realizaron cortes en la parte comestible de la fruta, para separarla de la cáscara.

Licuada: Para obtener los zumos de bilimbi y sandía se licuaron cada una de las frutas por separado en una licuadora industrial marca Montero con capacidad de 10 litros durante 1 minuto a 3000 rpm.

Filtrado: En un tamiz redondo de malla (1 mm) y acero inoxidable de 20 cm de diámetro se filtraron cada uno de los zumos, separando el bagazo obtenido del proceso de licuado.

Almacenamiento: Los zumos de bilimbi y sandía fueron almacenados en refrigeración a 4 °C durante 24 horas, y posteriormente se utilizaron en la elaboración de la bebida refrescante.

➤ Elaboración de la bebida refrescante

Recepción: La materia prima y los insumos necesarios se receptaron aplicando buenas prácticas de manufactura, de esta manera se aseguró la calidad del producto final.

Formulación: Para cada formulación se aplicaron las combinaciones obtenidas mediante el diseño de mezclas Simplex-Centroide.

Mezclado: En una olla de acero inoxidable se ubicaron los tres componentes principales de la bebida, que son, zumo de bilimbi, zumo de sandía y agua, luego se llevó a calentamiento hasta obtener los 55 °C, temperatura a la cual se agregaron el azúcar y la goma xantana e inmediatamente se removió hasta obtener una dilución homogénea.

Pasteurización: La bebida se pasteurizó a 65 °C durante 30 minutos para eliminar los microorganismos nocivos que puedan estar presentes en la misma, y de esta manera se aseguró la inocuidad del alimento que será conservado en refrigeración a 4 °C.

Envasado: La bebida pasteurizada fue llenada inmediatamente en envases de vidrio de 311 cm³, los mismos que previamente fueron esterilizados a 122 °C durante 15 minutos, para mantener la calidad e inocuidad de la bebida. Posteriormente, los envases se sellaron utilizando una tapadora manual.

Almacenamiento: La bebida fue almacenada en refrigeración a 4 °C durante 15 días para la conservación y prolongación de su vida útil.

Los análisis fisicoquímicos se realizaron durante el periodo de almacenamiento (10 días) y los de capacidad antioxidante se realizaron después de cumplir el periodo de almacenamiento.

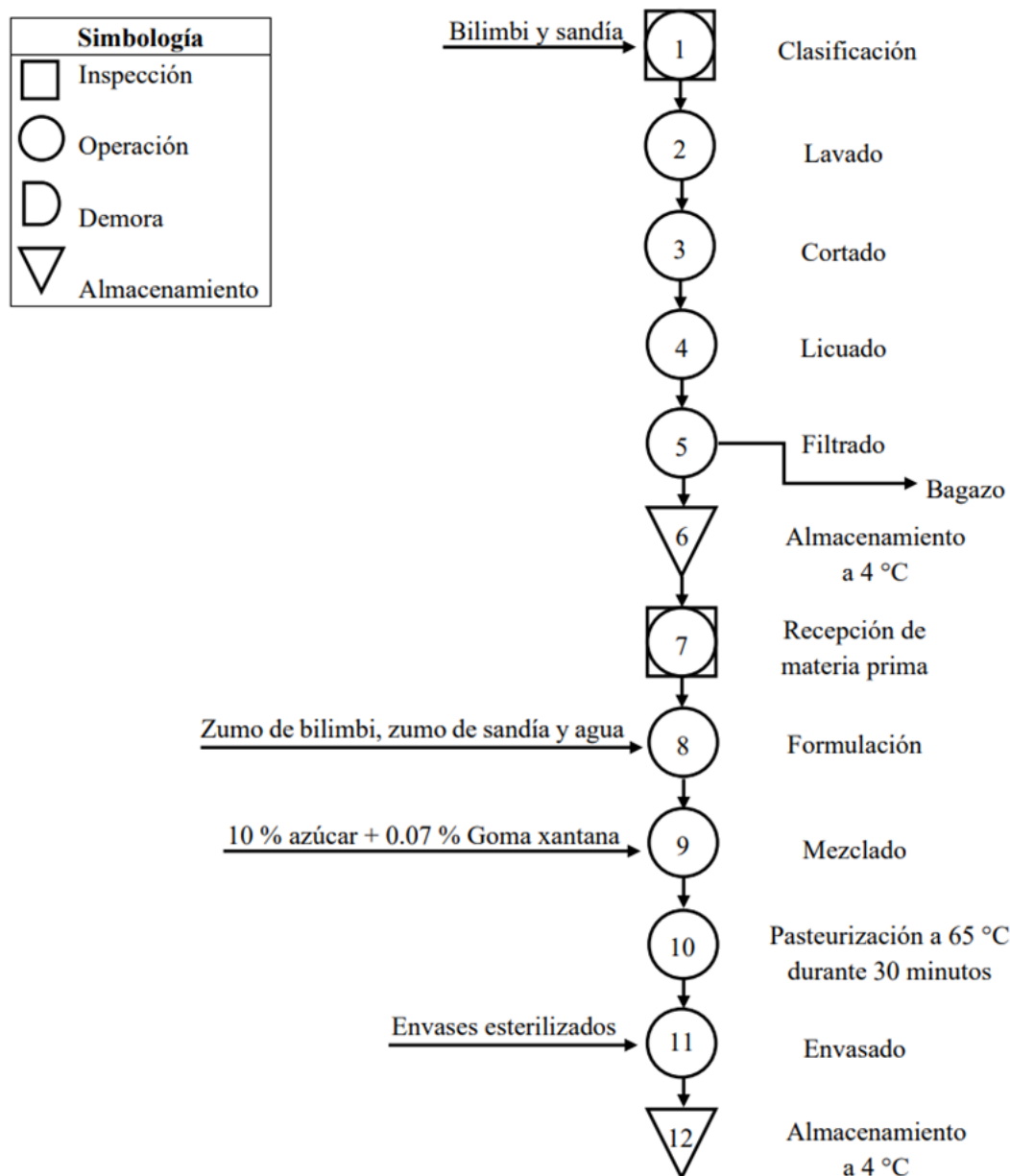


Figura 1. Diagrama de procesos de la bebida refrescante a partir de zumos de bilimbi y sandía.

Evaluación de los parámetros fisicoquímicos

Para realizar los análisis fisicoquímicos de la bebida refrescante, se tomó una botella de vidrio 311 cm³ al azar por cada unidad experimental. Estos análisis se llevaron a cabo durante el periodo de almacenamiento (refrigeración a 4 °C), 10 días después de la elaboración de la bebida refrescante.

Evaluación de la capacidad antioxidante

Para realizar los análisis de capacidad antioxidante, se tomó una botella de vidrio 311 cm³ al azar por cada unidad experimental y se trasladaron al Laboratorio de la Universidad Técnica de Manabí, extensión Chone.

Estos análisis se llevaron a cabo después de cumplir con el periodo de almacenamiento (refrigeración a 4 °C), es decir, 15 días después de la elaboración de la bebida refrescante.

Análisis estadístico

Los análisis de los datos obtenidos se realizaron con el paquete estadístico Statgraphics centurión XVI.I mediante el diseño de mezclas Simplex-Centroide, de esta manera se obtuvieron las combinaciones ideales de los principales componentes de la bebida refrescante con capacidad antioxidante. Los resultados obtenidos de los análisis fisicoquímicos y capacidad antioxidante se evaluaron mediante gráficos de superficie de respuesta.

Resultados

Capacidad antioxidante de la bebida refrescante a base de mezclas de zumos de bilimbi y sandía

En la tabla 3 se presentan los resultados obtenidos después de ajustar los datos de capacidad antioxidante a los diferentes modelos, cada modelo muestra un p-valor que prueba si el modelo es estadísticamente significativo, en este caso el modelo cuadrático es el que presenta un p-valor <0,05, lo que indica que el modelo es estadísticamente significativo, y que trabaja con un nivel de confianza del 95,0 %, resultando el modelo más adecuado para los datos.

Tabla 3. Efectos estimados del modelo completo para capacidad antioxidante.

Fuente	Suma Cuadrados	de GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Media	5,80563E7	1	5,80563E7		
Bloques	10192,6	1	10192,6	0,27	0,6100
Lineal	21814,4	2	10907,2	0,26	0,7706
Cuadrático	378682	3	126227,	5,86	0,0093
Cúbico Especial	41187,3	1	41187,3	2,07	0,1760
Error	238989	12	19915,8		
Total	5,87472E7	20			

En la tabla 4 se presenta el anova ajustado al modelo cuadrático que fue seleccionado anteriormente, en esta se indica que el p-valor de este modelo es <0,05, es decir, que existe una relación estadísticamente significativa entre la capacidad antioxidante y los componentes de la bebida, considerando un nivel de confianza del 95,0 %.

Tabla 4. Anova ajustado al modelo cuadrático para capacidad antioxidante.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo Cuadrático	410652	6	68442	3,18	0,0382
Error total	280214	13	21554.9		
Total (corr.)	690866	19			

En la tabla 5 se presentan los resultados de ajuste del modelo cuadrático para capacidad antioxidante, en la cual se indica el valor estimado para cada uno de los componentes de la bebida refrescante para obtener la ecuación del modelo cuadrático para este parámetro.

Tabla 5. Resultados de ajuste del modelo cuadrático para capacidad antioxidante.

Parámetro	Estimado	Error Estándar
A: Zumo de bilimbi	1635,93	100,122
B: Zumo de sandía	1536,64	100,122
C: Agua	1535,29	100,122

R-cuadrada = 0.594402

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 0.407203

Error estándar del estimado = 146.816

La ecuación del modelo cuadrático ajustado para capacidad antioxidante es:

$$\text{Capacidad antioxidante} = A (1635,93) + B (1536,64) + C (1535,29)$$

La figura 2 (a y b) correspondiente al gráfico de superficie de respuesta estimada y gráfico de contorno de la superficie respectivamente, se obtuvieron mediante la ecuación del modelo cuadrático ajustado para capacidad antioxidante, estas figuras indican que el tratamiento 4 compuesto por 25 % de zumo de bilimbi + 45 % de zumo de sandía + 30 % de agua, se encuentra en el área que alcanzó menor capacidad antioxidante en la bebida refrescante con un valor de 1504,3 μmol Equivalente de Trolox/cm³, mientras que, el tratamiento 7 compuesto por 23,33 % de zumo de bilimbi + 43,33 % de zumo de sandía + 33,33 % de agua, se encuentra en la región con valores más elevados alcanzando un valor de 2082,85 μmol Equivalente de Trolox/cm³.

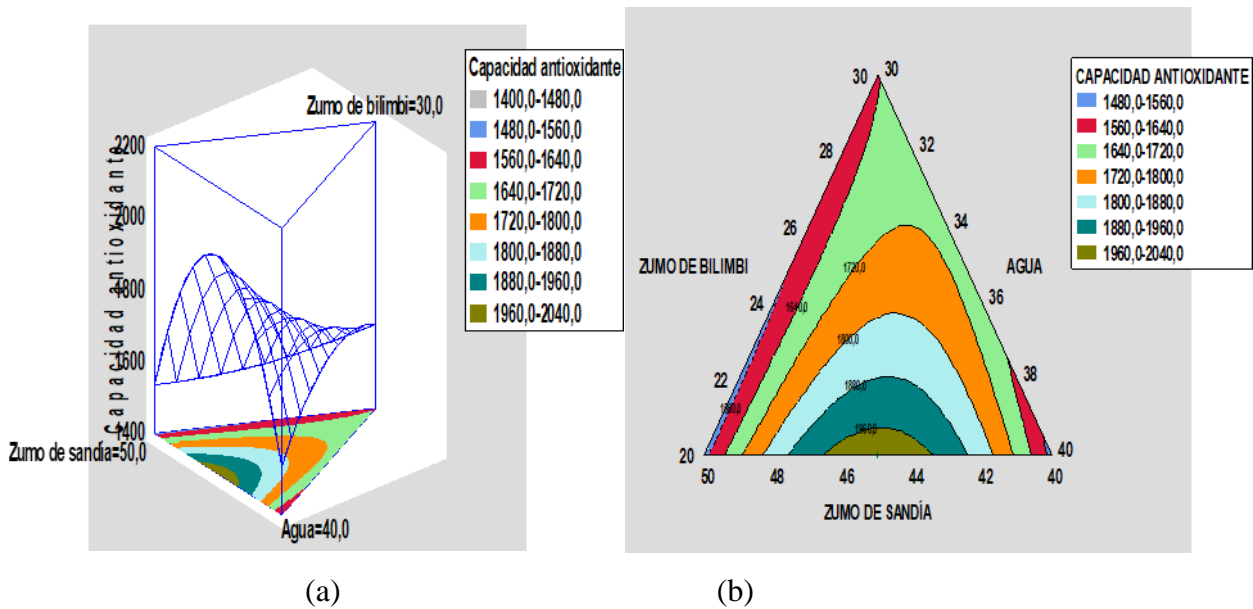


Figura 2. Superficie de respuesta estimada para capacidad antioxidante (a) y contorno (b).

Características fisicoquímicas de la bebida refrescante a base de mezclas de zumos de bilimbi y sandía de acuerdo con la norma técnica NTE INEN 2337

➤ **pH**

En la tabla 6 se muestran los resultados obtenidos después de ajustar los datos de pH a los diferentes modelos, cada modelo muestra un p-valor que prueba si el modelo es estadísticamente significativo, considerando esto, se determina que el modelo cuadrático es el adecuado para los datos porque presenta un p-valor <0,05, lo que indica que el modelo es estadísticamente significativo, y que trabaja con un nivel de confianza del 95,0 %.

Tabla 6. Efectos estimados para el modelo completo de pH.

Fuente	Suma de Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Media	271,437	1	271,437		
Bloques	0,05	1	0,05	0,99	0,3330
Lineal	0,604959	2	0,302479	15,90	0,0002
Cuadrático	0,268755	3	0,0895849	32,74	0,0000
Cúbico Especial	0,00385453	1	0,00385453	1,46	0,2504
Error	0,0317118	12	0,00264265		
Total	272,396	20			

En la tabla 7 se muestra el anova ajustado al modelo cuadrático que fue seleccionado anteriormente, en esta se indica que el p-valor de este modelo es <0,05, es decir, que existe una relación

estadísticamente significativa entre el pH y los componentes de la bebida, considerando un nivel de confianza del 95,0 %.

Tabla 7. Anova ajustado al modelo cuadrático para pH.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo Cuadrático	0,923738	6	0,153956	56,31	0,0000
Error total	0,0355423	13	0,00273402		
Total (corr.)	0,95928	19			

En la tabla 8 se muestran los resultados de ajuste del modelo cuadrático para pH, en la cual se indica el valor estimado para cada uno de los componentes de la bebida refrescante para obtener la ecuación del modelo cuadrático para este parámetro.

Tabla 8. Resultados de ajuste del modelo cuadrático para pH.

Parámetro	Estimado	Error Estándar
A: Zumo de bilimbi	3,17774	0,0356582
B: Zumo de sandía	3,81683	0,0356582
C: Agua	3,58319	0,0356582

R-cuadrada = 0,962949

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 0,945849

Error estándar del estimado = 0,0522879

La ecuación del modelo cuadrático ajustado para pH es:

$$\text{pH} = A (3,17774) + B (3,81683) + C (3,58319)$$

Las figuras 3 (a y b) correspondiente al gráfico de superficie de respuesta estimada y gráfico de contorno de la superficie respectivamente, se obtuvieron mediante la ecuación del modelo cuadrático ajustado para pH, estas figuras indican que el tratamiento 1 compuesto por 30 % de zumo de bilimbi + 40 % de zumo de sandía + 30 % de agua, fue el que obtuvo menor pH en la bebida refrescante con un valor de 3,16, lo cual es favorable para prevenir el crecimiento de bacterias, obteniendo un producto más estable microbiológicamente; mientras que el tratamiento 6 compuesto por 20 % de zumo de bilimbi + 45 % de zumo de sandía + 35 % de agua, fue el que obtuvo mayor pH en la bebida refrescante con un valor de 3,92, lo que puede ser un factor que permita el desarrollo de microorganismos patógenos.

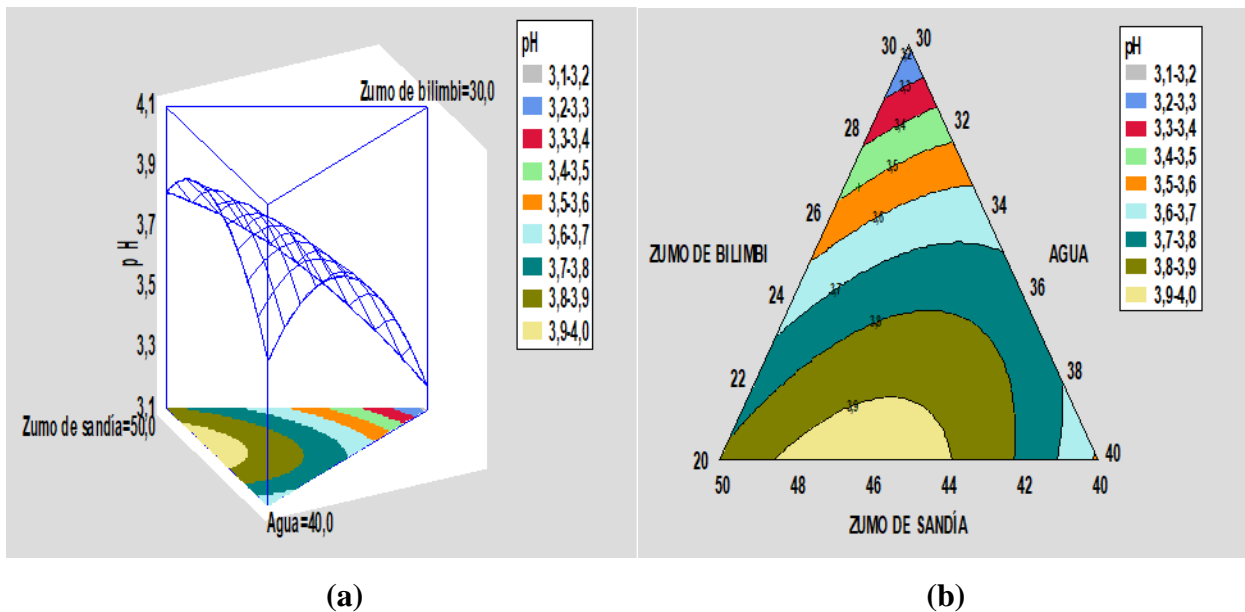


Figura 3. Superficie de respuesta estimada para pH (a) y contorno (b).

➤ **Sólidos solubles (°Bx)**

En la tabla 9 se presentan los resultados obtenidos después de ajustar los datos de sólidos solubles (°Bx) a los diferentes modelos, cada modelo muestra un p-valor que prueba si el modelo es estadísticamente significativo, en este caso el p-valor de todos los modelos es >0,05, lo que indica que ningún modelo es estadísticamente significativo.

Tabla 9. Efectos estimados para el modelo completo de sólidos solubles

Fuente	Suma de Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Media	4263,2	1	4263,2		
Bloques	0,002	1	0,002	0,01	0,9440
Lineal	1,12662	2	0,563312	1,51	0,2509
Cuadrático	2,48635	3	0,828784	3,09	0,0644
Cúbico Especial	0,242537	1	0,242537	0,90	0,3621
Error	3,24249	12	0,270207		
Total	4270,3	20			

En la tabla 10 se presentan los resultados del modelo completo para sólidos solubles, en la cual se pueden observar los estadísticos de error estándar de los estimados, la R-cuadrada y la R-cuadrada ajustada, para cada uno de los modelos, de acuerdo con esto, se determina que el modelo más adecuado es el que maximiza la R-cuadrada ajustada, siendo este el modelo cuadrático.

Tabla 10. Resultados del modelo completo para sólidos solubles

Modelo	ES	R-cuadrada	R-cuadrada ajustada
Lineal	0,61091	15,90	0,13
Cuadrático	0,517763	50,92	28,26
Cúbico Especial	0,519815	54,33	27,69

En la tabla 11 se presenta el anova ajustado al modelo cuadrático que fue seleccionado anteriormente, en esta se indica que el p-valor de este modelo es $>0,05$, es decir, que no existe una relación estadísticamente significativa entre los sólidos solubles y los componentes de la bebida, considerando un nivel de confianza del 95,0 %.

Tabla 11. Anova ajustado al modelo cuadrático para sólidos solubles

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo Cuadrático	3,61382	6	0,602304	2,25	0,1043
Error total	3,48618	13	0,268167		
Total (corr.)	7,1	19			

En la tabla 12 se presentan los resultados de ajuste del modelo cuadrático para sólidos solubles, en la cual se indica el valor estimado para cada uno de los componentes de la bebida refrescante para obtener la ecuación del modelo cuadrático para este parámetro.

Tabla 12. Resultados de ajuste del modelo cuadrático para sólidos solubles

Parámetro	Estimado	Error Estándar
A: Zumo de bilimbi	14,2407	0,353152
B: Zumo de sandía	15,5225	0,353152
C: Agua	14,8771	0,353152

R-cuadrada = 0.508989

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 0,282369

Error estándar del estimado = 0,517849

La ecuación del modelo cuadrático ajustado para sólidos solubles ($^{\circ} Bx$) es:

$$\text{Sólidos solubles } (^{\circ} Bx) = A (14,2407) + B (15,5225) + C (14,8771)$$

La figura 4 (a y b) correspondiente al gráfico de superficie de respuesta estimada y gráfico de contorno de la superficie respectivamente, se obtuvieron mediante la ecuación del modelo cuadrático ajustado para sólidos solubles ($^{\circ} Bx$), en las mismas se observa que el tratamiento 2 compuesto por 20 % de zumo de bilimbi + 50 % de zumo de sandía + 30 % de agua, y el tratamiento 5 compuesto por 25 % de zumo de bilimbi + 40 % de zumo de sandía + 35 % de agua, se ubicaron en el área con mayor porcentaje de sólidos solubles con un valor de 15,45 $^{\circ} Bx$ en ambos tratamientos, sin embargo, estos valores superan a los límites permitidos en la NTE INEN 2304. Por otro parte, el tratamiento 7

compuesto por 23,33 % de zumo de bilimbi + 43,33 % de zumo de sandía + 33,33 % de agua, obtuvo un porcentaje de 14,85 °Bx, correspondiente a la región del rango de 14,8 a 15,1 °Bx, valores que se encuentra dentro de los límites permitidos por la normativa vigente.

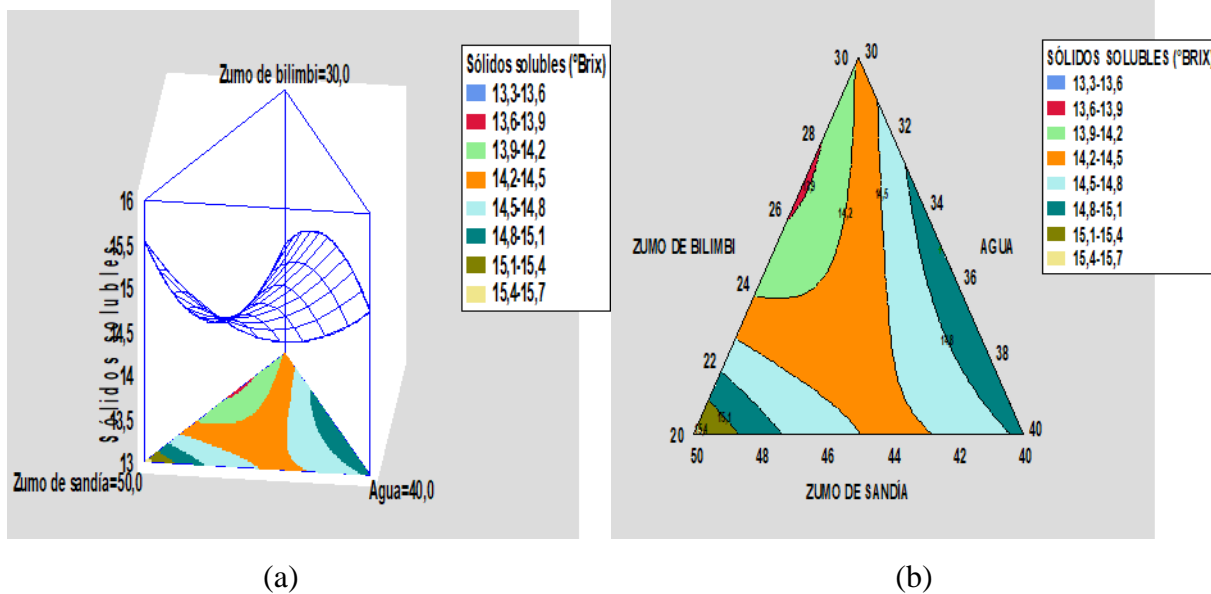


Figura 4. Superficie de respuesta estimada para sólidos solubles (a) y (b).

➤ Viscosidad

En la tabla 13 se muestran los resultados obtenidos después de ajustar los datos de viscosidad a los diferentes modelos, cada modelo muestra un p-valor que prueba si el modelo es estadísticamente significativo, en este caso el p-valor de todos los modelos es >0,05, lo que indica que ningún modelo es estadísticamente significativo.

Tabla 13. Efectos estimados para el modelo completo de viscosidad.

Fuente	Suma de Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Media	61,25	1	61,25		
Bloques	0,018	1	0,018	0,36	0,5586
Lineal	0,0605554	2	0,0302777	0,57	0,5772
Cuadrático	0,0150494	3	0,00501646	0,08	0,9708
Cúbico Especial	0,00078484	1	0,00078484	0,01	0,9172
Error	0,83561	12	0,0696342		
Total	62,18	20			

En la tabla 14 se muestran los resultados del modelo completo para viscosidad, en la cual se pueden observar los estadísticos de error estándar de los estimados, la R-cuadrada y la R-cuadrada ajustada, para cada uno de los modelos, de acuerdo con esto, se determina que el modelo más adecuado es el que maximiza la R-cuadrada ajustada, en este caso todos los modelos serian adecuados; sin embargo,

si se considera el valor máximo de la R-cuadrada se determina que el modelo más adecuado para los datos es el cúbico especial.

Tabla 14. Resultados del modelo completo para viscosidad.

Modelo	ES	R-cuadrada	R-cuadrada ajustada
Lineal	0,230684	8,45	0,00
Cuadrático	0,25365	10,07	0,00
Cúbico Especial	0,263883	10,15	0,00

En la tabla 15 se presenta el anova ajustado al modelo cúbico especial que fue seleccionado anteriormente, en esta se indica que el p-valor de este modelo es >0,05, es decir, que no existe una relación estadísticamente significativa entre la viscosidad y los componentes de la bebida, considerando un nivel de confianza del 95,0 %.

Tabla 15. Anova ajustado al modelo cúbico especial para viscosidad.

Fuente	Suma de Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo Cúbico Especial	0,0944192	7	0,0134885	0,19	0,9810
Error total	0,835581	12	0,0696317		
Total (corr.)	0,93	19			

En la tabla 16 se muestran los resultados de ajuste del modelo cúbico especial para viscosidad, en la cual se indica el valor estimado para cada uno de los componentes de la bebida refrescante para obtener la ecuación del modelo cúbico especial para este parámetro.

Tabla 16. Resultados de ajuste del modelo cúbico especial para viscosidad.

Parámetro	Estimado	Error Estándar
A: Zumo de bilimbi	1,80307	0,180375
B: Zumo de sandía	1,68944	0,180375
C: Agua	1,85307	0,180375

R-cuadrada = 0,101526

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 0,0

Error estándar del estimado = 0,263878

La ecuación del modelo cúbico especial ajustado para viscosidad es:

$$\text{Viscosidad} = A (1,80307) + B (1,68944) + C (1,85307)$$

La figura 5 (a y b) correspondiente al gráfico de superficie de respuesta estimada y gráfico de contorno de la superficie respectivamente, se obtuvieron mediante la ecuación del modelo cúbico especial para

viscosidad, en las cuales se observa que no existe mayor diferencia del resultado de viscosidad entre las diferentes proporciones de los componentes.

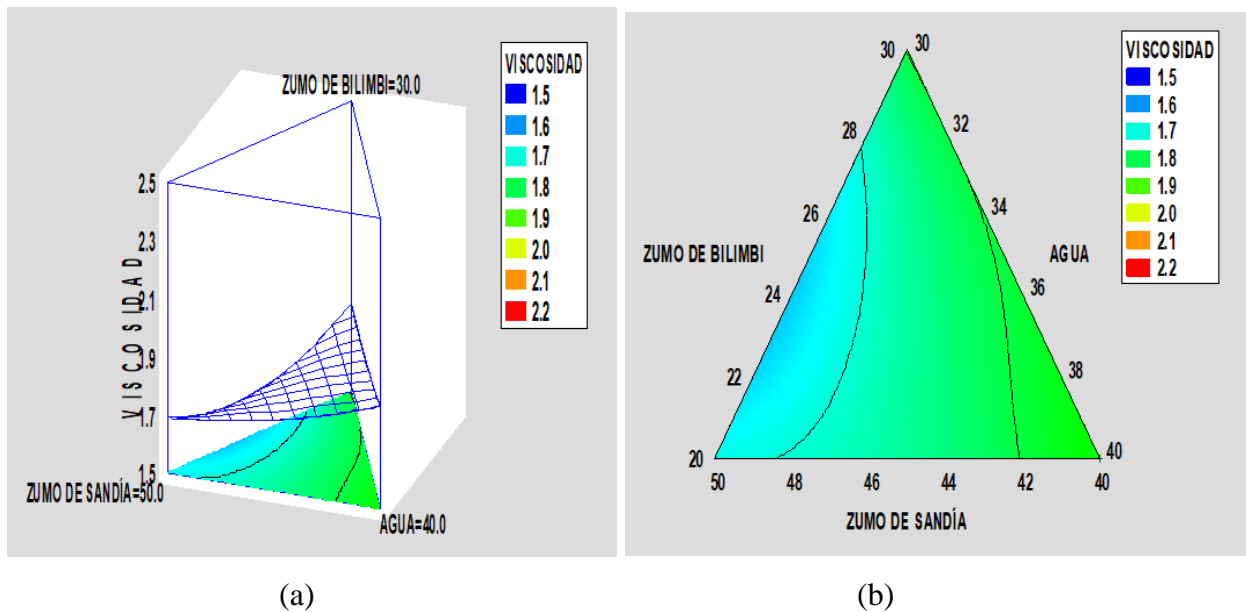


Figura 5. Superficie de respuesta estimada para viscosidad (a) y contorno (b).

Mejores tratamientos

En la tabla 17 se muestran los promedios de los resultados obtenidos en los análisis de capacidad antioxidante y fisicoquímicos de los mejores tratamientos.

Tabla 17. Promedios de los resultados de capacidad antioxidante y características fisicoquímicas de los mejores tratamientos.

Tratamientos	Capacidad antioxidante (µmol Trolox Equivalente/cm ³ de bebida)		pH de	Sólidos solubles (°Brix)	Viscosidad (mPa.S)
T1	1660.45		3.16	14.30	1.85
T6	1992.65		3.92	14.80	1.65
T7	2082.85		3.78	14.85	1.60
T10	1599.30		3.82	13.80	2.30

Valores óptimos

En la tabla 18 se presentan los valores óptimos obtenidos mediante el análisis de los datos en el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI.I para cada una de las variables evaluadas. En la misma se observa la formulación óptima para maximizar los valores de capacidad antioxidante y viscosidad en la bebida refrescante, mientras que, se busca mantener el pH en 3.5 para prevenir el desarrollo de microorganismos y mantener los sólidos solubles en 15°Brix con el propósito de cumplir con la NTE INEN 2337.

Tabla 18. Formulación óptima de los componentes de la bebida para las diferentes variables evaluadas

Variables evaluadas	Meta	Formulación óptima de los componentes de la bebida			Valor óptimo
		Zumo de bilimbi (%)	Zumo de sandía (%)	Agua (%)	
Capacidad antioxidante (μmol Trolox/cm³)	Maximizar	20	45.0036	34.9964	2008.0
pH	Mantener el pH 3.5	26.5898	43.0196	30.3906	3.5
Sólidos solubles (° Bx)	Mantener los sólidos solubles en 15 ° Bx	24.9056	40.0817	35.0127	15.0
Viscosidad (mPa.s)	Maximizar	20	40	40	1.85307

Discusión

Considerando los resultados obtenidos en el análisis de capacidad antioxidante de la bebida refrescante, se establece que los mejores tratamientos son los que presentan mayores valores en este parámetro, siendo estos el T6 y T7 con un promedio de 1992.65 μmol Trolox Equivalente/cm³ de bebida y 2082.85 μmol Trolox Equivalente/cm³ de bebida, respectivamente.

Estos valores difieren con los reportados en una investigación en la cual se evaluó la capacidad antioxidante de una bebida funcional a base de carambola y granadilla, resultando como formulación óptima la combinación de 50% zumo de carambola y 50 % zumo de granadilla, obteniéndose un valor de 53.80 ± 0.85 μmol Trolox Equivalente/cm³ de capacidad antioxidante¹⁵. De igual manera, se determinó la capacidad antioxidante de una bebida refrescante y funcional elaborada a partir de pulpa de piña y gel de sábila, alcanzando un valor de 10.495 ± 0.193 μmol Trolox/100 cm³ de capacidad antioxidante a los 15 días de almacenamiento¹⁶.

Sin embargo, también se reportan resultados de 783.52 μmol Trolox/100 cm³ de capacidad antioxidante en una bebida funcional a base de tuna blanca y uvilla¹⁷. Además, en una bebida a base

de sábila y Jamaica se alcanzaron valores de 1858.6 mg Trolox/100 cm³ y 1892.6 mg Trolox/100 cm³ de capacidad antioxidante, en formulaciones de sábila al 5 % + Jamaica al 0.9 % y sábila al 7 % + Jamaica al 0.9 %, respectivamente¹⁸. Siendo estos resultados los más cercanos a los obtenidos en esta investigación.

En cuanto a las características fisicoquímicas de la bebida refrescante, la NTE INEN 2337:2008, indica que el pH debe ser inferior a 4.5, considerando los resultados obtenidos en este parámetro, todos los tratamientos se encuentran dentro de los límites permitidos por la normativa; sin embargo, se determinó que el tratamiento 1 al presentar un valor de 3.16 siendo el pH más bajo era el mejor tratamiento. El pH es un factor que se debe tener en cuenta para el control del desarrollo de los microorganismos, si bien la mayoría de bacterias y hongos se desarrollan en pH igual o mayores a 6.0, algunas también crecen en pH bajos (1.0-3.0)¹⁹.

En la investigación de una bebida funcional elaborada con zumos de carambola y granadilla, se obtuvo un valor de 3.76 de pH¹⁵. De manera similar, se alcanzó un valor de 3.8 de pH en la bebida funcional a base de sábila y Jamaica¹⁸. Estos valores son similares a los obtenidos en los diferentes tratamientos evaluados de esta investigación.

La NTE INEN 2304:2017, indica que los sólidos solubles (°Brix) de los refrescos o bebidas no carbonatadas debe ser de máximo 15°Brix, observando los resultados obtenidos en este parámetro, se establece que los tratamientos 2, 3 y 5 superan el límite máximo de la normativa vigente; los demás tratamientos presentan valores menores; sin embargo, se determinó a los tratamientos 6 y 7 con valores de 14.80 °Brix y 14.85 °Brix respectivamente.

Los valores obtenidos difieren con los reportados en la investigación de una bebida de zumos de carambola y granadilla, en la cual se obtuvo un valor de 13.0 °Brix¹⁵. Por su parte, en la bebida elaborada a base de tuna blanca y uvilla se alcanzó un valor de 12.5 °Brix¹⁷.

De acuerdo con los resultados obtenidos para el parámetro de viscosidad, se establece que el tratamiento 10 es el mejor, siendo el que presenta mayor viscosidad con un valor de 2.3 mPa.s. Este valor es diferente al obtenido en un néctar mix de cítricos con sábila, el cual alcanzó un valor de 1.133 mPa.s de viscosidad.

Conclusiones

Se determinó que la capacidad antioxidante de la bebida refrescante bilimbi y sandía oscila entre rangos de 1504.3 a 2082.85 µmol Equivalente aTrolox/cm³ de bebida, siendo los tratamientos 6 y 7 los de mayor valor obtenido, con 1992.65 µmol Equivalente de Trolox /cm³ de bebida y 2082.85 µmol Equivalente de Trolox /cm³ de bebida, respectivamente.

Las propiedades fisicoquímicas de la bebida refrescante incluyen un pH que varía entre 3.16 y 3.92, valores que se encuentran dentro del rango aceptable según la NTE INEN 2337. En sólidos solubles estos oscilan entre 13.75 y 15.45 °Brix, algunos de los cuales superan el límite máximo establecido por la normativa vigente. Por último, la viscosidad se sitúa entre 1.60 y 2.30 mPa.s.

Referencias

1. Cárdenas, G., Arrazola, G., & Villalba, M. Frutas tropicales: fuente de compuestos bioactivos naturales en la industria de alimentos. *Revista de la Facultad de Ingeniería INGENIUM*. 2016;17(33):29-40.
2. Pacherre, L. G. Comercialización de los frutos de sandía (*Citrullus lanatus*, L.) en la Costa Ecuatoriana. Universidad Técnica de Babahoyo, Babahoyo. 2022.
3. Nunes, J., Pinheiro, H., Ceres, D., Landulfo, R., & Morais, L. Chemical composition, vitamins, and minerals of family farming biribiri (*Averrhoa bilimbi* L.) in the Middle Doce River region, Minas Gerais, Brazil. *Ciencia Rural*. 2022; 52(3).
4. Flores, C. Efecto de la concentración de extracto de hojas de Moringa (*Moringa oleífera*) y Chía (*Salvia hispánica* L.) sobre las características fisicoquímicas y sensoriales de una bebida funcional. Tesis de grado. Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo-Perú. 2022.
5. Sánchez, N., Sepúlveda, J., & Rojano, B. Desarrollo de una bebida láctea con extractos de curuba (*Passiflora mollissima bailey*) como antioxidante natural. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 2013; 11(1), 164-173.
6. Solano, D., & Coello, J. Elaboración y Análisis proximal de la harina de sandía en 2 variedades diferentes (*Citrullus lanatus*, *Charleston Gray* y *Crimsoon Sweet*). Universidad de Guayaquil, Guayaquil. 2020.
7. Nunes, E. Caracterización fisicoquímica, polifenoles y actividad antioxidante en frutos de biribiri (*Averrhoa bilimbi* L.). Instituto Federal de Educación, Ciencia y Tecnología de Piauí, Teresina. 2017.
8. NTE INEN 2337. Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. Requisitos. 2008.
9. Google Maps. Carrera de Agroindustria de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí. 2023. Latitud 49°35.25' S; longitud 80°11'10.54" W.

10. Google Maps. Universidad Técnica de Manabí: Extensión Chone. 2023. Latitud 41°15.8' S; longitud 80°07'25.4" W.
11. Ramos, C. Diseños de investigación experimental. *Revista CienciAmérica*. 2021; 10(1).
12. NTE INEN 1842. Productos vegetales y de frutas – Determinación de pH (IDT). 2013.
13. NTE INEN ISO 2173. Productos vegetales y de frutas – Determinación de sólidos solubles – Método refractométrico (IDT). 2013.
14. Zenil, N., Colinas, M., Bautista, C., Vázquez, T., Lozoya, H., & Martínez, M. Fenoles totales y capacidad antioxidante estimada con los ensayos DPPH/ABTS en rosas en soluciones preservantes. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 2014; 5(6).
15. Arauzo, J. Capacidad antioxidante y polifenoles de una bebida funcional de carambola (*Averrhoa carambola L.*) y granadilla (*Passiflora ligularis*). Universidad Nacional del Centro de Perú, Junín-Perú. 2021.
16. Pezo, J. Capacidad antioxidante de una bebida refrescante y funcional, elaborada a partir de pulpa de piña (*Ananas comosus*) variedad Golden y sábila (*Aloe Vera L.*). Universidad Nacional de Ucayali, Pucallpa-Perú. 2023.
17. Ticsihua, J., & Orejon, T. Evaluación del efecto de concentración en una bebida funcional a partir de tuna blanca (*Opuntia ficus*) y aguaymanto (*Physalis peruviana*). *Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinarias*. 2022; 6(18), 383-392.
18. Pérez, D. Desarrollo de una bebida a base de sábila (*Aloe Vera*) y jamaica (*Hibiscus sabdariffa*). Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Chachapoyas-Perú. 2021.
19. Cervantes-Martínez, J., Orihuela-Equihua, R., & Rutiaga-Quiñones, J. Acerca del desarrollo y control de microorganismos en la fabricación de papel. *Conciencia Tecnológica*. 2017; (54), 54-58.

/ **Received:** 23 May 2024 | **Accepted:** 13 June 2024 | **Published:** 15 June 2024 |

Citation: Moreira, D. Q, Félix, Loor, H.; Muñoz, L. Capacidad antioxidante y caracterización fisicoquímica de una bebida refrescante con zumos de bilimbi y sandía. *Bionatura*. 2024;9(2) DOI: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.8>.

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>.

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.


Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



9 Enfoque de la teoría tridimensional de la contabilidad (T3C): Un análisis de la valoración patrimonial de las Pymes Agrícolas de la Región 4 del Ecuador.

Approach of the three-dimensional accounting theory (t3c): an analysis of the equity valuation of agricultural SMEs in region 4 of Ecuador.

Carlos Monar Merchán ¹*; Silvia Valle Jaramillo ²; María Irasema Delgado Chávez ³.

^{1;2;3} Affiliation: Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí (Uleam) / Manta / Ecuador;

*Correspondence: carlos.monar@uleam.edu.ec

Available from: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.9>

Resumen

La teoría tridimensional de la contabilidad se basa en tres dimensiones autónomas e interrelacionadas: la contabilidad frente a los enfoques de ambiente, sociedad y economía, los cuales proponen ejercer el papel de perito en la transición ecológica hacia la sustentabilidad ambiental de la actividad económica con mayor impacto ambiental, es decir, la agricultura, debido a la expansión de su frontera productiva. El objetivo fue analizar la aplicación de la T3C en el sector de las Pymes Agrícolas de la Región 4 del Ecuador (PADE's) y su valor patrimonial aplicando las NIIF. La metodología se enmarcó en la revisión bibliográfica y documental existente de datos, información y conocimiento, con un enfoque cualitativo o crítico social, con un nivel descriptivo y, en su dinámica, avanzar en el futuro hacia el nivel correlacional o explicativo. La deducción de la T3C en las PADE se realizó mediante el análisis de las variables y dimensiones que apoyan la sustentabilidad del ser humano. El resultado principal radica en proveer al sector de una herramienta de control tridimensional que, utilizando las NIIF, genera una propuesta de matriz productiva que interpreta el valor patrimonial para la toma de decisiones de inversión en el sector agrícola. A partir del resultado, se obtiene conocimiento sobre las nuevas alternativas de inversiones, ingresos, costos y gastos de las PADE's, lo que posibilitó medir la solvencia, eficiencia, rentabilidad económico-financiera, y beneficios socioeconómicos y ambientales, permitiendo conocer el valor patrimonial de las PADE's y su influencia en la sustentabilidad de estas.

Palabras clave. Teoría tridimensional de la Contabilidad (T3C); Pymes Agrícolas (PADE); Normas Internacionales de Información Financiera (NIIF), valor patrimonial, sustentabilidad.

Abstrac

The three-dimensional accounting theory is based on three autonomous and interrelated dimensions: accounting versus the environment, society, and economy. This theory aims to serve as an expert guide in the ecological transition toward environmental sustainability of economic activities, particularly those with the greatest environmental impact, such as agriculture, due to the expanded productive frontier. The objective was to analyze the application of T3C in the agricultural sector of Region 4 of Ecuador (pades) and its equity value by applying IFRS. The methodology involved a bibliographic and documentary review of existing data, information, and knowledge, employing a qualitative or social critical approach at the descriptive level. The study's dynamics progress toward correlational or explanatory levels in the future. The deduction of the T3C in the PADE was carried out through an analysis of the variables and dimensions that support the sustainability of human beings. The main result lies in providing the sector with a three-dimensional control tool that, using IFRS, generates a productive matrix proposal that interprets the equity value for investment decision-making in the agricultural sector. From the results, knowledge about new investment alternatives, income, costs, and expenses of pades are obtained. This allowed for the measurement of solvency, efficiency, economic-financial profitability, and socioeconomic and environmental benefits, thus enabling an understanding of pade equity value and its influence on their sustainability.

Keywords. Three-dimensional theory of accounting;; Agricultural SMEs; International Financial Reporting Standards; equity value; sustainability.

Introducción

Los nuevos paradigmas de la contabilidad se están construyendo a partir de las necesidades y problemas que el mundo atraviesa¹. Si partimos de que la evolución de esta ciencia y su interacción con otras disciplinas consiste en "aprender, evolucionar y dar respuestas principalmente a los problemas"² propios de la sociedad y la naturaleza, y que junto a otras ciencias como la economía y la administración generan una sinergia desde las ciencias sociales³, se puede definir un paradigma normativo orientado a la sostenibilidad económica, social y ambiental. Este paradigma está basado en la sustentabilidad global, en respuesta a aquellas generaciones que dilapidaron los recursos y deterioraron las relaciones de las especies vivas con la naturaleza y la sociedad⁴.

La contabilidad tridimensional surge como un enfoque teórico y práctico de la "bio contabilidad, socio contabilidad y contabilidad económica, con acciones encaminadas a proteger el clima, la vida submarina, ecosistemas terrestres, reducción de desigualdades, educación de calidad, trabajo decente, crecimiento económico y la reducción de pobreza"⁵, aplicando las NIIF, pueden incidir positivamente en los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS).

De esta manera, la sustentabilidad mediante la contabilidad se convertiría en la ciencia social que “mediante la investigación, enriquezca, renueve, dinamice y permita cumplir su propósito a la primera para que el ser humano, enfrente los desafíos del nuevo milenio”⁶, “como es la necesidad del buen vivir de este”⁷.

La T3C, es un enfoque de análisis a la citada necesidad, la cual establece una perspectiva holística, integradora⁸ y a la vez amplia de la evaluación de los tipos de riqueza, para lo cual se necesitan desarrollar nuevos modelos contables, que fundamente “la biocontabilidad, socio contabilidad y la contabilidad económica”⁹, esto garantizaría un “tratamiento ontológico de esta”¹⁰, que se den fe pública y garantía de la información para la rendición de cuentas necesaria y suficiente, para la toma de decisiones, que contribuya a la sostenibilidad integral de la riqueza en las dimensiones expuestas. Desde un enfoque práctico, la T3C y su desarrollo, se encuentra en una fase embrionaria, esto es, obedece a desarrollos emergentes, incluso en construcción¹¹, aún se requiere que mediante investigaciones pertinentes de profesionales e investigadores de las ramas relacionadas del conocimiento, se enfrente las crisis ambientales y sociales, no solamente en las economías locales sino mundiales, exista analogía con las ciencias básicas, fácticas, naturales, sociales y humanas, frente a los objetivos de desarrollo sostenible; se requiere entonces se “estudie y valore en forma cualitativa y cuantitativa, la existencia y circulación de la riqueza”¹², reconociéndose incluso los aportes de los conocimientos del valor patrimonial de las PADE’s agrícolas, que son parte de la masa crítica de saberes prácticos de la Zona 4 de Manabí Ecuador.

La investigación realizada sobre la Teoría Tridimensional de la Contabilidad T3C, en los “países en vías de desarrollo y en particular los latinoamericanos, resisten su economía sobre la base de las micro, pequeñas y medianas empresas (MiPymes), muchas de ellas del sector agrícola”¹³. Por tal razón se esboza “Unidades de Valor Ambiental y Social, elementos como la dinámica demográfica, producción, consumo y presión sobre la naturaleza, informes del cambio climático, huella ecológica, energía de fuentes fósiles y alternativas, son temas mundiales, del sector público y privado”¹⁴.

Lo anteriormente expuesto permite formular la pregunta problemática ¿Cuáles son los valores social, ambiental y económico, para promover el desarrollo de una cultura de sostenibilidad de las Pymes agrícolas a partir de la Contabilidad y la aplicación de las NIIF y su valoración del patrimonio? El objetivo del trabajo es presentar una herramienta que permita dar el valor patrimonial de las Pymes Agrícolas con el apoyo de las NIIF, en relación con el valor social, ambiental y económico, con el fin de promover el desarrollo económico de estas en la Región 4 del Ecuador (Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas)¹⁵. Los avances de la teoría tridimensional y las normas contables internacionales, servirá para la discusión, reflexión y análisis principalmente del sector de mayor incidencia en las economías¹⁶.

Materiales y métodos

La investigación fue desarrollada en un nivel descriptivo, explicativo y propositivo. Desde lo primero por cuanto se identificaron las dimensiones de la contabilidad tridimensional que forman parte de la interdisciplinariedad como son principios de un modelo contable que contribuya a transparentar “la acumulación, generación y sustentabilidad de la riqueza ambiental, económica y social”¹⁷.

Explicativa porque permitió familiarizarse con la teoría tridimensional de la contabilidad y su aplicación en la valoración patrimonial de las PADE's y diseñe una herramienta estructural (Modelo de Guilford) que permita en el futuro probar su utilidad¹⁸. De la misma manera, la sustentabilidad agrícola¹⁹ aportará la contabilidad en las dimensiones social, económica y ambiental, son de manera general; sin embargo, fue factible operacionalizar para ser tratado como el tipo modelo explicativo de Guilford, con sus componentes de contenidos, operaciones y productos²⁰, para ser relacionadas con las normas y sistemas contables o propuestas teóricas de mayor cobertura en la doctrina de la contable. Es una investigación descriptiva por cuanto la situación y los resultados contables existentes delinean las características actuales de la realidad de estas unidades empresariales, principalmente se les comprendió su naturaleza, tipo de constitución y actividad económica a la cual pertenecen de manera más exacta²¹ por cuanto la situación y los resultados contables estudiados, producto de la cualificación de las dimensiones de la teoría a tridimensional de la contabilidad, estudiadas pudieron generar un conocimiento del patrimonio social, ambiental y económico de las PADE's.

Propositiva porque permite mostrar como ejemplo los avances en la teoría tridimensional de la contabilidad aplicando las NIIF en las Pymes Agrícolas de la Región 4 del Ecuador, principios de la inclusión del valor social, ambiental y también el cultural, para proponer una herramienta para el desarrollo de la sustentabilidad de estas.

El uso del método inductivo permitió la identificación particular²² de la normas contables denominadas NIIF, que son grandes vademécum que describen detalladamente los casos, pero cada dimensión tratada necesitó incorporar indicadores que miden el valor patrimonial de las PADE's, aplicando la teoría tridimensional de la contabilidad, deduciendo los criterios específicos desarrollados en el modelo (matriz) para que sean usados en los sistemas contables de la biocontabilidad, socio contabilidad y contabilidad económica.

El enfoque del trabajo es también cualitativo porque se ha interpretado las características, elementos y factores de la Teoría Tridimensional de la Contabilidad de las Pymes Agrícolas que son sociedades jurídicas en la provincia de Manabí y aplican las NIIF, para la presentación de los estados financieros y por ende valoran o no su patrimonio, en elementos comprensibles. Para este propósito, se utilizaron las fuentes documentarias que han presentado en la entidad de control denominada Superintendencia

de Compañías y existe en la base de datos del Instituto Ecuatoriano de Estadísticas y Censos; por ser entes rectores y reguladores de datos contables vigentes, las dimensiones doctrinales, teóricas y sus actividades tradicionales y actuales.

La población sujeta al estudio corresponde a las sociedades jurídicas obligadas a llevar contabilidad en la Región 4 del Ecuador (Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas) dedicadas a las actividades agrícolas de acondicionamiento y mantenimiento de terrenos; plantación o siembra de cultivos, cosecha y postcosecha; labores culturales de poda trasplante de árboles frutales y cultivos de ciclo corto; y, manejo de sistemas de riego con fines agrícolas. Por tanto, son organizaciones, lo que corresponde a una población finita.

Tabla 1. Cantidad de Pymes Agrícolas (PADE’s) de la Región 4 del Ecuador (Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas).

Pymes Agrícolas	Años								
	2016	2017	2018	2019	2020*	2021*	2022*	2023*	
PADE’s Obligadas contabilidad	696	731	739	665	718	776	838	906	
PADE’s Personas Jurídicas	308	341	396	419	455	494	537	583	
* Valor Proyectado									
Población del Estudio									583
Muestra Estadística									232

fuente: INEC- Ecuador

La muestra de una población finita de 232 corresponde las mismas organizaciones, cuyas características es ser personas jurídicas, estar obligadas a llevar contabilidad y se dedican a la actividad agrícola, son con las cuales se realizó la investigación, que están ubicadas a lo largo del territorio de la Región 4 del Ecuador.

El instrumento de investigación fue la encuesta, es decir, por estratos ya que de las 232 PADE’s el 78,50% son pequeñas y el 21,50% medianas empresas.

Tabla 2. Población y Muestra estratificada.

	Población	Muestra
Pequeñas empresas	458	182
Medianas Empresas	125	50
Total	583	232

El conocimiento logrado y la participación en la problemática planteada, el proceso básico consiste

en:

- a) Se ha caracterizado el valor social, ambiental y también el económico, aplicando la NIIF- 22 para Pymes y valorando el patrimonio de las PADE's de la Región 4 del Ecuador, es decir, la situación actual de la T3C;
- b) El cuestionario preparado fue en función de la encuesta fue aleatorio a la base de datos del Servicio de Rentas Internas (SRI) direcciones provinciales de Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas.
- c) Los expertos que validaron la encuesta y estratificaron la muestra fueron los académicos de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.
- d) El instrumento aplicado fue la encuesta enviada mediante la aplicación *Forms de Microsoft 365* con licencia de la Uleam, con la participación de docentes universitarios, encargados de la gestión de las PADE's, especialistas para hacer un grupo de control; sobre la base de las respuestas se realizó el análisis de las dimensiones e interpretación de los indicadores. Además, se agregó, algunos aportes de expertos que han escrito sobre este sector de la economía y que tienen conclusiones plasmadas en artículos científicos sobre la T3C.

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos tienen que ver el análisis de la aplicación de la T3C en el sector de las Pymes Agrícolas de la Región 4 del Ecuador (PADE's) y su valor patrimonial aplicando las NIIF. Los resultados obtenidos tienen que ver *primeramente* con la teoría tridimensional de la contabilidad como nuevo paradigma que permita mediante la aplicación de un modelo propio, generar un mecanismo de valorar el patrimonio en forma real de las PADE's. En la investigación realizada se pudo establecer que un 75,1% de la población de estas, está de acuerdo para incluir en el activo un nuevo valor económico, ambiental y social, que por partida doble iría a una cuenta de patrimonio como reserva para futuras capitalizaciones.

En segundo lugar, el 81,3% de la población de PADE's de la Región 4 de Ecuador, está de acuerdo incluir como valor patrimonial a las mejoras ambientales y la responsabilidad social que estas empresas brindan a la humanidad, deben ser un activo con licencias otorgadas como incentivos por los organismos rectores de la actividad económica y financieras de las PADE's.

En tercer lugar, la mayoría (50,1%) de la población de las Pymes Agrícolas de la Región 4 del Ecuador está de acuerdo que para valorarse patrimonialmente deben considerarse indicadores como: la productividad, empleo, valor agregado, la protección de los recursos naturales, medios de vida, desarrollo económico inclusivo, empoderamiento de las familias y empoderamiento de las autoridades o gobernanza.

En cuarto lugar, la población de PADE’s en un 75% cree que el problema principal a solucionarse para la sostenibilidad de las mismas radica en los procesos y operaciones agrícolas, que deben ser cuidadosamente tratados para que los impactos al ambiente, sociedad y economía sean positivos; la mejora del conocimiento de la sostenibilidad de la PADE’s radica en generar una cultura de buenas prácticas agrícolas; y, los bienes que producen fruto de la actividad agrícola contengan las características de desarrollo ambiental, social y económico de la población donde tienen influencia. Como producto de la investigación y aplicando el modelo explicativo utilizando tres parámetros de análisis para la creación del valor patrimonial que tiene la contabilidad esto es operaciones, activos que es la inversión de las Pymes y Pasivo más Patrimonio que es el financiamiento de estas.

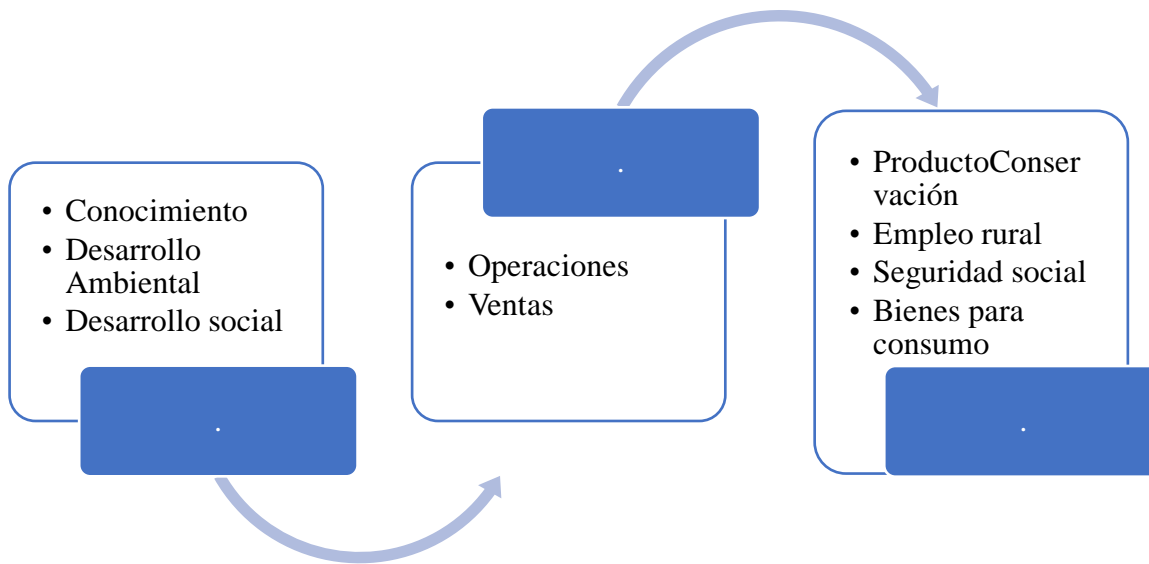


Figura 1. Modelo de análisis de la valoración patrimonial aplicando la Teoría Tridimensional de la Contabilidad²⁰.

Estado de situación financiera				Estado de operación			
Activo		Pasivos		Ventas			
Activo corriente		Pasivo corriente		Ventas			225000
Caja Bancos	1200	Ctas x Pagar	5000	Costo de ventas			75000
Cuentas x cobrar	2300	Documentos por pagar	1200	Utilidad Bruta			150000
Documentos x cobrar	500	Provisiones gastos y costos	3400	Gastos administrativos			24000
Inventarios insumos y materiales	500	Prestamos de corto plazo	3000	Gastos de ventas			16000
Inventarios de productos finca	2500	Subtotal pasivo corriente	12600	Gastos depreciaciones			36000
Subtotal activo corriente	7000	Pasivo largo plazo		Otros Gastos			14500
Propiedad planta y equipo	150000	Prestamos de largo plazo	45000	Utilidad de operación			59500
Depreciación Acum.	-15000	Subtotal pasivo de L/P	45000	Gastos financieros			1200
Subtotal Propiedad Planta y equipo	135000	Patrimonio		Utilidad antes de Impuestos			58300
Activos Diferidos		Capital social		Impuestos			14500
Programas y Proyectos	2500	Capital pagado	800	Otros tributos			1200
Subtotal Activo Diferido	2500	Capital suscrito	5000	Utilidad Neta			42600
Otros Activos		Aportes Futuras Capitalizaciones	30000	Apreciación por conservación			12000
Good Will	12000	Utilidades Acumuladas	3500	Apreciación por responsabilidad social			15000
Certificaciones ambientales	5000	Utilidades Patrimonial	69600	Utilidad patrimonial			69600
Certificaciones de responsabilidad Social	5000	Subtotal patrimonio	108900				
Subtotal Otros Activos	22000	Total Pasivo y Patrimonio	166500				
Total Activo	166500						

Figura 2. Ejemplo de Estados de Situación y Operación de una Pyme Agrícola

Fuente: PADE´s de la Región 4 Ecuador

Luego del análisis de las NIIF (22) y la investigación realizada, en lo ambiental y social, el mecanismo dice que “Patrimonio es la participación residual en los activos de una entidad, una vez deducidos todos sus pasivos”²³. Por tanto, en la actualidad no permite contabilizar valor alguno que no sea bajo la estructura existente. Por tal razón, esta herramienta y mecanismo propuesto consiste a afectar a las cuentas Apreciación por conservación y apreciación por responsabilidad social, mismo que afectará al estado de operación posterior a la declaratoria de impuestos; los valores a ser agregados serán todos aquellos gastos, costos e inversiones que sean contabilizados en las certificaciones de *Woodwill*, certificados Ambientales y Certificados de Responsabilidad Social, mismo que se cargaron al Activo y como contraparte irán en la Utilidad Patrimonial.

En cuanto a los económico se puede identificar tres tendencias en la formulación de la teoría del valor: Al citar la teoría clásica de Smith-Ricardo: el valor es creado por la conjunción de factores, tierra, capital y trabajo, todos estos factores no pueden prescindir de una explicación conjunta, es decir no pueden explicarse individualmente en cuanto a la creación de valor, como valor de cambio o valoración monetaria (Criterio objetivo de valor). Por lo tanto, el patrimonio de las Pymes Agrícolas al tener estas tres generan un inmenso valor sumado a la cultura de sostenibilidad (suma del valor social, ambiental y económico), por tanto, deben ser cuantificados y registrados contablemente.

Según la teoría del valor y trabajo (empleo digno), referido de Karl Marx “el valor es creado por el trabajo humano socialmente necesario, acumulado en el producto, que tiene valor de uso, valor de cambio o monetario, que es el criterio objetivo de valor, sin embargo, en la responsabilidad social de las PADE´s, debería retribuirse aquellas que generan un ingreso para las familias que prestan sus servicios, más aún si son del lugar donde se va a conservar la naturaleza y la vida.

De la misma manera según Menger-Dupuit-Jevons, coinciden sobre teoría neoclásica del valor y utilidad, que este es asignado a partir de la utilidad, beneficio o escasez, que preste a un consumidor, que lo valora en unidades monetarias, por la satisfacción o consumo, siendo un criterio subjetivo de valor.

Los dos enfoques de valoración coexisten en el modelo de la teoría tridimensional de la contabilidad, más aún en las PADE´s de la Región 4 Ecuador, puesto que en estas aún existe el trabajo físico hoy tan añorado y en buena parte del mundo, por lo que el patrimonio de una organización agrícolas que adopten las valoraciones social, ambiental y económica, tendrá un patrimonio más que sustentable.

Conclusión

Es el momento de adoptar un paradigma sustentado en la teoría tridimensionalidad de la contabilidad,

para el desarrollo sostenible de la Región 4 Pacífico del Ecuador, misma que se sustenta en una gran porcentaje de población rural (24,4%)²⁴, dedicada en gran medida a la actividad agrícola, para ello es necesario tomar en cuenta estrategias amigables con la sociedad, el medio ambiente y la economía de las familias que integran, que permita generar en el largo plazo una cultura de desarrollo sostenible, hacia la construcción de una nueva civilización con una tendencia de aumento de la productividad de las Pymes Agrícolas, las que asumirían el rol céntrico y trascendental en la economía de conservación, dotando de puestos a los trabajadores de un sector sostenibles como estrategia nacional para el cambio de *Matriz Productiva* que, involucra algunas etapas para mejorar la distribución de riqueza hacia el sector agrícola.

Conflictos de Interés: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Referencias

1. Montes C, Soto E, Valencia J. *Paradigmas en contabilidad*. Artes Gráficas El Valle; **2006**.
<https://doi.org/https://sd5bdb01c1ccf013a.jimcontent.com/download/version/1568757423/module/9189431268/name/Libro%20Paradigmas%20en%20Contabilidad%20%281%29.pdf>
2. Scarabino J. Estructura formal de los estados contables: Nuevos paradigmas de la ciencia contable. *Invenio*. **2008**;11(21):129-141.
<https://doi.org/https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4257386.pdf>
3. González L. LA CIENCIA CONTABLE: SU EPISTEMOLOGÍA Y APORTES A LA SOLUCIÓN DE PROBLEMAS EMERGENTES EN CONTRIBUCIÓN AL DESARROLLO SOSTENIBLE. *Criterio Libre*. **2020**;18(33):155-174. Disponible en:
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8046537.pdf>
4. Zarta P. La sustentabilidad o sostenibilidad un concepto poderoso para la humanidad. *Tabula Rasa*. **2018**;18(28):409-423. <https://doi.org/https://doi.org/10.25058/20112742.n28.18>
5. Naciones Unidas. *La Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible: una oportunidad para América Latina y el Caribe*. Naciones Unidas - CEPAL, ISBN: 978-92-1-058643-6; **2018**.
6. Casal R, Vioria N. La Ciencia Contable, su historia, filosofía, evolución y su producto. *Actualidad Contable Faces*. **2007**;10(15):19-28.
<https://doi.org/http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=25701503>.
7. Matínez W, Guerrero D. Los caminos del Buen Vivir. *Lumen Gentium*. **2020**;3(2):45-64.
<https://doi.org/DOI:10.52525/lg.v3n2a4>
8. Mendoza E, Godoy N. El aprendizaje desde un enfoque holístico e integrador. *TEORÍAS, ENFOQUES Y APLICACIONES EN LAS CIENCIAS SOCIALES (TEACS)*. **2016**;9(19):39-54.
<https://doi.org/https://revistas.uclave.org/index.php/teacs/article/view/912>

9. Mejía E. Biocontabilidad: Hacia una definición de una nueva disciplina contable. *Lúmina*. **2014**;15(15):106-129. <https://doi.org/DOI: 10.30554/lumina.15.1069.2014>
10. Franco R. Fundamentos ontológicos para la construcción del concepto de contametría. *Revista Científica General José María Córdova*. **2014**;12(13):165-190.
11. García C, Rodríguez D, Ruiz J. La heterogeneización de magnitudes en la teoría tridimensional de la contabilidad. *Revista Libre Empresa*. **2016**;13(1):161-176. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.18041/libemp.2016.v13n1.25107>
12. Mejía E, Montilla O, Montes CM. Teoría tridimensional de la contabilidad T3C (versión 2.0): desarrollos, avances y temas propuestos. *Libre Empresa*. **2014**;11(2):95-120.
13. Ferraro C, Rojo S. *Las MIPYMES en América Latina y el Caribe: Una agenda integrada para promover la productividad y la formalización*. Copyright © Organización Internacional del Trabajo; **2018**.
14. Canabal J, Muñoz H, Franco D, Galindo S. *Investigación Contable para la Sustentabilidad*. Ediciones Unisinú; **2014**.
15. SENPLADES. Agenda Zonal. Zona 4 Pacífico. SENPLADES; **2017**. <https://doi.org/https://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/11/Agenda-zona-4.pdf>
16. García A. *Perspectivas de la economía mundial 2024*. Instituto de Estudios Bursátiles IEB. Centro adscrito a la Universidad Complutense de Madrid; **2023**.
17. Hernández A, López M. La contribución de la teoría tridimensional de la contabilidad en informes contables. *UG Ciencia*. **2023**;28(1):10. doi.org/10.18634/ugcj.28v.1i.1276
18. Castellero O. Psicología y Mente. La teoría de la Inteligencia de Guilford. *Psicología y Mente*; **2017** May 16. Disponible en: <https://psicologiaymente.com/inteligencia/teoria-inteligencia-guilford>
19. FAO. El estado actual de la agricultura y la alimentación. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura; **2023**. Disponible en: <https://www.fao.org/publications/home/fao-flagship-publications/the-state-of-food-and-agriculture/es>
20. Hurtado J. *Metodología de la Investigación*. Quirón S.A.; **2010**.
21. Hernández R, Fernández C, Baptista M. *Metodología de la Investigación*. McGRAW-HILL / INTERAMERICANA EDITORES, S.A. DE C.V.; **2018**.
22. Rodríguez F. Generalidades acerca de las técnicas de investigación cuantitativa. *Paradigmas*. **2007**;2(1):9-39.
23. SENPLADES. *AGENDA ZONA 4. SECRETARÍA NACIONAL DE PLANIFICACIÓN*; **2023**.

/ **Received:** 21 May 2024 / **Accepted:** 10 June 2024 / **Published:** 15 June 2024 /

Citation: Monar Merchán C, Valle Jaramillo S, Delgado Chávez MI. *Enfoque de la teoría tridimensional de la contabilidad (T3C): Un análisis de la valoración patrimonial de las Pymes Agrícolas de la Región 4 del Ecuador.* *Bionatura.* **2024** ;9(2): DOI: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.6>

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>.

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Contacto**







<https://www.facebook.com/BiodiversityEC>
info.biodiversity@gmail.com

Cel.: +593 99 758 9267

Ibarra-Ecuador.

10 Leche fermentada simbiótica a partir de cocultivo con una cepa autóctona aislada de leche materna.

Symbiotic fermented milk from co-culture with a native strain isolated from human breast milk.

Taimy Hernández Sariago ^{1/*}; Rosalesmi Rodríguez Odel ²; Daniela Rafaela Hernández Machado ³; Luisa Matos Mosqueda ⁴; René Tejedor Arias ⁵; Amilcar Arenal ⁶.

^{1; 2; 3; 4} Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Camagüey “Ignacio Agramonte y Loynaz”, Camagüey, Cuba

⁵ Departamento de Alimentos, Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL), Universidad de la Habana, Habana, Cuba

⁶ St. Nicholas University, / Roseau, Dominica

*Correspondencia: thsariago@gmail.com

Available from: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.10>

Resumen

Las leches fermentadas simbióticas se utilizan frecuentemente como alimentos portadores de probióticos y prebióticos, la mayoría de los primeros aislados del tracto gastrointestinal y productos fermentados; sin embargo, en los últimos años se ha incrementado el interés por cepas de leche materna. El objetivo del presente trabajo es evaluar el crecimiento de *L. arizonensis* LM1564 en cocultivo con *S. thermophilus* y fructooligosacáridos en un modelo de leche fermentada simbiótica y la calidad del producto obtenido. La leche fermentada fue elaborada a partir de materias primas lácteas, cultivo de *L. arizonensis* LM1564 (aislado de leche materna) y *S. thermophilus* ST-M5 en relación 1:2 y 5 % de sirope de fructooligosacáridos. Para evaluar la calidad se determinó: pH, acidez, grasa, sólidos totales, conteo de coliformes, hongos, levaduras y viabilidad del cultivo. Sensorialmente se evaluaron las características: sabor, aspecto, aroma y textura y sus atributos. *L. arizonensis* LM1564 fue capaz de crecer adecuadamente en cocultivo y con prebiótico para obtener una leche fermentada simbiótica, constituyendo la primera referencia de su utilización en un producto de este tipo. El producto cumplió con los requisitos establecidos en las normas cubanas en cuanto a sus parámetros físicos, químicos y microbiológicos y presentó una excelente calidad sensorial.

Palabras claves. Fructooligosacáridos; *L. arizonensis*; leche fermentada; leche materna; prebiótico; probiótico; simbiótico.

Abstract

Symbiotic fermented milks are frequently used as a carrier for probiotics and prebiotics, most of which are isolated from the gastrointestinal tract and fermented products. However, in recent years, interest in strains isolated from human breast milk has increased. The objective of this study was to evaluate the growth of *L. arizonensis* LM1564 in cocultures with *S. thermophilus* and fructooligosaccharides in a model of symbiotic fermented milk and to determine the quality of the obtained product. Fermented milk was prepared using dairy raw materials: a culture of *L. arizonensis* LM1564 (isolated from breast milk) and *S. thermophilus* ST-M5 in a 1:2 ratio, and 5% fructooligosaccharide sirup. The quality of the samples was assessed by determining pH, acidity, fat content, total solids, coliform count, fungi, yeast, and culture viability. Sensory characteristics, including taste, appearance, aroma, and texture, were also evaluated. *L. arizonensis* LM1564 successfully grew in coculture with the prebiotic, resulting in symbiotic fermented milk, marking the first reference to its use in such a product. The product met the physical, chemical, and microbiological requirements established by Cuban standards and demonstrated excellent sensory quality.

Keywords. Fructooligosaccharide; *L. arizonensis*; fermented milk; breast milk; prebiotic; probiotic; symbiotic.

Introducción

Los alimentos fermentados se han consumido durante miles de años, sin embargo, en la actualidad están recibiendo cada vez más atención entre biólogos, nutricionistas, tecnólogos, médicos y consumidores. A pesar de este interés, existen inconsistencias relacionadas con el uso del término "fermentado", es por ello que en septiembre de 2019, la Asociación Científica Internacional para Probióticos y Prebióticos (ISAPP, sus siglas en inglés) convocó un panel de expertos a desarrollar una definición de alimentos fermentados y describir su papel en la dieta humana. Este panel después de los análisis correspondientes definió los alimentos y bebidas fermentados como "alimentos obtenidos mediante el crecimiento microbiano deseado y las conversiones enzimáticas de los componentes alimentarios".¹

Las leches fermentadas son uno de los productos fermentados más populares debido a sus propiedades sensoriales particulares, beneficios para la salud y prolongada vida útil.²⁻³ Estos productos son ampliamente fabricados en todo el mundo y existen aproximadamente 400 nombres genéricos de productos tradicionales y comerciales.⁴⁻⁵

Las leches fermentadas se han utilizado durante mucho tiempo como alimentos lácteos portadores de probióticos.⁶ Los microorganismos probióticos usados generalmente para la producción de leches

fermentadas son los siguientes *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus* GG, *L. helveticus*, *L. gasseri*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. reuteri*); *Pediococcus* (*P. acidilactici*); *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *breve*, *longum*, *adolescentis*, *infantis*, *lactis*, *animalis*); *Lactococcus* (*Lc. lactis* subsp. *lactis*); *Enterococcus* (*E. faecium*, *faecalis*) y *Saccharomyces* (*S. boulardii*).⁴⁻⁷

En el caso de *Lactobacillus*, teniendo en cuenta los resultados obtenidos del análisis de ADN con tecnologías novedosas, en el 2020 un panel de expertos realizó una actualización taxonómica donde lo dividió en 25 géneros.⁸ No obstante, al citarlas en este documento, se presentan como fueron nombradas en su fuente original. Otro cambio importante encontrado es el hecho de ser asumido *L. arizonensis* como un heterotipo de *Lactiplantibacillus plantarum*.⁹

Se han ido acumulando evidencias a favor de los beneficios para la salud atribuidos a las leches fermentadas con probióticos, como la reducción del colesterol sérico, la mejora de la salud intestinal, la prevención de varios tipos de cáncer, la promoción de la respuesta inmunitaria e inclusive la mejora de las deficiencias cognitivas.¹⁰⁻¹² Otros beneficios incluyen efectos antihipertensivos,³ antidiabéticos¹³ y efectos contra la obesidad.⁴⁻¹⁴ Además representan una buena opción a los intolerantes a la lactosa.⁽¹⁵⁾

La mayoría de los probióticos mencionados con anterioridad han sido aislados del tracto gastrointestinal y de productos fermentados.⁽¹⁶⁾ Sin embargo, en los últimos años se ha incrementado el interés por cepas de leche materna.⁽¹⁷⁻²⁰⁾ Acorde con esta tendencia, investigadores de la Universidad de Camagüey han aislado y caracterizado cepas de leche materna dentro de las cuales se encuentra *L. arizonensis* LM1564, lo que constituye el primer reporte de aislamiento del heterotipo *L. arizonensis* a partir de leche materna e igualmente se realiza por vez primera su caracterización probiótica.²¹⁻²² La cepa aislada presenta cualidades probióticas y tecnológicas de gran valor, ya que posee la habilidad de sobrevivir en condiciones semejantes a las del sistema gastrointestinal, tiene propiedades antimicrobianas contra *E. coli*, es capaz de fermentar la leche y produce aromas agradables. Si *L. arizonensis* LM1564 es combinada además con un agente prebiótico para la elaboración de un producto simbiótico puede adquirir mayor relevancia.

Los productos simbióticos son considerados alimentos de mayor beneficio sobre el microbiota intestinal, ya que promueven el crecimiento de bifidobacterias y la inhibición de microorganismos potencialmente patógenos, favorecen la estabilización del entorno intestinal y la activación del metabolismo de bacterias promotoras de la salud y, en consecuencia, del bienestar del huésped.²³

Al mismo tiempo a la hora de desarrollar un producto ya sea probiótico o simbiótico es fundamental saber si los microorganismos son capaces de crecer adecuadamente y si cuentan con los nutrientes necesarios y las condiciones adecuadas para su desarrollo. El objetivo del presente trabajo es evaluar el crecimiento de *L. arizonensis* LM1564 en cocultivo con *Streptococcus thermophilus* y un sirope

de fructooligosacáridos en un modelo de leche fermentada simbiótica, así como la calidad del producto obtenido. Los resultados del estudio constituyen la primera referencia de la utilización de la cepa en un producto de este tipo.

Materiales y métodos

Evaluación del crecimiento microbiano en un modelo de leche fermentada simbiótica

La leche fermentada fue elaborada a partir de las siguientes materias primas: leche entera en polvo proveniente de Nueva Zelanda, leche descremada en polvo procedente de Brasil, cultivo mixto de *L. arizonensis* LM1564 (con número de acceso MT164468 en el GenBank del NCBI) y *S. thermophilus* ST-M5 (CHR-HANSEN), así como un sirope de fructooligosacáridos (KESTO MIX, TECNOAZUCAR AZCUBA).

Teniendo en cuenta que la mayoría de las leches fermentadas se diseñan con una simbiosis de un lactobacilo y el *S. thermophilus*, se decide incluir este último como parte del cultivo en una relación 1:2 (*L. arizonensis*: *S. thermophilus*). El sirope de FOS se añade en 5 % a partir de los resultados óptimos reportados en la literatura luego de evaluadas diferentes concentraciones.²⁴

Para la estandarización de la leche, cantidades adecuadas de LEP y LDP se disolvieron en agua para obtener una leche con 8,5 % de sólidos no grasos y 2,5 % de grasa cumpliendo con lo establecido en la Norma Cubana para leches fermentadas.²⁵ La leche estandarizada fue esterilizada a 121 °C por 30 min, luego fue inoculada con el cultivo de ambas cepas en simbiosis, homogenizada e incubada a 37 °C. Se tomaron muestras de la leche cada una hora durante un período de 5 h, se realizaron diluciones seriadas y se sembraron en agar MRSc mediante el método de goteo.²⁶ Las placas sembradas se incubaron a 37 °C en condiciones anaeróbicas durante 48h. Al término de ese tiempo, se realizó un conteo de colonias (*L. arizonensis*: colonias blancas, convexas; *S. thermophilus*: colonias crema parduzca, planas y de tamaño más pequeño) y se determinó la concentración microbiana correspondiente a cada momento muestreado.

Con los resultados obtenidos se construyeron los gráficos que describen la cinética de crecimiento de los microorganismos crecidos en simbiosis. Para el análisis de la calidad de ajuste de los modelos se utilizó el Modelo de Gompertz, el cual está descrito como el adecuado para evaluar el crecimiento microbiano.²⁷

Elaboración de la leche fermentada simbiótica y evaluación de la calidad

Elaboración de la leche fermentada

La leche fermentada fue elaborada según lo establecido en la Norma Cubana para leches fermentadas,²⁵ como se describió en el acápite anterior, pero con las modificaciones siguientes. La pasteurización se realizó a 90 °C durante 5 minutos. La leche inoculada se envasó en recipientes

plásticos de 450 mL, los que se incubaron para su coagulación. Una vez coagulada la leche fermentada se conservó a 4 °C.

Evaluación física, química y microbiológica

Para la evaluación de la calidad se tomaron 5 envases a las 24 h de fabricado. Luego se realizaron por duplicado las siguientes determinaciones físicas y químicas: pH y acidez,²⁸ contenido de grasa²⁹ y sólidos totales mediante la utilización de una balanza de humedad (BM-50-1 BIOBASE).

Desde el punto de vista microbiológico se realizó el conteo de coliformes,³⁰ conteo de hongos y levaduras³¹ y viabilidad del cultivo en el medio seleccionado a 37 °C.³²

Evaluación sensorial

Para el panel de evaluación sensorial se seleccionaron catadores de la industria láctea. Con anterioridad a la evaluación, el jefe del panel tuvo un intercambio con el equipo para explicar el procedimiento a seguir según la metodología descrita por Duarte³³ y lo establecido en la norma cubana NC-TS-457: 2007²⁵ en cuanto a los requisitos sensoriales.

Se evaluaron las características: sabor, aspecto, aroma y textura y los atributos correspondientes a ellas, en base a un sistema de 5 categorías (Excelente, Buena, Aceptable, Insuficiente y Pésima) siguiendo los criterios establecidos en la metodología citada, luego se seleccionó para cada atributo la categoría más repetida por los evaluadores y la más baja determinó la evaluación de la característica y la calidad sensorial de la leche fermentada.

Los atributos evaluados de cada característica fueron los siguientes:

- Sabor: sabor típico a producto lácteo fermentado, acidez de muy ligera a moderada y dulzor de muy ligero a moderado.
- Aspecto: color uniforme.
- Aroma: olor típico a producto lácteo fermentado.
- Textura: consistencia viscosa, coágulo firme y grumosisidad de ligera a moderada.

Resultados

Crecimiento de *L. arizonensis* en cocultivo con *S. thermophilus* y FOS en modelo de leche fermentada simbiótica

En la Figura 1 se describe el crecimiento de ambas cepas en cocultivo durante la fermentación de la leche a partir de las 0 hasta las 5:00 horas. La fase de latencia o adaptación al nuevo medio de cultivo tuvo lugar en la primera hora del proceso para ambas cepas, siendo más lento el crecimiento de *S. thermophilus* en esta etapa. Luego de este tiempo de fermentación comienza la fase exponencial para ambos microorganismos. El proceso de coagulación de la leche fue aproximadamente a las 4 h,

tiempo en el que *L. arizonensis* alcanza una concentración microbiana de $5,3 \times 10^7$ ufc/mL, mientras que la de *Streptococcus thermophilus* es $9,9 \times 10^7$ ufc/mL.

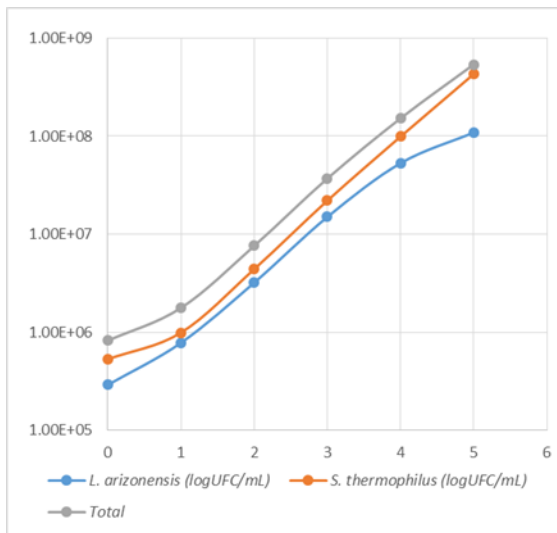


Figura 1. Cinética de crecimiento de *L. arizonensis* y *S. thermophilus* en leche con 5 % de FOS.

En la fase exponencial la velocidad de crecimiento específica de *S.thermophilus* es mayor que la de *L. arizonensis* con una pendiente más acentuada, que se confirma con los valores obtenidos en las ecuaciones de la Figura 2.

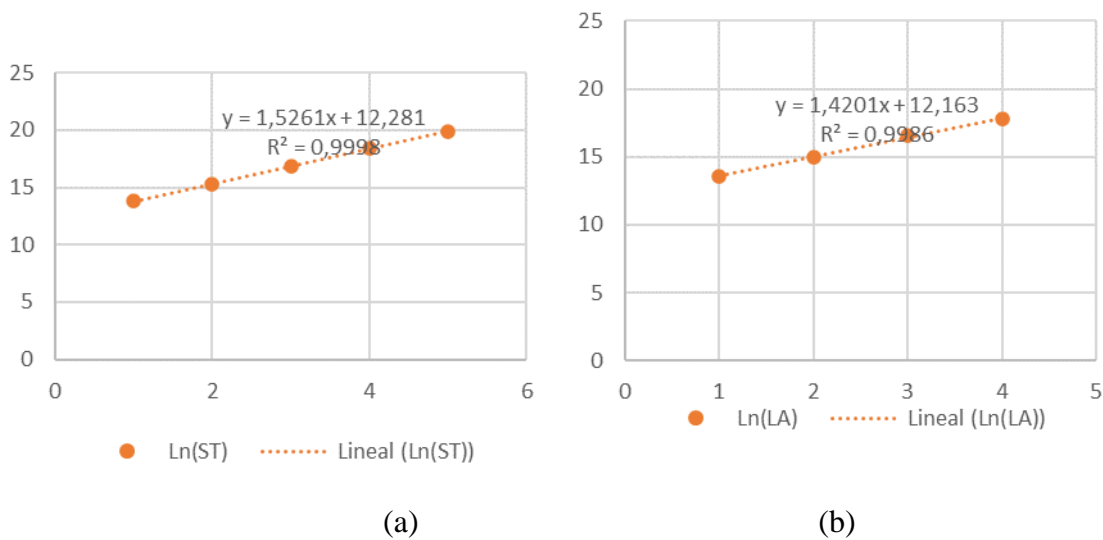


Figura 2. Logaritmo natural del incremento de la concentración microbiana. (a): Logaritmo natural de *L. arizonensis*, (b): Logaritmo natural de *S. thermophilus*.

Se conoce que el logaritmo de la fase exponencial del crecimiento microbiano responde a un comportamiento lineal,³⁴ el cual queda evidenciado en la misma figura con $R^2= 0,9986$ y $R^2=0,9998$ para *L. arizonensis* y *S. thermophilus*, respectivamente. En el análisis de la calidad de los modelos se comprobó que la ecuación de Gompertz fue estadísticamente suficiente para describir los datos experimentales de crecimiento microbiano con un $R^2= 0,9958$.

La concentración microbiana total (Figura 1) en la toma de muestra posterior a la coagulación fue de $1,52 \times 10^8$ ufc/mL. Por tanto, se comprueba que cumple con el mínimo de 10^7 ufc/mL que debe presentar un probiótico para asegurar que las bacterias lleguen vivas al intestino.³⁵ Este resultado también está acorde con la Norma Cubana de Leches Fermentadas²⁵ que establece un mínimo de 10^7 ufc/g en cuanto a la suma de microorganismos que comprenden el cultivo.

Evaluación de la calidad de la leche fermentada simbiótica

Caracterización física y química de la leche fermentada

Los valores obtenidos en los ensayos físicos y químicos realizados a las muestras a las 24 h de producida la leche fermentada y conservada bajo temperaturas de 4°C se muestran en la Tabla 1. Tanto la acidez, como la grasa, los sólidos totales y el pH cumplen con los requisitos establecidos en la norma relacionada con las especificaciones de calidad para leches fermentadas.²⁵

Tabla 1. Características físicas y químicas de la leche fermentada.

Indicadores	Resultados*
Acidez (% ácido láctico)	0,78 ($\pm 0,02$)
Grasa (%)	2,4 ($\pm 0,1$)
Sólidos totales (%)	11,2 ($\pm 0,3$)
pH	4,3 ($\pm 0,2$)

*Los valores son el resultado de la media (\pm Desviación Estándar) con $n=5$

Caracterización microbiológica de la leche fermentada

En la Tabla 2 se muestran los resultados de los análisis microbiológicos realizados al producto luego de 24 horas de conservación. Con respecto a la contaminación se comprobó que tanto los coliformes totales, como los hongos y levaduras están por debajo de los límites establecidos en las normas cubanas cumpliendo las especificaciones de calidad.

En cuanto a la viabilidad de los microorganismos utilizados se cuantificó un total de $1,42 \times 10^8$ ufc/mL, superando el mínimo establecido de 10^7 ufc/g.²⁵

Tabla 2. Características microbiológicas de la leche fermentada.

Indicadores	Resultados (ufc/mL)*
Coliformes totales	< 10
Hongos y levaduras	< 10
Viabilidad de <i>L. arizonensis</i>	$4,7 \times 10^7$
Viabilidad de <i>S. thermophilus</i>	$9,5 \times 10^7$

*Los valores son el resultado de las determinaciones con $n=5$

Caracterización sensorial de la leche fermentada

Todos los atributos recibieron evaluaciones correspondientes a las categorías Buena y Excelente según los criterios establecidos por Duarte.³³ Los principales defectos percibidos levemente por pocos catadores estuvieron asociados a una tenue intensidad de la acidez y una ligera presencia de grumos blandos, sin afectar de forma significativa la calidad sensorial del producto.

La categoría más repetida en cada atributo fue Excelente, dando lugar a evaluaciones de Excelente para cada característica según la metodología citada.³³ La calidad sensorial de la leche fermentada se corresponde, por tanto, con la categoría establecida como Excelente.

Discusión

La cinética de crecimiento de bacterias probióticas es una herramienta importante para el desarrollo de alimentos que contienen probióticos,³⁶ más aún cuando hay simbiosis microbiana y por tanto codependencia entre ellas. Por ejemplo, la simbiosis entre *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* está muy bien documentada. Numerosos estudios han mostrado que *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* funcionan sinérgicamente intercambiando metabolitos, donde el lactobacilo libera aminoácidos y péptidos a partir de la caseína, que estimulan el crecimiento del estreptococo y este último puede proveerle al lactobacilo ácido fórmico, ácido fólico y dióxido de carbono,³⁷ de esta manera la cinética de crecimiento de ambos microorganismos se acelera de forma considerable. Esta codependencia puede ser similar con otros lactobacilos ya que la producción de aminoácidos tiene lugar debido a una proteinasa extracelular que poseen varios de ellos. *L. arizonensis* es una cepa que no ha sido casi estudiada y no existen reportes de cinética de crecimiento de la misma y menos en simbiosis con *S. thermophilus*. No obstante, si existen datos de otros lactobacilos, por ejemplo autores como Berkman y col.³⁸ muestran una cinética similar a la obtenida en este estudio para *L. bulgaricus* en simbiosis con *S. thermophilus* (1:2). En el caso de *L. plantarum*, Anindita y Khumaira evaluaron la cinética de crecimiento de este microorganismo solo, para la obtención de leche fermentada, donde los mejores resultados los obtienen inoculando a 8 % el cultivo iniciador y empleando como parámetros de incubación 18 h a 37 °C, requiriendo tiempos de fermentación muy superiores a los empleados en el presente estudio.³⁹

Por otra parte, diferentes proporciones de *L. bulgaricus*: *S. thermophilus*: *L. plantarum* (1:1:0, 1:1:1, 1:1:2, 1:1:3) han sido analizadas con las que se obtuvieron conteo total y cinética general similar para los cuatro casos evaluados y no se particulariza en la cinética individual de cada microorganismo.⁴⁰ La mayoría de los estudios realizados publican la cinética o perfil de acidificación, sin mostrar el crecimiento individual de los microorganismos, sin embargo el objetivo de esta investigación es valorar el comportamiento de cada cepa independiente cuando crecen en simbiosis.

Al mismo tiempo, son varios los factores que inciden en el proceso de fermentación y por tanto en la cinética de los microorganismos. En cuanto a la concentración inicial del inóculo, esta debe ser la adecuada para optimizar el proceso, ya que si es elevada se pierde sustrato debido a una competencia exagerada entre microorganismos, que genera muerte celular y exceso de calor. Por otro lado si la concentración es baja, se incrementa el tiempo de fermentación disminuyendo la productividad y se corre el riesgo de contaminación por microorganismos indeseables.⁴¹ En la investigación llevada a cabo se probó una sola concentración, pero el ensayo con otras concentraciones iniciales puede sugerir el empleo de valores óptimos.

Otro elemento es la temperatura a la cual ocurre el proceso.⁴² En este estudio se realizó la fermentación a 37 °C, por *L. arizonensis* ser aislado de leche materna y la temperatura corporal corresponderse con estos valores. Sin embargo, esta cepa puede crecer a 45 °C²¹ y los productores de la cepa de *S. thermophilus* utilizada reportan acidificaciones más rápidas de la leche a 40 °C y 43 °C.⁴³

La proporción de microorganismos también pudiera modificar la cinética de crecimiento. En la investigación realizada se utilizó la proporción 1:2 (*L. arizonensis*: *S. thermophilus*), ya que es la mejor opción en la cual *S. thermophilus* está por encima del lactobacilo como en la mayoría de las leches fermentadas, pero al mismo tiempo *L. arizonensis* se encuentra en una buena proporción con respecto al cultivo total y así puede ejercer su función tanto en la fermentación como en las propiedades probióticas y beneficiosas del producto. Otros autores reportan estudios en los que se han evaluado proporciones diferentes tales como: 1:1⁴⁴⁻⁴⁵, 1:4 y 1:7³⁸.

La concentración de FOS en el medio¹⁵ y el momento de adición del mismo pudieran también influir en el desarrollo microbiano.⁴⁴ En el estudio realizado se utilizó un 5 % de FOS a partir de constatar en la literatura la obtención de buenos resultados con estas concentraciones.²⁴ El FOS utilizado contiene fructosa y glucosa, hidratos de carbono simples metabolizables por *L. arizonensis* LM1564,²¹ lo que puede incidir en el crecimiento microbiano y la coagulación de la leche. Martínez y col.⁴⁴ demostraron que con la presencia de FOS en el medio hay una estimulación de la producción de células, dado por el hecho de que la glucosa tiene una entrada directa a la célula para la obtención de energía metabólica, mientras que la lactosa debe ser hidrolizada y luego la glucosa resultante es la que se utiliza para el proceso fermentativo, en consonancia todo ello con el principio de economía celular. Por tanto, la adición antes o después de la fermentación y su concentración puede dar lugar a un perfil de acidificación y una cinética diferente.

Teniendo en cuenta todo lo anteriormente expuesto y al hecho de que es crucial optimizar las condiciones de crecimiento para las cepas debido a la posible interacción entre los cultivos¹⁵ y la influencia de los diferentes factores sobre ellos, se recomienda realizar un estudio de optimización

donde se evalúen las siguientes variables: temperatura, proporción de los microorganismos, concentración microbiana inicial, porcentaje y momento de adición de FOS, con el objetivo de lograr una mayor concentración microbiana y la coagulación de la leche en el menor tiempo posible y por tanto una mayor productividad. A pesar de ser recomendable realizar un proceso de optimización se demuestra con el estudio realizado que *L. arizonensis* es capaz de desarrollar una leche fermentada, donde los dos microorganismos crecen pasando por las fases de latencia y crecimiento exponencial, contribuyendo cada uno en el proceso de fermentación, coagulación y obtención de la leche fermentada.

Los resultados presentados constituyen los primeros datos de una cinética de crecimiento de *L. arizonensis* en la obtención de una leche fermentada simbiótica.

En relación a los parámetros de calidad de leches fermentadas, los sólidos totales y la grasa dependen en gran medida del proceso de estandarización que se realiza, sin embargo, la acidez y el pH están condicionados por la actividad metabólica de los microorganismos empleados en el proceso fermentativo. En este caso la combinación utilizada de *L. arizonensis* y *S. thermophilus* permitió obtener un producto con las especificaciones establecidas al respecto en las normas cubanas.²⁵

No existen referencias de parámetros físicos y químicos obtenidos en leches fermentadas con la combinación de estas cepas, pero sí con *L. acidophilus* y *S. thermophilus* en presencia de FOS, en los cuales se obtienen resultados similares,⁴⁴ aunque no se declara el tiempo de fermentación que se requirió para obtener los valores de pH y acidez necesarios para la coagulación, los cuales pueden diferir teniendo en cuenta el perfil de acidificación de cada cepa.

Respecto a las características microbiológicas, la leche fermentada obtenida cumplió con los requisitos establecidos en la norma cubana tanto en lo relacionado con microorganismos no deseables como en la viabilidad de los cultivos.²⁵ Otras leches fermentadas cubanas han sido reportadas con 2×10^8 ufc/mL de viabilidad en la que se utiliza *L. acidophilus* en la fermentación de leche de búfala⁴⁶ y $1,2 \times 10^8$ ufc/mL también con el citado microorganismo y la presencia de FOS²⁴.

Los resultados de viabilidad están relacionados con varios factores dentro de los cuales se encuentran los nutrientes disponibles en el medio. En este caso la utilización de FOS les garantiza una fuente de carbono simple como es la glucosa, la que pueden utilizar con mayor facilidad que la lactosa contenida en la leche, esta última requiere de un paso previo de hidrólisis para luego utilizar los metabolitos resultantes. El recuento microbiano en otros estudios también ha indicado una estimulación de la producción de células cuando hay presencia de sirope FOS en el medio.⁴⁴ Al mismo tiempo otras investigaciones han demostrado mediante modelos cinéticos mayor viabilidad de los microorganismos con la utilización de FOS respecto al empleo del azúcar como ingrediente.²⁴

Desde el punto de vista sensorial, la leche fermentada obtuvo excelentes evaluaciones de calidad. Otros autores han obtenido leches fermentadas con excelente calidad⁽²⁴⁾ y muy buena calidad y aceptación con la utilización de FOS,⁴⁴ así como evaluaciones de “me gusta mucho” y “me gusta extremadamente”,⁴⁷ aunque ninguna contiene cepas autóctonas de leche materna.

La utilización de *L. arizonensis* LM1564 aislada de leche materna, en cocultivo con *S. thermophilus* y la presencia de FOS, bajo las condiciones probadas dio lugar a una leche fermentada simbiótica con excelente calidad física, química, microbiológica y sensorial. El desarrollo de un alimento funcional simbiótico como este, tiene gran importancia, posee un enfoque novedoso y de gran valor práctico. El mismo se obtiene con un heterotipo bacteriano no reportado como cultivo iniciador, capaz de sobrevivir en condiciones semejantes a la del tracto gastrointestinal y de antagonizar microorganismos como la *E. coli*, por lo que puede producir efectos positivos en el microbiota intestinal humana y utilizarse en el tratamiento de enfermedades asociadas a patógenos intestinales.

Conclusiones

L. arizonensis LM1564 en cocultivo con *S. thermophilus* ST-M5 en una proporción 1:2 y con un 5 % de FOS es capaz de crecer adecuadamente para obtener una leche fermentada simbiótica, constituyendo la primera referencia de su utilización en un producto de este tipo. El crecimiento de este microorganismo en el modelo utilizado permite la obtención de un producto que contiene una cepa autóctona con propiedades probióticas aislada a partir de una fuente no convencional y aprovecha un derivado de la industria azucarera cubana con propiedades prebióticas. La leche fermentada cumplió con los requisitos establecidos en las normas cubanas en cuanto a sus parámetros físicos, químicos y microbiológicos y presentó una excelente calidad sensorial.

Contribución de los autores: conceptualización, T.H., R.T. y A.A.; metodología, T.H., R.T. y A.A.; análisis formal, T.H., L.M.; investigación, T.H., R.O. y D.H.; análisis de datos, T.H., R.O., D.H., L.M., R.T. y A.A.; redacción-preparación del borrador original, T.H.; redacción-revisión y edición, T.H., L.M., R.T. y A.A. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Financiamiento: esta investigación no recibió financiamiento externo.

Conflictos de Intereses: los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Referencias

1. Marco ML, Sanders ME, Gänzle M, Arrieta MC, Cotter PD, De Vuyst L, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on fermented foods. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2021;18(3):196-208.

2. Moineau-Jean A, Champagne CP, Roy D, Raymond Y, LaPointe G. Effect of Greek-style yoghurt manufacturing processes on starter and probiotic bacteria populations during storage. *International Dairy Journal*. 2019;93:35-44.
3. Beltrán-Barrientos L, Hernández-Mendoza A, Torres-Llenez M, González-Córdova A, Vallejo-Córdova B. Invited review: Fermented milk as antihypertensive functional food. *Journal of dairy science*. 2016;99(6):4099-110.
4. Khorshidian N, Yousefi M, Mortazavian AM. Fermented milk: The most popular probiotic food carrier. *Advances in Food and Nutrition Research*. 94: Elsevier; 2020. p. 91-114.
5. Mohammadi R, Sohrabvandi S, Mohammad Mortazavian A. The starter culture characteristics of probiotic microorganisms in fermented milks. *Engineering in Life Sciences*. 2012;12(4):399-409.
6. Turkmen N, Akal C, Özer B. Probiotic dairy-based beverages: A review. *Journal of Functional Foods*. 2019;53:62-75.
7. Tamime AY. Fermented milks: a historical food with modern applications—a review. *European journal of clinical nutrition*. 2002;56(4):S2-S15.
8. Zheng J, Wittouck S, Salvetti E, Franz CM, Harris HM, Mattarelli P, et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2020;70(4):2782-858.
9. NCBI. Taxonomy. *Lactiplantibacillus plantarum*.: National Center for Biotechnology Information; 2023 [31-octubre-2023]. Available from: <http://ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/>.
10. Sakandar HA, Zhang H. Trends in Probiotic (s)-Fermented milks and their in vivo functionality: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2021;110:55-65.
11. Hou Q, Li C, Liu Y, Li W, Chen Y, Bao Y, et al. Koumiss consumption modulates gut microbiota, increases plasma high density cholesterol, decreases immunoglobulin G and albumin. *Journal of Functional Foods*. 2019;52:469-78.
12. Li C, Kwok L-Y, Mi Z, Bala J, Xue J, Yang J, et al. Characterization of the angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of fermented milks produced with *Lactobacillus casei*. *Journal of dairy science*. 2017;100(12):9495-507.
13. Fernandez MA, Marette A. Novel perspectives on fermented milks and cardiometabolic health with a focus on type 2 diabetes. *Nutrition reviews*. 2018;76(Supplement_1):16-28.

14. Park S-Y, Seong K-S, Lim S-D. Anti-obesity effect of yogurt fermented by *Lactobacillus plantarum* Q180 in diet-induced obese rats. *Korean journal for food science of animal resources*. 2016;36(1):77.
15. Nyanzi R, Jooste PJ, Buys EM. Invited review: Probiotic yogurt quality criteria, regulatory framework, clinical evidence, and analytical aspects. *Journal of Dairy Science*. 2021;104(1):1-19.
16. Ren D, Li C, Qin Y, Yin R, Du S, Ye F, et al. In vitro evaluation of the probiotic and functional potential of *Lactobacillus* strains isolated from fermented food and human intestine. *Anaerobe*. 2014;30:1-10.
17. Jabur AK, Isa JK, TofahAlAzzawi JA. A Study the Characteristics of *Bifidobacterium* ssp Isolated from Breast Milk as a Probiotic in Vitro. *Eurasian Medical Research Periodical*. 2022;14:56-67.
18. Duraisamy S, Husain F, Balakrishnan S, Sathyan A, Subramani P, Chidambaram P, et al. Phenotypic assessment of probiotic and bacteriocinogenic efficacy of indigenous LAB strains from human breast milk. *Current Issues in Molecular Biology*. 2022;44(2):731-49.
19. D'Alessandro M, Parolin C, Patrignani S, Sottile G, Antonazzo P, Vitali B, et al. Human breast milk: A source of potential probiotic candidates. *Microorganisms*. 2022;10(7):1279.
20. Rajoka M, Shi J, Zhu J, Shao D, Huang Q, Yang H, et al. Capacity of lactic acid bacteria in immunity enhancement and cancer prevention. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2017;101:35-45.
21. López N. Aislamiento de cepas potencialmente probióticas a partir de leche materna. Camagüey, Cuba: Universidad de Camagüey; 2018.
22. Prieto L. Optimización y evaluación de propiedades probióticas de cepas aisladas de leche materna. Camagüey, Cuba.: Universidad de Camagüey; 2019.
23. Swanson KS, Gibson GR, Hutkins R, Reimer RA, Reid G, Verbeke K, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2020;17(11):687-701.
24. Valdés M, Iglesias D, Martínez L, Guzmán TM. Empleo de fructooligosacárido en el desarrollo de una leche fermentada simbiótica saborizada. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2022;32(1):63-8.

25. NC-TS-457: Leches fermentadas. Especificaciones. Cuba, (2007).
26. Herigstad B, Hamilton M, Heersink J. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. *Journal of microbiological methods*. 2001;44(2):121-9.
27. Zwietering MH, Jongenburger I, Rombouts FM, Van't Riet K. Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and environmental microbiology*. 1990;56(6):1875-81.
28. NC-ISO-11869. NC-ISO-11869.Determinación de acidez titulable. Método potenciométrico. Cuba. Cuba2006. p. 3-5.
29. NRIAL-042. Yogurt. Determinación del contenido de materia grasa. Método de rutina. Cuba2008.
30. NC-ISO-4832. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de coliformes. Técnica de placa vertida. Cuba. Cuba2010.
31. NC-100. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de levaduras y mohos. Técnica de placa vertida a 25 °C. Cuba. Cuba2016.
32. Pedrique M, De Castro N. Reproducción y Crecimiento Microbiano. Catedra de Microbiologia-Facultad de Farmacia (págs 1-23) UCV. 2008.
33. Duarte C. Metodología para la evaluación de la calidad sensorial de los alimentos. *Ciencia y Tecnología de los Alimentos*. 2017;27(2):31-9.
34. Waites MJ, Morgan NL, Rockey JS, Higton G. *Industrial microbiology: an introduction*: John Wiley & Sons; 2009.
35. Cruchet S. ¿Cuándo un microorganismo se considera probiótico? *Revista Médica Revisada por Pares Medwave*. 2007; <http://doi.org/10.5867/medwave.2007.05.3253>.
36. Jiang N, Kumar GD, Chen J, Mishra A, Solval KM. Comparison of concurrent and mixed-flow spray drying on viability, growth kinetics and biofilm formation of *Lactobacillus rhamnosus* GG microencapsulated with fish gelatin and maltodextrin. *Lwt*. 2020;124:109200.
37. Ge Y, Yu X, Zhao X, Liu C, Li T, Mu S, et al. Fermentation characteristics and postacidification of yogurt by *Streptococcus thermophilus* CICC 6038 and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* CICC 6047 at optimal inoculum ratio. *Journal of Dairy Science*. 2024;107(1):123-40.
38. Berkman T, Bozoğlu T, Özilgen M. Mixed culture growth kinetics of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Enzyme and microbial technology*. 1990;12(2):138-40.

39. Anindita NS, Khumaira A. The influence of variations in starter concentration *Lactobacillus plantarum* AS4 indigenous from human breast milk to the characteristics of fermented milk. *Advances in Food Science, Sustainable Agriculture and Agroindustrial Engineering (AFSSAAE)*. 2023;6(1).
40. Lang F, Wen J, Wu Z, Pan D, Wang L. Evaluation of probiotic yoghurt by the mixed culture with *Lactobacillus plantarum* A3. *Food Science and Human Wellness*. 2022;11(2):323-31.
41. Arévalo H, Arias G. Determinación de la concentración de inóculo y tiempo de fermentación, utilizando microbiota de los granos de kéfir como agente biológico y suero de leche como sustrato. 2008.
42. Rodríguez E. Modelo matemático de crecimiento celular que describe la dinámica de microorganismos durante la fermentación. México: Tecnológico Nacional de México; 2021.
43. F-DVS. ST-M5. Product Information. . <https://conovehonakopicz/wp-content/uploads/2014/04/stm5pdf>. 2014.
44. Martínez OR, Martínez JAR, Toledo LET, Cruz ERP, Alomá YL, Sánchez OH, et al. Leche fermentada simbiótica con sirope prebiótico cubano. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2018;27(3).
45. Perea J, Brito AI. Evaluación de la fermentación láctica en un yogur dietético. 2008.
46. Íñiguez C, Rodríguez T, Hernández O, Martínez I, Nieto M. Desarrollo de una leche fermentada a partir de leche de búfala y cultivo de *Lactobacillus acidophilus*: Development of fermented milk from buffalo milk using culture of *Lactobacillus acidophilus*. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2018;28(2):1-6.
47. Aguila C. Desarrollo de leches fermentadas simbióticas con cultivo mixto probiótico y fructooligosacáridos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. La Habana: Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos; 2020.

/ **Received:** 22 May 2024 | **Accepted:** 6 June 2024 | **Published:** 15 June 2024 |

Citation: Hernández Sariego T, Rodríguez Odel R, Hernández Machado DR, Matos Mosqueda L, Tejedor Arias R, Arenal A. Leche fermentada simbiótica a partir de cocultivo con una cepa autóctona aislada de leche maternal. *Bionatura*. 2024;9(2). DOI: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.10>

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>.






All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

11 Mezcla óptima de enzimas comerciales y autóctonas para la hidrólisis en el desarrollo sinérgico de la industria química y las biorrefinerías.

Optimal mixture of commercial and indigenous enzymes for hydrolysis in synergistic development of the chemical industry and biorefineries.

Jenny Serrano Castillo ¹; Carmen A. Salvador Pinos ²; Yaillet Albernas Carvajal ³;
Ronny Pi-baque Sánchez ⁴; Erenio González Suárez ⁵ /*.

1;2 Grupo de la Industria Química, Ministerio de Industrias, Cuba; Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Central del Ecuador

3;4;5 Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Química y Farmacia, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Villa Clara, Cuba; Instituto de Microbiología, Universidad San Francisco de Quito, Ecuador; e.

*Correspondence: erenio@uclv.edu.cu.

Available from: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.11>

Resumen:

La industria química requiere materias primas productos de las industrias que se pueden desarrollar como biorrefinerías, como es el etanol. En la producción de etanol, los insumos de enzimas en la hidrólisis enzimática tienen gran incidencia en los costos. La combinación de enzimas en la conversión biotecnológica de la biomasa lignocelulósica busca mejorar su funcionalidad y optimizar su tasa global de conversión. En este trabajo, se evaluaron cocteles enzimáticos provenientes de *Bacillus subtilis* y *Scopulariopsis brevicaulis* aislados en Ecuador como complemento para enzimas disponibles comercialmente. Esto se logró empleando métodos de optimización. Mediante la combinación de diseños factoriales saturados y fraccionarios, se determinaron 6 variables parametrizables para explorar su efecto en la eficiencia de la hidrólisis del bagazo de caña de azúcar. Después del análisis de la eficiencia, se concentró el estudio en las mezclas binarias empleando enzimas bacterianas y comerciales, descartando las fúngicas (*S. brevicaulis*) debido a su pobre desempeño. El porcentaje óptimo de la mezcla fue 63,5% de enzima comercial y 36,5% de cocteles enzimáticos de *Bacillus subtilis* nativo de Ecuador. Se muestra la factibilidad de reemplazar parcialmente las enzimas comerciales por cocteles enzimáticos nativos obtenidas con tecnologías propias, lo que disminuye los altos costos de la hidrólisis.

Palabras clave. Enzimas; hidrólisis; optimización.

Abstract

The chemical industry requires raw materials products from industries that can be developed as biorefineries, such as ethanol. In the production of ethanol, enzyme inputs during enzymatic hydrolysis have a significant impact on cost. The combination of enzymes in the biotechnological conversion of lignocellulosic biomass aims to improve its functionality and optimize its overall conversion rate. In this study, enzyme cocktails from *Bacillus subtilis* and *Scopulariopsis brevicaulis* isolated in Ecuador were evaluated as complementary enzymes to commercially available enzymes. This was achieved using optimization methods. By combining saturated and fractional factorial designs, six parameterizable variables were determined to explore their effects on sugarcane bagasse hydrolysis efficiency. After the efficiency analysis, the study focused on binary mixtures using bacterial and commercial enzymes and excluded fungal enzymes (*S. brevicaulis*) due to their poor performance. The optimal percentage of the mixture was 63.5% commercial enzyme and 36.5% enzymatic cocktails from *Bacillus subtilis*, which is native to Ecuador. The feasibility of partially replacing commercial enzymes with native enzymatic cocktails obtained using proprietary technologies is demonstrated, which reduces the high hydrolysis costs

Keywords. Enzymes; hydrolysis; optimization.

Introducción

El desarrollo de las producciones de la industria de procesos químicos necesita de disponer como materias primas complementarias a las aprovechables de sectores de la minería o de sus producciones propias, en la fabricación de productos de más alto valor agregado, como para el árbol del cloro, de otros que se pueden desarrollar como derivados de la transformación de la biomasa disponible en cada país, como el etanol factible producir de primera, segunda y tercera generación de la industria de la caña de azúcar, favoreciendo un desarrollo sinérgico gracias al encadenamiento productivo entre la industria química y las biorrefinerías ¹.

La producción de etanol de segunda generación se ve limitada por los altos costos de las enzimas comerciales en la etapa de hidrólisis enzimática. La mezcla de extractos de enzimas ha recibido baja atención, pese a que presentan gran potencial para promover la hidrólisis enzimática; el sinergismo encontrado entre los extractos de las enzimas representa una ventaja en la utilización de éstas. Estudios relacionados a esta temática, como el de Bussamra y colaboradores proponen que un buen balance entre las enzimas de un coctel enzimático mediante un diseño experimental de mezclas, constituye una aproximación promisoría para optimizar la hidrólisis, logrando incrementar el rendimiento de glucosa cerca de un 40% en relación a las enzimas comerciales tales como *Celluclast*². Otros estudios como el de da Silva y colaboradores proponen mezclar celulasas producidas en el

laboratorio y comerciales.

Relacionadas a las preparaciones enzimáticas, se encuentran en el mercado algunas mezclas de enzimas comerciales que incluyen el set de enzimas celulolíticas requeridas para la hidrólisis (*Celluclast*, *Novozyme CellicRCTec2*; *Cellulase Aspergillum niger*, Sigma). Sin embargo, estas representan un gran desafío para el uso de la lignocelulosa presente en la materia prima que se usa para la producción de azúcares simples; es necesario llevar a cabo investigaciones para seleccionar enzimas más eficientes y menos costosas.

Por lo manifestado, mediante la colaboración internacional con estudios previos, se evaluó la sustitución de las enzimas comerciales por enzimas nativas del Ecuador. Además, se investigó sobre su uso⁵, y su producción industrial⁶. En aras de disminuir los costos de las enzimas, se apuesta por la producción de las mismas a partir de diferentes microorganismos como hongos y bacterias⁷ con el objetivo de sustituir una parte de enzimas comerciales por las enzimas producidas por los microorganismos estudiados, consiguiendo realizar mezclas enzimáticas que disminuyen los costos en la etapa de hidrólisis y la compra de enzimas comerciales, que presentan elevados precios en el mercado.

La producción de cocteles enzimáticos en el laboratorio no solo presenta ventajas del orden científico técnico, sino que también económico y social. Sin embargo, estos estudios se encuentran en fases de desarrollo, y por lo tanto, el interés mostrado por la industria presenta cuellos de botella⁸. El aislamiento, purificación y manejo de microorganismos productores naturales de cocteles enzimáticos constituye una opción que permitiría mejorar los rendimientos de producción de glucosa y disminuir los costos por su compra. Considerando que el aumento de la eficiencia de la hidrólisis enzimática se encuentra mediante la optimización, en esta investigación se procedió a utilizar cocteles enzimáticos provenientes de organismos aislados en Ecuador para mezclarlos con enzimas comerciales. En esta búsqueda se ha planteado la optimización como el proceso para encontrar en dónde están las mejores condiciones de la hidrólisis enzimática, empleando enzimas comerciales y nativas, para disminuir el costo de producción de la tecnología de producción de etanol a partir de las enzimas en estudio.

El indicador que se seleccionó para optimizar son los costos de producción del proceso tecnológico de la hidrólisis enzimática para una producción de etanol, fijado previamente de acuerdo con la capacidad instalada en una industria de la celulosa empleando una mezcla de celulasas comercial y nativas. Varios son los mecanismos que se pueden emplear para optimizar el proceso de hidrólisis del bagazo, los cuales han buscado el minimizar el costo de la producción de etanol de segunda generación, además deben ser económicos, eficientes y bajos en requerimientos de energéticos. Bajo este marco, el uso y combinación de enzimas apunta como una de las mejores alternativas. Y ésta es

la que se explora en este estudio que tiene como objetivo evaluar, aplicando métodos de optimización, las posibilidades de empleo de los cocteles nativos de enzimas provenientes de *Bacillus subtilis* y *Scopulariopsis brevicaulis* como complemento de las enzimas comerciales.

Material y métodos

La determinación de la composición óptima de mezclas enzimáticas fue realizada mediante un estudio de mezclas aplicando el método de enrejado simplex⁹, que tuvo como criterio de optimización el rendimiento de hidrólisis enzimática. Se estudiaron las posibilidades de mezclar tres compuestos enzimáticos, dos de ellos a partir de un coctel de celulasas de origen bacteriano y fúngico respectivamente (aisladas a partir de microorganismos nativos de Ecuador) y de una enzima comercial *Aspergillus niger* (Sigma 39 IU/g) para hidrolizar bagazo de caña de azúcar en sus condiciones óptimas⁵ de acuerdo con el diseño de mezclas mostrado en la Figura 1.

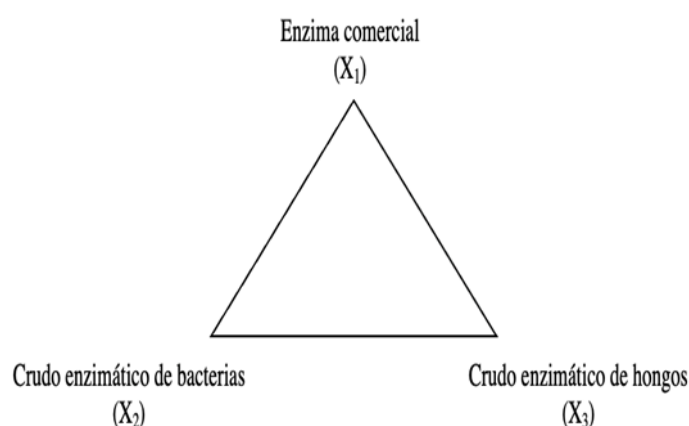


Figura 1. Método de Enrejado Simplex, polinomio de segundo grado.

Para lo que los rendimientos de la hidrólisis se determinan por la ecuación 1:

$$\text{Rendimiento} = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_1 2X_1 X_2 + \beta_1 2X_1 X_3 + \beta_2 3X_2 X_3 + \dots \quad (1)$$

Donde:

X_1 es (cantidad, concentración, eficiencia) de enzima comercial.

X_2 es (cantidad, concentración, eficiencia) de cruza enzimático de bacterias.

X_3 es (cantidad, concentración, eficiencia) de cruza enzimático de hongos.

β_1 , β_2 y β_3 son sus respectivos parámetros.... (cantidad, concentración, eficiencia).

Para la obtención de las mejores condiciones de conducción de la hidrólisis enzimática, se elaboraron los modelos del proceso tecnológico de la misma para cada uno de los puntos del diseño de las diferentes mezclas de enzimas nativas y comerciales.

En el estudio de la eficiencia de la hidrólisis enzimática se empleó una combinación del diseño experimental de Plackett-Bürman¹⁰ complementándose con el de Box-Hunter¹¹, los que han sido

empleados con éxito por González y colaboradores¹² para minimizar los experimentos en su investigación.

La utilización del diseño de Box-Hunter¹¹ requiere definir, según los resultados, los contrastes entre las variables y sus interacciones y generar relaciones para el mezclado de los efectos de las variables¹³. Los experimentos fueron planteados para determinar el tipo de dependencia del parámetro de respuesta Y (Rendimiento de glucosa en gramos /100 gramos de materia prima) de las variables independientes en los rangos que se definen como mínimos (-) y máximos (+):

X₁: temperatura 35 (-) y 50 (+); °C

X₂: carga enzimática 10 (-) y 25(+); UPF/g

X₃: velocidad de agitación 150 (-) y 200 (+); rpm

X₄: tiempo 15 (-) y 24 (+); horas

X₅: porcentaje de sólidos (-) 4 y 8 (+); %

X₆: Tween 0,1 (-) y 0,2 (+); %

A partir de la información y modelos generados en la etapa experimental para analizar la hidrólisis enzimática con los diferentes cocteles de enzimas nativas y comerciales, como ha sido presentada⁵ se aplicó el modelo factorial obtenido del diseño de Box- Hunter¹¹, para explorar todas las posibles variantes a realizar en el laboratorio con el coctel enzimático. De esta forma se busca la posibilidad de la existencia de condiciones de la hidrólisis con un rendimiento mayor al obtenido en los experimentos realizados, explorando, con ayuda del modelo las ocho probabilidades de un diseño factorial completo 2^k, que no se incluyeron en los ocho ensayos ejecutados a nivel experimental a través del diseño Plackett-Burman¹⁰.

Después de determinar mediante el diseño factorial el ensayo con el mejor rendimiento de glucosa en gramos /100 gramos de materia prima (Y), se empleó el método de optimización directa en el que se aplicó la función real modelada a partir del costo en función del porcentaje de enzima comercial y nativa; se obtuvo el gráfico de la dependencia de costos totales de producción (USD) vs por ciento (%) de mezcla y se ajustaron los resultados.

Utilizando los tres puntos más bajos de la curva, se obtuvo una ecuación mediante el método de los mínimos cuadrados: La derivada de la ecuación permitió determinar el punto de mezcla en el que los costos de la etapa de hidrólisis son mínimos.

Una vez obtenido el mejor rendimiento de las mezclas de enzimas, mediante el método de optimización empleado, se procedió a determinar la cantidad de las materias primas a emplear en la hidrólisis enzimática, considerando las condiciones del mejor ensayo. Para establecer los equipos que intervienen en el proceso tecnológico, varios son los detalles que deben tomarse en cuenta para la inclusión de biomasa en el proceso de producción de etanol de una destilería común. En relación a

esto, un análisis exhaustivo debe ser realizado para la integración de biomasa en la obtención de productos de interés¹⁴. Sin embargo, para simplificación de este análisis se utilizará como referencia parámetros que garanticen una producción 500 hL de etanol al día, basado en un estudio previo de una destilería de etanol cubana¹⁴. Además de este estudio, Blanco¹⁵ reportó que las capacidades instaladas en países azucareros como Cuba oscilan entre 370 y 2000 hL/día, por lo que se consideró oportuno realizar el estudio para una instalación de 500 hL/día.

Resultados

Determinación de los componentes de la mezcla

Partiendo de los resultados obtenidos para las mezclas de enzimas comercial y cocteles celulolíticos nativos analizados, bajo las condiciones experimentales que mejores resultados brindaron en los respectivos estudios de hidrólisis enzimática⁶ de los elementos puros y mezclados del plan experimental, se obtienen los resultados que se muestran en la Tabla 1. Se determinaron los coeficientes del modelo de mezclas de enzimas comerciales y nativas.

Tabla 1. Rendimiento de glucosa/100 g materia prima para el diseño mezclas de enzimas nativas y comerciales.

<i>Puntos</i>	<i>Enzima Comercial</i> (X_1)	<i>Enzima Bacteria</i> (X_2)	<i>Enzima Hongos</i> (X_3)	<i>RE HE</i> (g/100 g _{mp})
1	1	0	0	25,9
2	0	1	0	11,96
3	0	0	1	0,53
4	0,5	0,5	0	15,64
5	0,5	0	0,5	1,34
6	0	0,5	0,5	0,09

RE HE*: Rendimiento de la hidrólisis enzimática gramos de glucosa/100 g materia prima (g/100 g_{mp})

Para determinar los coeficientes de la ecuación 1, se emplearon las pautas generadas^{16,17} que son las siguientes:

$\beta_1 = Y_1$: Rendimiento del componente puro 1 (Enzima comercial).

$\beta_2 = Y_2$: Rendimiento del componente puro 2 (cocteles enzimáticos nativos de origen bacteriano del Ecuador).

$\beta_3 = Y_3$: Rendimiento del componente puro 3 (cocteles enzimáticos nativos de origen fúngicos).

$$\beta_{12} = 4Y_{12} - 2Y_1 - 2Y_2 \tag{2}$$

$$\beta_{13} = 4Y_{13} - 2Y_1 - 2Y_3 \tag{3}$$

$$\beta_{23} = 4Y_{23} - 2Y_2 - 2Y_3 \tag{4}$$

Siendo el modelo de mezclas:

$$\text{Rendimiento} = 25,9X_1 - 11,965X_2 - 0,53X_3 - 13,6X_1X_2 - 47,5X_1X_3 - 24,5X_2X_3 \quad (5)$$

Estos resultados demuestran que la contribución de las enzimas de origen fúngico, en el caso en estudio, no aportan de forma significativa en la acción enzimática del hidrolizado del bagazo. Esta situación para enzimas de origen fúngico, contrario a lo esperado, se debe al comportamiento exitoso de los hongos en sustratos sintéticos e ineficientes en relación con sustratos naturales como el bagazo de caña de azúcar.

Por lo anterior, se decidió reducir la investigación al caso de una mezcla binaria de dos componentes: enzima comercial y coctel de enzimas de origen bacteriano. De acuerdo con esto la ecuación 5 se reduce a la ecuación 6 de dos variables independientes, a saber:

$$\text{Rendimiento} = 25,9X_1 - 11,965X_2 - 13,6X_1X_2 \quad (6)$$

Determinación de las mejores condiciones de operación de la hidrólisis enzimática.

Para determinar las mejores condiciones de operación de la hidrólisis enzimática, en el diseño de Plackett – Búrman¹⁰, se utilizó un plan de ocho ensayos y siete variables independientes, una de ellas falsa variable, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Plan experimental de Plackett – Búrman para ocho ensayos.

Ensayo	X ₁	X ₂	X _f	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	Y (g/100g _{mp})
1	+	+	+	-	+	-	-	15,65
2	+	+	-	+	-	-	+	10,45
3	+	-	+	-	-	+	+	2,36
4	-	+	-	-	+	+	+	6,27
5	+	-	-	+	+	+	-	6,90
6	-	-	+	+	+	-	+	9,65
7	-	+	+	+	-	+	-	2,16
8	-	-	-	-	-	-	-	6,34

La significación de las variables se analizó de acuerdo a los resultados de la falsa variable y las t de Student, tabuladas al 85 % de probabilidad, considerando la recomendación de Isaccson¹⁶ de utilizar este valor de probabilidad para casos de problemas con precisión experimental.

Se obtuvo que las variables X₃ y X₆ (velocidad de agitación y concentración de Tween) no son significativas para los rangos estudiados y se pueden descartar en los restantes ensayos.

Después de eliminar estas variables, menos significativas en los rangos estudiados, se aplicó el diseño de Box-Hunter 2⁴⁻¹, que fue complementado con las correspondientes réplicas en cada ensayo aprovechando los resultados ya obtenidos en el experimento del diseño de Plackett – Búrman¹⁰, como se presenta en la Tabla 3.

Tabla 3. Plan experimental de Box–Hunter 2⁴⁻¹.

Ensayo	X ₁	X ₂	X ₄	X ₅	Y ₁ (g/100g)	Y ₂ (g/100g)	Y _m (g/100g)	(Y _m - Y _c) ²
1	+	+	+	-	15,65	17,38	16,52	0,748225
2	+	+	-	-	10,45	11,94	11,195	0,555025
3	+	-	-	+	2,36	3,42	2,89	0,2809
4	-	+	+	+	6,27	5,11	5,19	1,1664
5	+	-	+	+	6,90	5,91	6,405	0,245025
6	-	-	+	-	9,65	7,61	8,63	1,0404
7	-	+	-	+	2,16	2,95	2,555	0,156025
8	-	-	-	-	6,34	5,56	5,95	0,1521
$S(Y^2) = \sum Y_m - Y_c)^2 / n$								3,4637

Las varianzas experimentales se determinaron homogéneas debido a que:

$$\frac{(Y_m - Y_c)^2_{Max}}{(Y_m - Y_c)^2_{Min}} < Ft_{1,1} = 161 \text{ de Juran}^{18} \quad (7),$$

Siendo:

Y₁: resultado experimental obtenido de los ensayos del diseño original de Plackett- Búrman.

Y₂: resultado experimental obtenido de los ensayos complementarios del diseño de Box - Hunter 2^{k-p}.

El contraste definido fue:

$$X_5 = -X_1X_2 \quad (8)$$

Y entonces siendo:

$$1 = -X_1X_2X_5 \quad (9)$$

Las mezclas de los efectos se muestran como sigue:

$$b_1 = \beta_1 - \beta_{25} \quad (10)$$

$$b_2 = \beta_2 - \beta_{15} \quad (11)$$

$$b_4 = \beta_4 - \beta_{1245} \quad (12)$$

$$b_5 = \beta_5 - \beta_{12} \quad (13)$$

$$b_{14} = \beta_{14} - \beta_{245} \quad (14)$$

$$b_{24} = \beta_{24} - \beta_{245} \quad (15)$$

$$b_{45} = \beta_{24} - \beta_{124} \quad (16)$$

Lo que reduce las posibilidades de determinar interacciones de las variables. La significación de los factores que influyeron sobre la hidrólisis se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Coeficientes del diseño factorial de Box-Hunter para mezcla de enzima comercial y cocteles enzimáticos de bacteria.

b_0	b_1	b_2	b_4	b_5	b_{14}	b_{24}	b_{45}
7,4725	1,77875	1,50375	1,8375	-3,1	0,37125	0,28875	-0,1625

Pero considerando que $\Delta b_j = + 1,734169$ para una $t_{8,95}$ es de $1,86^{18}$.

El modelo que caracteriza la hidrólisis enzimática para una mezcla de dos componentes, es decir de enzimas comerciales y cocteles enzimáticos de bacterias de *Bacillus subtilis* es al 50% de cada uno, descartando las variables no significativas por ser sus coeficientes menores que $\Delta b_j = + 1,734169$, como sigue:

Rendimiento Yes (g de producto/g de materia prima):

$$Yes = 7,4725 + 1,77875X_1 + 1,50375X_2 + 1,8735X_4 - 3,1X_5 \quad (17)$$

De acuerdo con estos resultados, se realizó la estimación de los valores por el modelo obtenido y comparándolos con los experimentales se hizo la estimación de la varianza de adecuación $S^2_{(ad)}$, donde la ecuación a continuación tiene $f = N - (K + 1)$ siendo N el número de ensayos y K el número de variables, para este caso es 1:

$$S^2_{(ad)} = \sum_{i=1}^n \frac{(Y^I - Y^{II})^2}{f_1} \therefore S^2_{(ad)} = \sum_{i=1}^n \frac{(Yes - Y_m)^2}{f} \quad (18)$$

Esto debido a que, aplicando la prueba de Fisher, siempre que el valor de F_{f_1, f_2} calculada = $S^2_{(ad)} / S^2_{(y)}$ es menor a que la F_{f_1, f_2} tabulada:

Siendo f el número de grados de libertad = $n - (k + 1) = 3$ y $S^2_{(ad)}$: 1,4064

Respecto a lo anterior, cuando se producen idénticos valores de predicción de los modelos en relación a los valores experimentales la varianza de adecuación es cero y los modelos son adecuados. Por lo anterior, mediante la prueba de Fisher se verificó la adecuación del modelo¹³. La adecuación del modelo correspondiente al parámetro de respuesta de Rendimiento de glucosa /100g de materia prima, para el cual la varianza de adecuación, $S(ad)^2$ se determinó considerando el valor calculado F de $3,8 = 0,66029/0,8692 = 0,75692$, que es menor que el F tabulado $F_{1,8} = 5,32^{18}$, por esto se consideró que el modelo obtenido del diseño de Box-Hunter es adecuado para predecir los resultados. A partir de estos resultados para la mezcla de 50% de enzima comercial y 50% de cocteles enzimáticos nativos de bacteria, se determinan todas las posibles variantes a realizar experimentalmente el coctel enzimático (Tabla 5), para analizar si es posible que haya un rendimiento mayor al obtenido en los experimentos ya realizados. Se buscaron las ocho posibilidades no experimentadas en los ensayos anteriores y en ninguna resultó un estimado más alto que el resultado experimental obtenido en el experimento inicial. Esta segunda etapa de búsqueda del óptimo, en las posibilidades no experimentadas, se realizó mediante la aplicación del método factorial completo.

Tabla 5. Universo de modelo experimental de todas las posibles variables a realizar.

<i>N°</i>	<i>X₁</i>	<i>X₂</i>	<i>X₄</i>	<i>X₅</i>	<i>Rendimiento de glucosa/100g</i>
1	1	1	1	1	9,49
2	1	1	1	-1	16,52
3	1	1	-1	1	5,81
4	1	1	-1	-1	11,19
5	1	-1	1	1	6,40
6	1	-1	1	-1	12,685
7	1	-1	-1	1	2,89
8	1	-1	-1	-1	9,01
9	-1	1	1	1	5,19
10	-1	1	1	-1	5,69
11	-1	1	-1	1	2,56
12	-1	1	-1	-1	8,46
13	-1	-1	1	1	2,93
14	-1	-1	1	-1	8,63
15	-1	-1	-1	1	-0.48
16	-1	-1	-1	-1	5,95

(En negritas los ensayos experimentales)

Los resultados obtenidos expresan como mejor rendimiento el ensayo 2 (16,52 gramos de glucosa/100g de bagazo), en el que las condiciones son X₁: 50°C; X₂: 25 UPF; X₄: 24 horas y X₅: 5% de bagazo. Se mostraron rendimientos aceptables en el ensayo 6 (12,68 gramos de glucosa/100g de bagazo).

Este trabajo permitió que los ensayos con mezclas de enzimas comerciales y cocteles de enzimas provenientes de *Bacillus subtilis*, en el contexto de por ciento de mezclas, muestren los mejores resultados utilizando el método del paso ascendente¹³, partiendo de los valores iniciales que recomienda el modelo de :

X₁: nivel superior de temperatura 50 °C;

X₂: nivel superior de carga enzimática de 25 UPF/g;

X₃: velocidad de agitación media, por no tener incidencia significativa es de 150 rpm;

X₄: tiempo de bajo de 24 horas;

X₅: % de sólido bajo de 2,5 % (p/v);

X₆: tween medio, por no ser su acción significativa en el intervalo explorado, Tween 80 (2,5 % sobre fibra seca).

El interés en utilizar un porcentaje de coctel enzimático de bacteria autóctona de Ecuador, en el

proceso de hidrólisis enzimática, permite promover la recomendación de implementar nuevas tecnologías para la producción de cocteles enzimáticos. Estudios, como el de da Silva y colaboradores³ utilizan mezclas de celulasas producidas en el laboratorio y comerciales, para mejorar la eficiencia del proceso² muestran que los balances entre las enzimas de cocteles enzimáticos constituyen una aproximación promisorio para optimizar la hidrólisis enzimática².

Aplicación del método de optimización directa en el análisis económico de evaluación de las mezclas.

En este análisis de optimización se planteó optimizar el costo de la tecnología. Para esto se calculó, el modelo de mezclas obtenido (5) y el rendimiento de glucosa /100g materia prima, para diferentes proporciones de mezclas entre enzimas comerciales y nativas como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Rendimientos de las diferentes mezclas.

No	Mezcla		Rendimiento gramos de glucosa /100g materia prima
	% Enzima comercial	% Enzimas nativas de Ecuador	
1	70	30	18,954
2	60	40	17,17
3	50	50	15,64
4	20	80	12,64

Después de obtener los rendimientos, se determinó la cantidad de bagazo que se debe emplear en cada mezcla, ver tabla 7, para la obtención de 500 hL/etanol por día.

La cantidad de bagazo fue determinada considerando que en los estudios de laboratorio se emplean 1,13 g de cocteles celulolíticos diluidos en 25 mL de tampón citrato para degradar 1,6 g de bagazo. Por lo tanto, en la industria se requerirán 1 856 000 g de celulasas diluidas en 41 061 946 mL de tampón citrato para degradar 2 605 000 g de bagazo. La cantidad de bagazo de caña de azúcar fue calculada según refiere Mesa¹⁹, determinando que 5,21 kg, de bagazo de caña de azúcar producen 1 L de etanol.

Tabla 7. Cantidad de bagazo necesario para las diferentes mezclas enzimáticas en la hidrólisis.

Mezcla		Bagazo (kg)
% Enzimas comerciales	% Enzimas nativas de Ecuador	
70	30	403 539
60	40	445 373
50	50	488 942
20	80	604 988

A partir de los resultados experimentales obtenidos y de la información generada en los estudios cinéticos se constata que en el laboratorio se aislaron $7E^{-6}$ g de coctel de celulasas diluidas en agua y suero de leche para degradar 0,001 kg de bagazo de caña de azúcar. Por lo tanto, para degradar 260 500 kg de bagazo de caña de azúcar, se requiere, 1 856 kg de coctel de enzimas celulasas nativas que corresponden a 2 320 L, tomando en cuenta la densidad del coctel calculado en el laboratorio, que es de $0,8 \text{ g/cm}^3$.

En función de los resultados expuestos, en el trabajo de Villavicencio y colaboradores⁵ se realizaron los balances de masa y energía para calcular la cantidad de bagazo y reactores que serían empleados para la hidrólisis enzimática de bagazo de caña de azúcar para la obtención de 500 hL de etanol/día. Basados en las cantidades de bagazo mostradas en la tabla 7, se realizó una estimación del número de reactores que se incluirían en la hidrólisis enzimática, sustentados en la publicación de Batallas²⁰. Además, con el objetivo de ejemplificar la viabilidad financiera, los costos de estos también fueron expuestos en la tabla 8.

Tabla 8. Número y cantidad de reactores con el precio actual.

No	Mezcla		N° reactores	Capacidad (L)	Costo (USD)
	% Enzimas comerciales	% Enzimas nativas de Ecuador			
1	70	30	26	37854,1	2 620 800
2	60	40	27		2 721 600
3	50	50	28		2 822 400
4	20	80	31		3 124 800

En base a la cantidad de bagazo (tabla 7) y el número de reactores (tabla 8) se determinó la cantidad de materiales a emplear en la hidrólisis tanto de enzimas comerciales como de las enzimas nativas del Ecuador. Considerando las mejores condiciones realizadas experimentalmente (tabla 6), se calculó el costo total de producción (CTP) y el capital fijo invertido (CFI), como se puede apreciar en la tabla 9.

Tabla 9. CTP y CFI para una producción de 500 hL/día de etanol.

No	Mezcla		Costo Total de Producción (USD)	Capital Fijo Invertido (USD)
	% Enzimas comerciales	% Enzimas nativas		
1	70	30	9 326 998	5 530,71
2	60	40	9 253 000	5 743,43
3	50	50	9 687 255	5 956,15
4	20	80	10 569 703	6 594,31

Analizando los resultados, se puede observar, como a medida que aumenta el uso de enzimas

comerciales disminuye el Costo total de producción y con ello el costo Unitario de Producción en una producción diaria de 500 hectolitros constante. Sin embargo, en determinado punto, en 60% de las enzimas comerciales en la mezcla, los resultados comienzan a mostrar un incremento. El uso de las enzimas comerciales perjudica los indicadores de costo, por lo que a esos porcentajes de mezclas oportunas, le favorece la utilización de un por ciento de cocteles enzimáticos nativos de Ecuador, por lo que se requiere fijar el punto de inflexión del comportamiento (Figura 2).

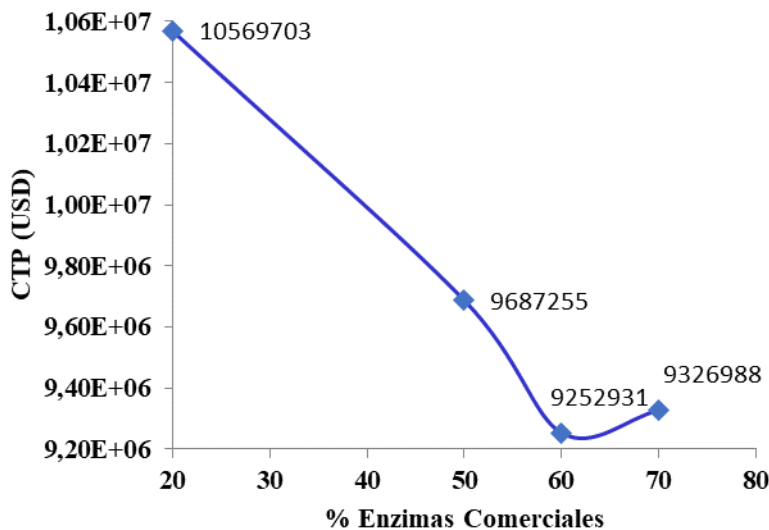


Figura 2. Gráfico del Costo Total de Producción vs % de enzimas comerciales

En la Figura 2 se puede observar que, al emplear el 20% de enzimas comerciales es mayor el CTP, ya que a medida que aumenta el uso de enzimas comerciales, disminuye el CTP, sin embargo, se llega a un punto de inflexión cuando se usa 60% de enzimas comerciales, en el cual vuelve a aumentar el CTP. Por lo tanto, se analiza más detalladamente el gráfico cuando se usan 60 % de enzimas comerciales. Mediante el comportamiento de la figura, se determinó una ecuación cuadrática que representara el comportamiento de la curva que explica el comportamiento, donde se obtuvo la siguiente ecuación:

$$Y = 2541,9X^2 - 323042X + 2E^7 \quad (19)$$

En la ecuación se considera que X es el porcentaje de la enzima comercial y Y los costos de estas enzimas en USD.

La ecuación cuadrática obtenida fue derivada con el objetivo de encontrar el porcentaje óptimo de enzimas comerciales a emplear en la mezcla para trabajar a un mínimo costo.

La función cuadrática de la Figura 2 es:

$$Y = 2541,9X^2 - 323042X + 2E^7 \text{ o } Y = 2 * 10^7 - 323042X + 2541,9X^2 \quad (20)$$

Derivando e igualando a cero se tiene que:

$$\frac{dy}{dx} = 2(2541,9)x - 323092 = 0 \quad (21)$$

$$x = 63,55.$$

Discusión

Este análisis muestra que la región del óptimo para disminuir el costo de la hidrólisis empleando la nueva mezcla de enzima comercial y cocteles enzimáticos de bacteria nativa de Ecuador se alcanza empleando 63,5% de enzima comercial y 36,5% de cocteles enzimáticos nativos.

Varios han sido los estudios que muestran que el uso de enzimas de origen no comercial puede presentar mayor potencial hidrolítico de celulosa con respecto a las enzimas comerciales puras. Uno de estos estudios mostró que el mayor nivel de azúcar producido se logró mediante la integración de enzimas comerciales con cocteles enzimáticos en proporciones equitativas (50%)²¹. Los autores recalcan que la mezcla tuvo mejor rendimiento hidrolítico con respecto al extracto puramente comercial. Observaciones de este tipo también fueron evidentes en un estudio comparando un coctel de *Celluclast*® con uno enzimático de especies no-comerciales, en el que el segundo logra la conversión de celulosa en glucosa en un rango mayor al 40%². La combinación de extractos enzimáticos de especies de *Bacillus* con celulasas comerciales han sido reportados²². La mayoría de estos estudios, sugieren que encontrar la mejor sinergia entre las mezclas enzimáticas es primordial para lograr la reducción de costos de utilización de biomasa.

Conclusiones

La intensificación de las producciones de coproductos químicos en la industria de la caña de azúcar en su desarrollo como biorrefinería hace factible la estratégica sinérgica de desarrollo entre la industria química y los sectores que utilizan la biomasa como materia prima.

La producción de etanol de segunda generación puede hacerse más viable técnica y económicamente mediante una mezcla óptima de enzimas comerciales y mezclas enzimáticos autóctonos.

La región del óptimo para reducir el costo de producción de la etapa de hidrólisis enzimática de bagazo de caña de azúcar empleando la nueva mezcla de enzima comercial y cocteles enzimáticos de bacteria nativa de Ecuador se alcanza empleando 63,5% de enzima comercial y 36,5% de cocteles enzimáticos nativos.

En este estudio de hidrólisis enzimática de bagazo de caña de azúcar empleando un coctel de enzimas comerciales y nativas, se ha logrado optimizar el proceso tecnológico empleando un diseño de mezclas, mediante el enrejado simplex; la aplicación del diseño de Box-Hunter.

El método factorial fraccionado y el método directo de optimización fundamentado en las funciones reales, permitió disminuir los costos de la hidrólisis enzimática de bagazo de caña a partir de la nueva

mezcla de celulasas propuesta, lo cual representa un avance hacia la viabilidad de este tipo de procesos.

Contribución de los autores:

Jenny Serrano Castillo¹, Conceptualización, metodología, análisis formal, preparación del borrador original del escrito, revisión de escritura y edición, visualización, supervisión, administración del proyecto, adquisición de financiamiento; Carmen A. Salvador Pinos², Conceptualización, metodología, validación, investigación, recursos, curación, de datos, preparación del borrador original del escrito, administración del proyecto, adquisición de financiamiento; Yaiet Albernas Carvajal³, software, validación, análisis formal, curación de datos; Ronny Pibaque Sánchez⁴, validación, investigación, recursos, curación de datos; Erenio González Suárez^{5*} Conceptualización, metodología, análisis formal, revisión de escritura y edición, visualización, supervisión.

Financiamiento: esta investigación no recibió financiamiento externo

Declaración de la Junta de Revisión Institucional: el estudio no incluyó humanos ni animales.

Declaración de consentimiento informado: no procede por ser innecesario

Declaración de disponibilidad de datos: los datos disponibles están en el texto

Agradecimientos: a las Universidades de Central “Marta Abreu” de Las Villas Cuba y la Central del Ecuador por las oportunidades

Conflicto de intereses: los autores declaran que no hay conflictos de intereses en esta investigación.

Referencias

1. Morales Zamora M, De Armas Martínez AC, González Suárez E, Ley Chong N, Villanueva Ramos G. La sinergia entre las biorrefinerías de azúcar y el desarrollo de la industria química en Cuba. *Revista Universidad y Sociedad*. 2021;13(5):81-91. Disponible en: <https://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus/article/view/2213>
2. Bussamra B, Freitas S, da Costa AC. Improvement on sugar cane bagasse hydrolysis using enzymatic mixture designed cocktail. *Bioresource Technology*. 2015;187:173–181. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.117>
3. Sant'Ana da Silva A, Fernandes de Souza M, Ballesteros I, Manzanares P, Ballesteros M, Bon EP. High-solids content enzymatic hydrolysis of hydrothermally pretreated sugarcane bagasse using a laboratory-made enzyme blend and commercial preparations. *Process Biochemistry*. 2016;51(10):1561–1567. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.07.018>
4. Salvador Pinos CA, Albernas Carvajal Y, Mesa Garriga L, García-Rodríguez A, Villamarin-Barriga E, Pibaque Sanchez RJ, et al. Obtaining the kinetic parameters of the enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse using a new enzyme mixture from commercial *Aspergillus niger*

- and a local strain of *Bacillus subtilis* (Bal3). *Afinidad*. **2021**;78(592):54-61.
<https://raco.cat/index.php/afinidad/article/view/385612>
5. Villavicencio Montoya J, Salvador Pinos CA, Batallas Merino F, Pérez Martínez A, Mesa Garriga L, González Suárez E. Use of native cellulolytic enzymes from Ecuador, in the enzymatic hydrolysis for the ethanol production. *Centro Azúcar*. **2018**;45(3):91–100. Disponible en: http://centroazucar.uclv.edu.cu/index.php/centro_azucar/article/view/75
 6. Salvador C. Obtención y uso de enzimas nativas del Ecuador para la producción de etanol de segunda generación. [Tesis Doctoral]. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas; **2018**.
 7. Adsul M, Sandhu SK, Singhania RR, Gupta R, Puri SK, Mathur A. Designing a cellulolytic enzyme cocktail for the efficient and economical conversion of lignocellulosic biomass to biofuels. *Enzyme and Microbial Technology*. **2020**;133:109442.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141022919301802?via%3Dihub>
 8. de Paula RG, Antoniêto ACC, Ribeiro LFC, Srivastava N, O'Donovan A, Mishra PK, et al. Engineered microbial host selection for value-added bioproducts from lignocellulose. *Biotechnology Advances*. **2019**;37(6):107347.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S073497501930014X?via%3Dihub>
 9. Scheffé H. Experiments with Mixtures. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*. **1958**;20(2):344–360. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Experiments-with-Mixtures-Scheffé/6541e378aa3e5f84ff212449aa2d4ea1d130b985>
 10. Plackett RL, Burman JP. The Design of Optimum Multifactorial Experiments. *Biometrika*. **1946**;33(4):305–325. <https://www.jstor.org/stable/2332195>
 11. Box GEP, Hunter JS. The 2 k-p Fractional Factorial Designs Part I. *Technometrics*. **2000**;42(1):28–47. <https://doi.org/10.2307/1271430>
 12. González E, Ramos F, Ribot L, Peralta L. Combinación de los métodos de diseño experimental en la minimización de los ensayos de una investigación. *Tecnología Química*. **1986**; 11:17–21. Disponible en: <https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&q=Gonz%C3%A1lez%2C+E.%2C+Ramos%2C+F.%2C+Ribot%2C+L.+%26+Peralta%2C+L.+%281986%29.+Combinaci%C3%B3n+de+los+m%C3%A9todos+de+dise%C3%B1o+experimental+en+la+minimizaci%C3%B3n+de+los+ensayos+de+una+investigaci%C3%B3n.+Tecnolog%C3%ADa+Qu%C3%ADmica%2C+11%2C+17%E2%80%9321>
 13. Adler IUP, Markova EV, Granolvsky Y. *The Design of Experiments to Find Optimal Conditions: A Programmed Introduction to the Design of Experiments*. MIR Publishers; **1975**.

14. González E, Miño JE. *Aspectos de la estrategia de procesos para el aprovechamiento de la biomasa - Como fuentes de productos químicos y biocombustibles*. Editorial Universitaria de Misiones; **2014**.
15. Blanco G. La producción de alcohol a partir de la industria química y sus posibilidades. *ICIDCA*. **1987**;21(2):12–18. Disponible en: <https://catalogosiidca.csuca.org/Record/UNANL.2168>
16. Isaacson W. Statistical Analysis for multivariable Systems. *Chemical Engineering*. **1970**;6:69–75.
17. Akhnazarova S, Kafarov VV. *Experiment Optimization in Chemistry and Chemical Engineering*. MIR Publishers; **1982**. <https://doi.org/10.1002/pol.1984.130220614>
18. Juran JM, Gryna FMJ, Bingham RSJ. *Quality Control Handbook*. McGraw Hill Book Company; **1974**.
19. Mesa Garriga L. "Estrategia investigativa para la tecnología de obtención de etanol y coproductos del bagazo de la caña de azúcar" [Tesis Doctoral]. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas; **2010**.
20. Batallas Merino F, Salvador Pinos CA, Villavicencio Montoya J, González Gavilánez H, González Suárez E. Hidrólisis enzimática del bagazo de caña para la obtención de etanol empleando enzimas nativas y comerciales. *Centro Azúcar*. **2018**;45(4):90-100.
21. Maeda RN, Serpa VI, Rocha VAL, Mesquita RAA, Anna LMMS, De Castro AMH, et al. Enzymatic hydrolysis of pretreated sugar cane bagasse using *Penicillium funiculosum* and *Trichoderma harzianum* cellulases. *Process Biochemistry*. **2011**;46(5):1196–1201. <https://www.sciencedirect.com>
22. Thite, V.S. & Nerurkar, A.S. (2020). Crude Xylanases and Pectinases from *Bacillus* spp. Along with Commercial Cellulase Formulate an Efficient Tailor-Made Cocktail for Sugarcane Bagasse Saccharification. *BioEnergy Research*, 13(1), 286–300. <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/6904744>
23. Thite VS, Nerurkar AS. Crude Xylanases and Pectinases from *Bacillus* spp. Along with Commercial Cellulase Formulate an Efficient Tailor-Made Cocktail for Sugarcane Bagasse Saccharification. *BioEnergy Research*. **2020**;13(1):286–300. Disponible en: <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/6904744>

/ **Received:** 23 May 2024 | **Accepted:** 7 June 2024 | **Published:** 15 June 2024 |

Citation: Serrano Castillo J, Salvador Pinos CA, Albernas Carbajal Y, Pidaque Sánchez R, González Suárez E. Mezcla óptima de enzimas comerciales y autóctonas para la hidrólisis en el desarrollo

sinérgico de la industria química y las biorrefinerías. *Bionatura*. 2024;9(2). DOI:
<http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.11>

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>.






All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

12 Análisis bibliométrico para identificar brechas en la literatura científica sobre la innovación y el diseño óptimo multicriterio de biorreactores anaeróbico de flujo ascendente (UASB).

Bibliometric analysis to identify gaps in the scientific literature on innovation and multi-criteria optimization for the design of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) bioreactors.

Julio César Borrero Neninger ¹/*; Rolando Esteban Simeón Monet ²; José Arzola Ruiz ³; Leider Inocencio Saraiba Nuñez ⁴; Raul Torres Sainz ⁵.

^{1, 2, 4, 5}: Grupo de desarrollo de la producción cañera, mecanización y comunidades rurales en la provincia Holguín / Universidad de Holguín / Holguín / Cuba

³: Universidad Tecnológica de La Habana CUJAE / La Habana / Cuba;

* Correspondence: jborreroneninger@gmail.com ; Tel.: +53

51440401, +53 52858565

Available from: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.12>

Resumen

La digestión anaerobia para la obtención de biogás se considera una tecnología establecida para la producción de energía a partir de una gran variedad de residuos y subproductos de procesos industriales y agrícolas. Con esta investigación se pretende realizar un análisis exhaustivo de la literatura científica, buscando una correlación directa entre la optimización multicriterio y el diseño de Sistemas de Biorreactores Anaerobios de Flujo Ascendente (UASB). La ausencia de investigación específica sobre la optimización multicriterio aplicada al diseño de UASB resalta la existencia de brechas importantes en el conocimiento científico y apunta hacia futuras líneas de investigación para comprender y aprovechar el potencial de la optimización en el diseño de UASB. Esta observación señala la necesidad de promover y desarrollar futuras líneas de investigación en esta área en particular. Este artículo tiene la finalidad de buscar de manera cuantitativa la producción y el uso de la literatura científica en la temática de innovación y el Diseño Óptimo multicriterio de Biorreactores Anaeróbico de Flujo Ascendente (UASB) que permita generar nuevos elementos para los estudios del tema y aportar un nuevo conocimiento para la optimización del proceso de producción de biogás con elementos contaminantes del medio ambiente provenientes de la industria zucro-alcoholera.

Palabras Clave. Biogás; digestión anaerobia; diseño; optimización multicriterio.

Abstract

Anaerobic digestion for biogas production is an established technology for the production of energy from a wide variety of wastes and byproducts of industrial and agricultural processes. The purpose of this research is to perform a comprehensive analysis of the scientific literature, looking for a direct correlation between multi-criteria optimization and the design of Upflow Anaerobic Bioreactor Systems (UASB). The absence of specific research on multicriteria optimization applied to UASB design highlights the existence of important gaps in scientific knowledge and highlights future research lines to understand and exploit the potential of optimization in UASB design. These observations highlight the need to promote and develop future lines of research in this area. The purpose of this article is to quantitatively search for the production and use of scientific literature on the subject of innovation and the Optimal Multicriteria Design of Anaerobic Upflow Anaerobic Bioreactors (UASB) to generate new elements for studies on the subject and to contribute new knowledge for the optimization of the biogas production process with environmentally polluting elements from the sugar-alcohol industry.

Keywords. Biogas; anaerobic digestion; design; multicriteria optimization.

Introducción

La bibliometría es la bibliografía estadística basada en la necesidad de efectuar recuento de las publicaciones existentes, la disciplina que cuantifica el contenido de los libros, y el estudio cuantitativo de las unidades físicas publicadas, de las unidades bibliográficas, o de sus sustitutos. Igualmente se define como la aplicación de análisis estadísticos para estudiar las características del uso y creación de documentos, como el estudio cuantitativo de la producción de documentos, tal y como se refleja en las bibliografías, y como la aplicación de métodos matemáticos y estadísticos al estudio del uso que se hace de los libros y otros medios dentro y entre los sistemas de bibliotecas.¹

La bibliometría es una subdisciplina de la cienciometría y proporciona información sobre los resultados del proceso investigador, su volumen, evolución, visibilidad y estructura. Así permite valorar la visibilidad científica, y el impacto tanto de la investigación como de las fuentes.²

Los indicadores bibliométricos se han ideado para cuantificar la producción científica y tratar de evaluar su impacto en la comunidad. En general, los indicadores bibliométricos pueden clasificarse en función de si la unidad de análisis es el autor (individual o colectivo) o la revista.³

Hay autores que plantean que: “los estudios bibliométricos son una herramienta valiosa para describir

las estructuras de investigación a nivel internacional, nacional, regional o institucional y analizar el impacto que estas estructuras tienen en la generación de conocimiento”.⁴

El plan ideal de un marco de biorreactor anaeróbico de flujo ascendente (UASB) tiene gran importancia en el campo del tratamiento de aguas residuales. Esta innovación se utiliza ampliamente para la evacuación de las toxinas naturales de las aguas residuales, en particular en aplicaciones metropolitanas y mecánicas.^{5, 6, 7}

Existen diferentes tipos de estudios bibliométricos, como el análisis de citas, el factor de impacto de revistas, el análisis de cocitación y el análisis de redes sociales, cada uno con su propio conjunto de indicadores para evaluar diversos aspectos de la actividad científica. El diseño óptimo de un UASB implica la consideración cuidadosa de diversos parámetros clave, incluyendo la geometría del reactor, la medida y el número de unidades, la tasa de flujo, la difusión natural de la chimenea, el tiempo de mantenimiento impulsado por la presión y la relación entre la alimentación y la generación de biogás.^{8, 7}

Estos parámetros desempeñan un papel vital dentro de la eficacia de la evacuación de residuales, la generación de biogás y la solidez operativa de la planta. Una de las razones por las que un UASB es básico, es su capacidad para maximizar la fermentación anaerobia de la materia natural y minimizar la generación de subproductos indeseables. Mediante un buen manejo de contaminantes, se pueden lograr altas tasas de expulsión del mismo, lo que contribuye a la eficacia del manejo y a un afluente de alta calidad.

Además, un diseño de calidad del UASB puede mejorar el rendimiento global y el aprovechamiento del biogás generado a lo largo de toda la técnica de tratamiento. El biogás, compuesto especialmente de metano y dióxido de carbono, tiene una gran capacidad energética y puede utilizarse como fuente renovable de energía térmica o eléctrica. Un diseño ecológico del UASB puede maximizar la fabricación y la excelencia del biogás, lo que resulta beneficioso desde el punto de vista monetario y medioambiental.

Es crucial ser consciente de que el diseño ideal de un UASB también tiene en cuenta aspectos operativos y de mantenimiento. Un diseño adecuado permite el acceso para la inspección y renovación del dispositivo, lo que contribuye a la prevención de problemas de funcionamiento y prolonga la vida útil del equipo.

Materiales y métodos

Los estudios bibliométricos se emplean para realizar un análisis exhaustivo de la literatura científica. Donde se llevan a cabo búsquedas en diversas bases de datos, incluyendo ScienceDirect, Lens.org, Dimension e IEEE Explorer, con el objetivo de recopilar artículos relevantes para la temática de

investigación, se realizó la misma búsqueda, pero en base de datos Scopus.⁹

En la investigación científica, los análisis bibliométricos proporcionan una evaluación cuantitativa de la producción y el uso de la literatura científica, razones que sirvieron en este artículo para la Identificación de tendencias: ayudan a identificar las áreas de investigación más productivas y relevantes; Medición del impacto: permiten medir el impacto de las publicaciones científicas a través de indicadores como el número de citas y el factor de impacto de las revistas; Toma de decisiones: facilitan la toma de decisiones en la planificación y financiación de la investigación; y la Evaluación de la calidad: sirven como indicador de calidad para la selección de publicaciones y revistas científicas.

Sin embargo, también es importante tener en cuenta las limitaciones de estos estudios, como la posibilidad de sesgo en los indicadores y la dependencia de la disponibilidad de datos.

Las ecuaciones de búsqueda utilizadas en esta investigación fueron las siguientes:

("Multicriteria Optimization" OR "Multiobjective Optimization Criteria") AND "design" AND ("Upflow Anaerobic Sludge Blanket" OR "UASB")

Design AND ("Upflow Anaerobic Sludge Blanket" OR "UASB")

("Multicriteria Optimization" OR "Multiobjective Optimization Criteria") AND "design"

Para garantizar la exhaustividad y precisión de los resultados, se aplicaron filtros por título, resumen y palabras clave. No se impuso ninguna restricción temporal en la búsqueda, permitiendo considerar estudios publicados hasta el 12 de agosto de 2023 fecha en que se inició la búsqueda y el 14 de octubre de 2023, fecha en que se obtuvieron los últimos artículos.

Posteriormente, se realizó un análisis bibliométrico de los artículos seleccionados. Se calcularon indicadores de productividad por años, autores y revistas, lo que permitió identificar las tendencias de investigación y aquellos trabajos y autores más relevantes en el campo de estudio.

Adicionalmente, se utilizó la herramienta VOSviewer para analizar las correlaciones entre las palabras clave extraídas de los artículos. VOSviewer es una herramienta que permite visualizar y analizar las relaciones entre términos clave, identificando agrupaciones y revelando la estructura de conocimiento dentro del conjunto de datos.

Estos análisis de correlación y visualización resultan de gran utilidad, ya que brindan una comprensión más profunda de las relaciones y enlaces entre los conceptos investigados, permitiendo identificar áreas de interés.

Resultados

La tabla 1 muestra la cantidad de resultados obtenidos en diferentes bases de datos científicas para diferentes ecuaciones de búsqueda relacionadas con el diseño y la optimización multicriterio o

multiobjetivo, así como con el "Upflow Anaerobic Sludge Blanket" (UASB).

Tabla 1. Resultados obtenidos en diferentes bases de datos científicas.

<i>Ecuaciones de búsqueda</i>	<i>Bases de Datos</i>			
	<i>Lens.org</i>	<i>Science Direct</i>	<i>IEEEExplorer</i>	<i>Dimensions</i>
<i>("Multicriteria Optimization" OR "Multiobjective Optimization Criteria") AND "design" AND ("Upflow Anaerobic Sludge Blanket" OR "UASB")</i>	0	0	0	0
<i>Design AND ("Upflow Anaerobic Sludge Blanket" OR "UASB")</i>	0	145	2	424
<i>("Multicriteria Optimization" OR "Multiobjective Optimization Criteria") AND "design"</i>	537	142	155	486

Al analizar los resultados, podemos hacer las siguientes interpretaciones:

1. La primera ecuación de búsqueda, que combina la optimización multicriterio y el diseño con UASB, no arrojó ningún resultado en ninguna de las bases de datos. Esto puede indicar que no hay estudios o investigaciones específicas que combinen estos elementos en las bases de datos consultadas en el intervalo de tiempo en que se enmarcó la investigación.
2. La segunda ecuación de búsqueda, que se centra en el diseño en combinación con UASB, muestra resultados en tres de las bases de datos. ScienceDirect muestra 145 resultados, IEEE Xplore muestra 2 resultados y Dimensions muestra 424 resultados. Esto sugiere que hay algunos estudios relacionados con el diseño y UASB en estas bases de datos, pero con diferentes niveles de relevancia o enfoque.
3. La tercera ecuación de búsqueda, que se enfoca en la optimización multicriterio o multiobjetivo relacionada con el diseño, muestra resultados en todas las bases de datos. Lens.org con 537 resultados, ScienceDirect 142, IEEE Xplore 155 y Dimensions 486. Esto indica que hay una cantidad significativa de estudios o investigaciones que exploran la optimización multicriterio o multiobjetivo en relación con el diseño en estas bases de datos.

Al combinar los resultados de las siguientes dos ecuaciones de búsqueda, que se centran en el diseño en combinación con UASB, se puede obtener información relevante sobre las características de diseño para la optimización multicriterio:

Revisar y analizar los resultados encontrados en estas bases de datos permite identificar características comunes o recurrentes relacionadas con la optimización multicriterio del diseño de UASB que incluyen aspectos como:

1. **Parámetros de diseño:** analiza los parámetros de diseño utilizados en los estudios encontrados, como el tamaño y la forma del reactor, la carga orgánica, la geometría y la configuración del sistema UASB. Determina qué parámetros son relevantes para la optimización multicriterio del diseño de UASB.
2. **Variables de rendimiento:** examina las variables de rendimiento consideradas en los estudios, como la eliminación de materia orgánica, la producción de biogás, la eficiencia y la estabilidad del sistema. Identifica aquellas variables que son importantes para la optimización multicriterio del diseño de UASB.
3. **Metodología de optimización:** analiza los enfoques de optimización utilizados en los estudios, como algoritmos genéticos, programación lineal, análisis multicriterio, entre otros. Examina cómo se aplican estos enfoques para la optimización del diseño de UASB.
4. **Restricciones y objetivos:** identifica las restricciones y objetivos considerados en los estudios, como limitaciones de espacio, costos, regulaciones ambientales, entre otros. Evalúa qué restricciones y objetivos son relevantes para la optimización multicriterio del diseño de UASB.

Al analizar estos aspectos en los estudios encontrados en las bases de datos, se podrá extraer características y conocimientos que ayuden a comprender mejor cómo optimizar el diseño de un UASB desde una perspectiva multicriterio. Esto permitirá tomar decisiones correctas y desarrollar estrategias de diseño más eficientes y efectivas para la optimización de UASB.

Las figuras 1 y 2 muestran las publicaciones por años con las ecuaciones de búsqueda: design AND (“Upflow Anaerobic Sludge Blanket” OR “UASB”) y (“Multicriteria Optimization” OR “Multiobjective Optimization Criteria”) AND “design”



Figura 1. Dinámica de la productividad científica según ecuaciones de búsqueda design AND ("Upflow Anaerobic Sludge Blanket" OR "UASB").



Figura 2. Dinámica de la productividad científica según ecuaciones de búsqueda ("Multicriteria optimization" OR "Multiobjective Optimization Criteria") AND "design".

Estos resultados indican la distribución de la productividad científica a lo largo de los años para las temáticas. A medida que avanzan los años, se observa un aumento en la cantidad de artículos publicados en este campo. El aumento en la productividad científica a lo largo de los años indica un mayor interés y esfuerzo dedicado al estudio y avance en este campo. Muestra que los investigadores están trabajando activamente en el desarrollo de conocimientos y en la generación de nuevas contribuciones.

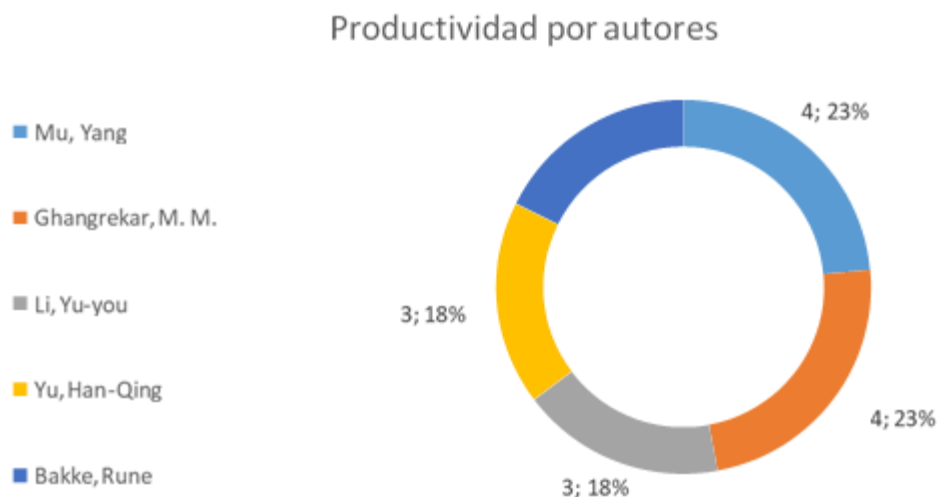


Figura 3. Productividad científica por autores según ecuaciones de búsqueda design AND ("Upflow Anaerobic Sludge Blanket" OR "UASB").

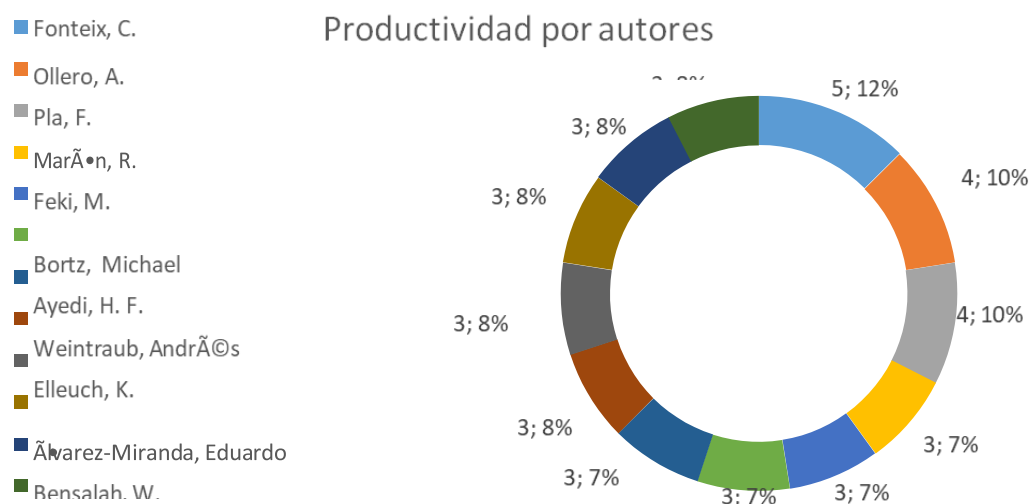


Figura 4. Productividad científica por autores según ecuaciones de búsqueda ("Multicriteria optimization" OR "Multiobjective Optimization Criteria") AND "design".

Como reflejan las figuras 3 y 4, de los autores más productivos en las ecuaciones de búsqueda, se observa que Mu, Yang y Ghangrekar, M. M. son los autores más prolíficos para la primera ecuación, con publicaciones destacadas que dan un amplio espectro del tema.^{10, 11} Seguidos por Li, Yu-you, Yu, Han-Qing y Bakke, Rune. En cuanto a la segunda ecuación, Fonteix, C. encabeza la lista de autores más productivos, seguido por Ollero,

A. y Pla, F. Varios autores, incluyendo Marín, R., Feki, M., Bortz, Michael y otros, también tienen una destacada contribución en este campo de investigación. Estos resultados indican que estos autores han desempeñado un papel activo y significativo en sus respectivos campos de estudio.



Figura 5. Productividad científica por revistas según ecuaciones de búsqueda design AND ("Upflow Anaerobic Sludge Blanket" OR "UASB").

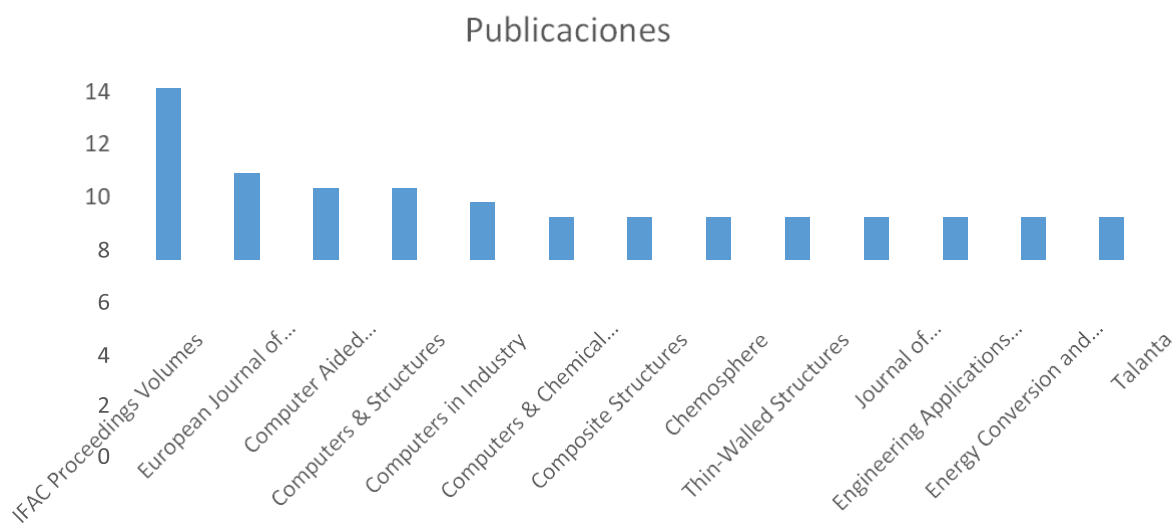


Figura 6. Productividad científica por revistas según ecuaciones de búsqueda ("Multicriteria optimization" OR "Multiobjective Optimization Criteria") AND "design".

Analizando la productividad por revista en las dos ecuaciones de búsqueda, figuras 5 y 6, se observa que Bioresource Technology y IFAC Proceedings Volumes son las revistas más destacadas en términos de cantidad de publicaciones. Bioresource Technology lidera en la primera ecuación, seguida por Water Science and Technology y Water Research.

IFAC Proceedings Volumes encabeza la lista en la segunda ecuación, seguida por European Journal of Operational Research y Computer Aided Chemical Engineering. Estas revistas demuestran ser líderes en sus respectivos campos de investigación y desempeñan un papel importante en la difusión de la investigación en dichas áreas. Otras revistas también muestran una productividad considerable y contribución significativa en sus respectivos campos.

El análisis y correlación de las palabras clave mencionadas (Figura 7), reveló conexiones significativas con el estudio de la optimización multicriterio y los Sistemas de Biorreactores Anaerobios de Flujo Ascendente (UASB, por sus siglas en inglés).

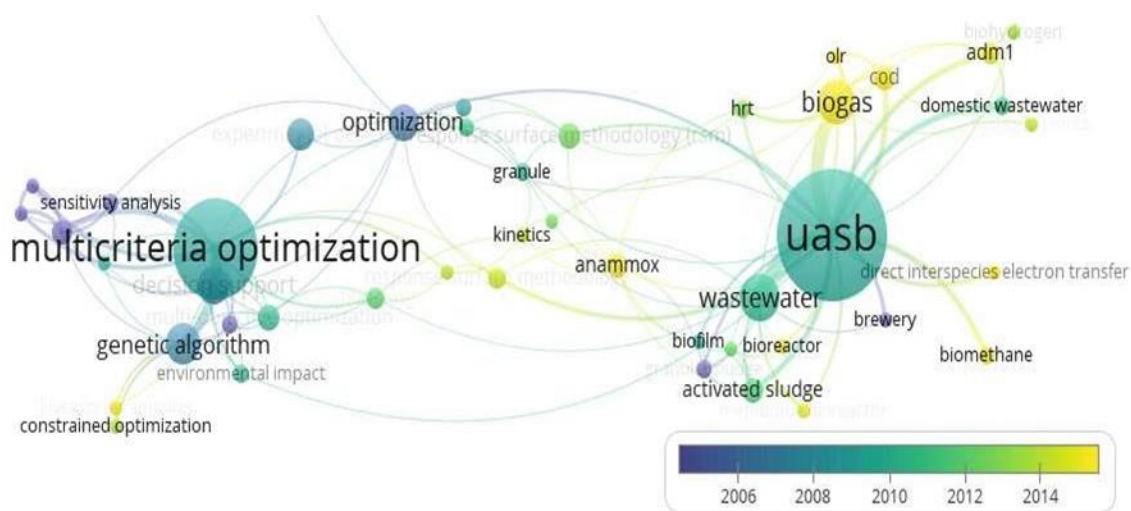


Figura 7. Conexiones con el estudio de la optimización multicriterio y los Sistemas UASB.

En un primer momento, el enfoque de la optimización multicriterio se exploró junto con el análisis de sensibilidad, la lógica difusa, la optimización del control y los sistemas de control. Estos elementos están estrechamente relacionados, ya que la optimización multicriterio busca encontrar soluciones que representen un equilibrio entre diferentes objetivos, mientras que los análisis de sensibilidad y la lógica difusa ayudan a evaluar el impacto de los parámetros y la incertidumbre en esos objetivos. Además, la optimización del control y los sistemas de control buscan mejorar el rendimiento y la eficiencia de los sistemas, lo cual es esencial en la optimización multicriterio.

En un segundo momento, surgieron investigaciones relacionadas con la optimización multiobjetivo, los diagramas de Pareto, el apoyo a las decisiones y los algoritmos genéticos. Estos conceptos están directamente vinculados a la optimización multicriterio, ya que la optimización multiobjetivo busca encontrar un conjunto de soluciones óptimas en lugar de una única solución, mientras que los diagramas de Pareto proporcionan una representación gráfica de esas soluciones no dominadas.

El apoyo a las decisiones y los algoritmos genéticos son herramientas importantes utilizadas para analizar y buscar soluciones en problemas de optimización multicriterio. Uno de las investigaciones destaca en el uso de Pareto, que está basada en lograr optimizar una planta de tratamiento de aguas residuales usando el algoritmo CPMDE, que combina clasificación y dominancia de Pareto. Lo que permite maximizar la producción de metano y minimizar la concentración de sustrato en el efluente y la pérdida de biomasa.¹²

Por otro lado, los Sistemas de Biorreactores Anaerobios de Flujo Ascendente (UASB) están estrechamente relacionados con la gestión de los residuos de agua. Los UASB se utilizan comúnmente en el tratamiento biológico de aguas residuales, donde los microorganismos anaerobios descomponen

la materia orgánica en ausencia de oxígeno. Además, también se ha investigado la granulación en los UASB, que implica la formación de gránulos biológicos para mejorar la eficiencia del proceso de tratamiento.

En un tercer momento, surgen temas más recientes y novedosos relacionados con el estudio del biogás, el biometano, los biorreactores, Anammox, biorreactores de membrana y Kinetiks. Estos temas están vinculados a la optimización multicriterio y los UASB debido a su relevancia en el campo del tratamiento y aprovechamiento de residuos. El estudio del biogás y el biometano se centra en la producción de gases a partir de la descomposición anaerobia de la materia orgánica, que puede ser optimizada en términos de rendimiento y calidad.

Los biorreactores UASB y los biorreactores de membrana son sistemas utilizados en diversos procesos de tratamiento biológico, donde la optimización y el control son fundamentales para asegurar un rendimiento eficiente. Además, el Anammox es un proceso biológico que puede integrarse en los sistemas de tratamiento anaerobio para la eliminación de nitrógeno de las aguas residuales.

Por último, Kinetiks se refiere a la cinética de la digestión anaeróbica, que es un proceso bioquímico natural en el cual materiales orgánicos complejos son descompuestos por comunidades microbianas para producir biomoléculas elementales y biogás, en ausencia de oxígeno. Este proceso se lleva a cabo en cuatro etapas principales: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, lo cual es relevante para comprender y optimizar los procesos en los UASB y otros sistemas de tratamiento.¹³

4. Estudio bibliométrico sobre el diseño de reactores tipo UASB en base de datos Scopus

Los términos empleados para la búsqueda fueron biogás, vinaza, vinasse, stillage, cachaza, cachaça, uasb, design. La ecuación de búsqueda empleada para la recuperación de documentos se muestra a continuación:

Biogás AND (vinaza OR vinasse OR stillage OR cachaza OR cachaça) AND uasb AND design Como fuentes de información se emplearon las bases de datos de Scopus.

Además, se realizó un análisis bibliométrico basado en el texto encontrado en el título y el resumen de los artículos. La red se muestra en la figura 8, para lograr la red final fue necesario realizar un preprocesamiento de los términos encontrados. Del total de 3 933 términos en el cúmulo de artículos, los términos relacionados en cualquier idioma fueron agrupados. Entonces, se eliminaron del análisis los términos irrelevantes para la investigación y de los términos resultantes se seleccionaron los 33 más importantes por el número de apariciones en artículos.

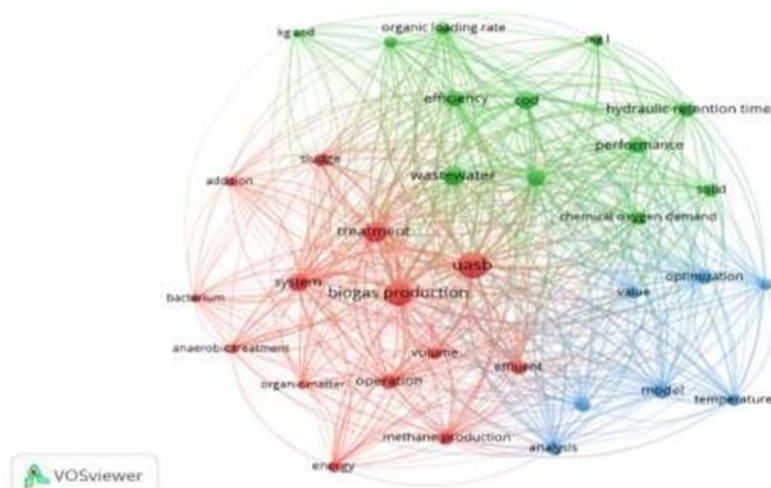


Figura 8. Red de los términos encontrados más relevantes.

De igual forma se hizo un análisis de las palabras clave sugeridas por los autores, que permitió obtener otra red, como muestra la Figura 9. Por lo que se puede concluir que la gran mayoría de los artículos tratan la producción de biogás y muy pocos tienen en cuenta a la optimización para el diseño de biorreactores para este fin; incluso menor es la cifra sugerida por los autores. Otra conclusión importante que puede ser extraída de la red es que entre los reactores más empleados para la producción de biogás se encuentran los reactores UASB (término “UASB reactor” en la red).

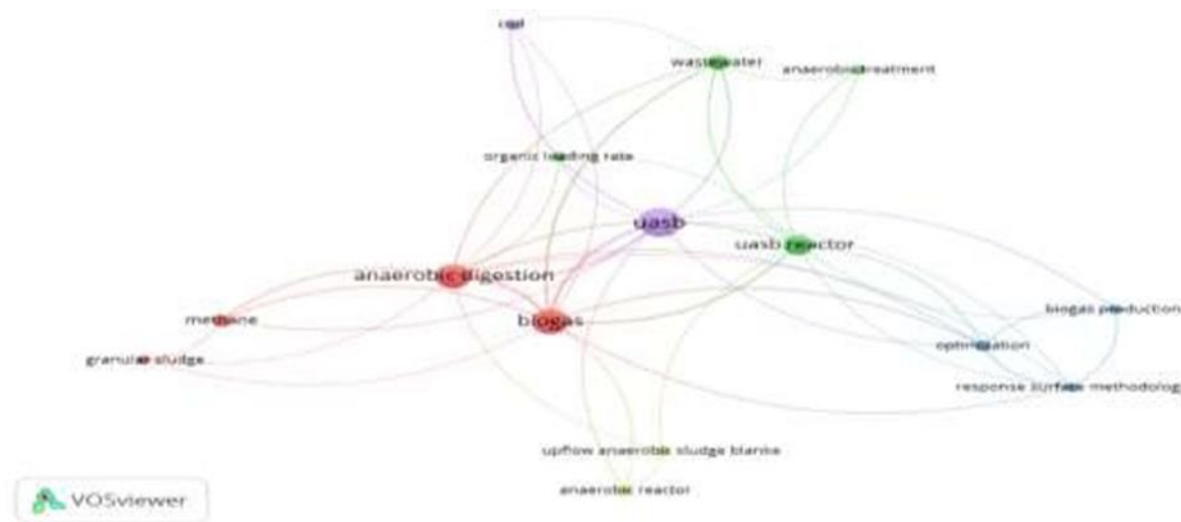


Figura 9. Red de palabras clave sugeridas por los autores.

Igualmente se hizo un análisis de los países más importantes por el número de citas (Figura 10) de los documentos, donde se destacan La India, Brasil, Estados Unidos de América y China y los 10 autores más importantes (Figura 11) por el número de citas de sus documentos.

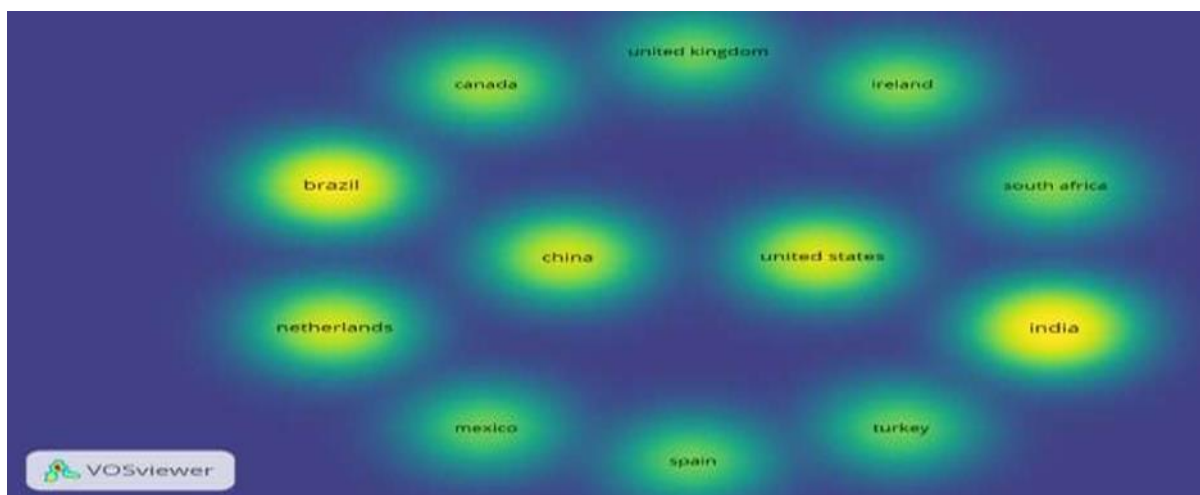


Figura 10. Países más importantes por el número de citas.

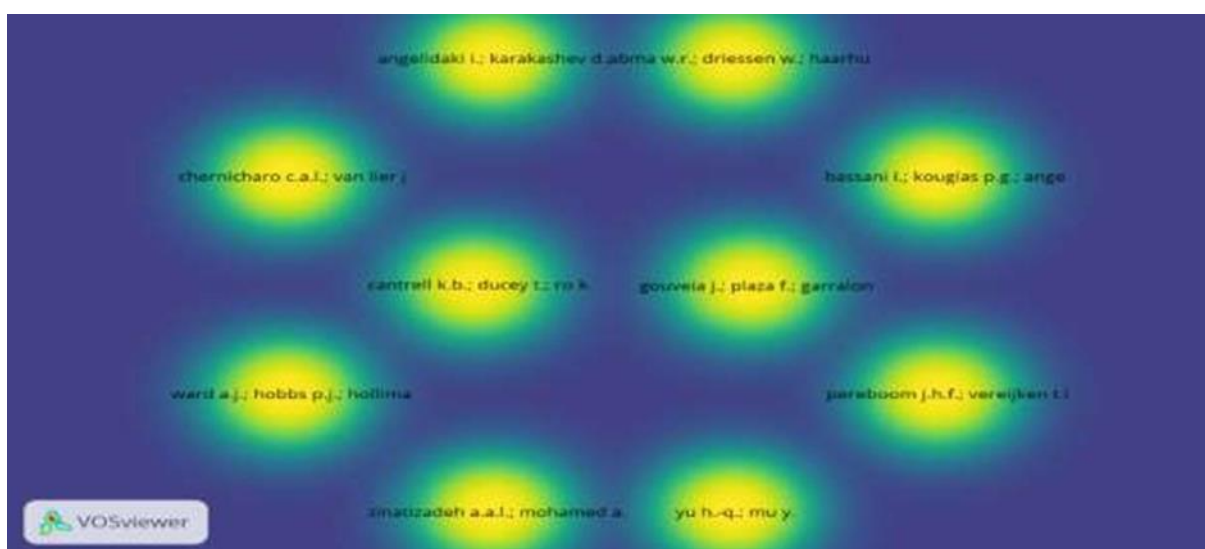


Figura 11. Autores más importantes por el número de citas.

En la figura 12 se muestra la evolución temporal de la producción científica relacionada con la optimización multicriterio aplicada al diseño de Sistemas de Biorreactores Anaerobios de Flujo Ascendente (UASB). El análisis de la productividad anual permite identificar tendencias y periodos de mayor o menor actividad en esta línea de investigación. Esto ayuda a comprender el desarrollo histórico y la dinámica de la investigación en esta área específica.

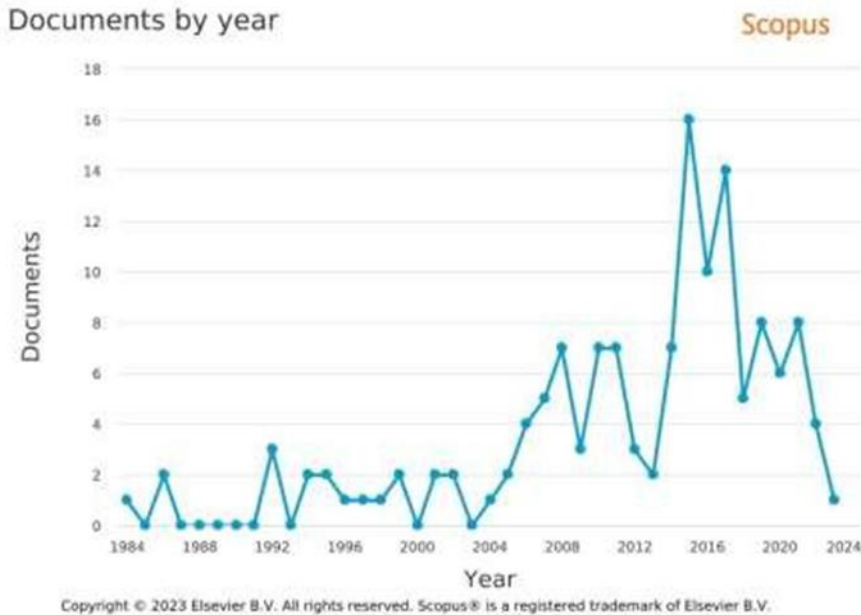


Figura 12. Análisis de la productividad científica por años.

La figura 13 presenta la distribución de la producción científica entre las diferentes áreas o disciplinas científicas que han abordado la temática de estudio. Este análisis por áreas de conocimiento permite identificar los campos y enfoques predominantes, así como posibles brechas interdisciplinarias que podrían ser exploradas en futuras investigaciones.

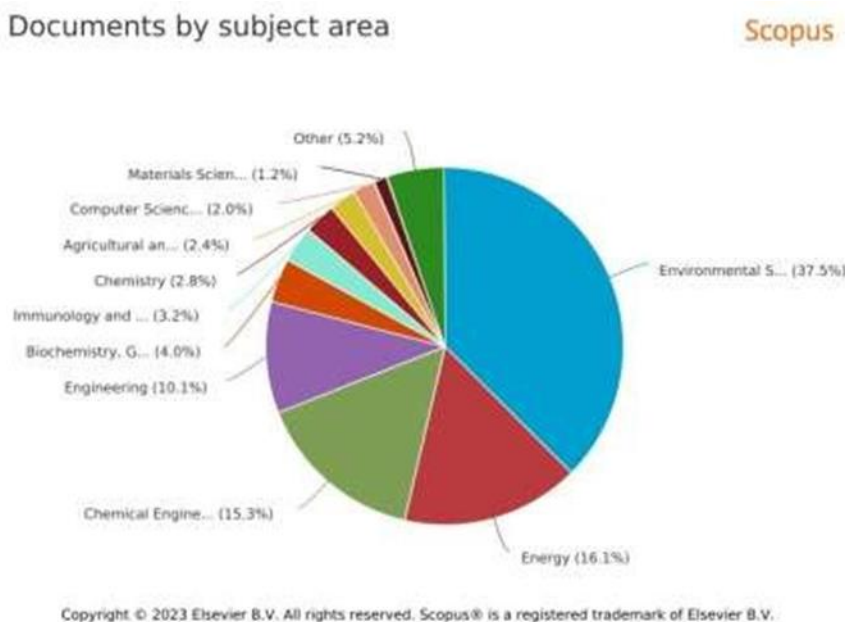


Figura 13. Análisis de la productividad científica por áreas de la ciencia.

Se realizó una comprobación para identificar los países líderes en la producción de conocimiento científico relacionado con la optimización multicriterio aplicada al diseño de Sistemas de Biorreactores Anaerobios de Flujo Ascendente (UASB). El análisis de la distribución geográfica de las publicaciones ayuda a comprender la estructura global de la investigación en esta área (Figura 14), los centros de actividad más relevantes y las posibles oportunidades de colaboración internacional.

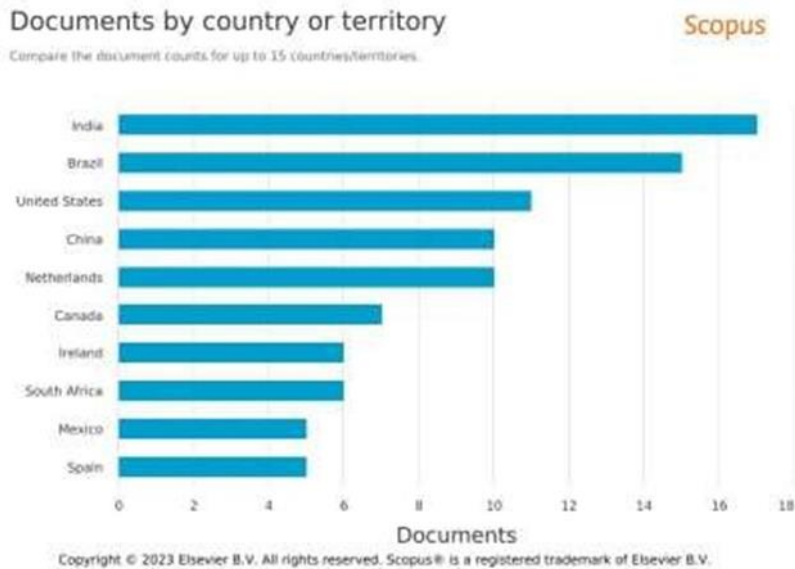


Figura 14. Principales países que publican sobre la temática.

La figura 15 destaca a los investigadores o autores más prolíficos y relevantes en la producción científica sobre la temática de estudio. Identificar a los principales líderes de opinión en este campo de estudio permite conocer las principales fuentes de conocimiento y expertos, así como las posibles redes de colaboración entre autores.

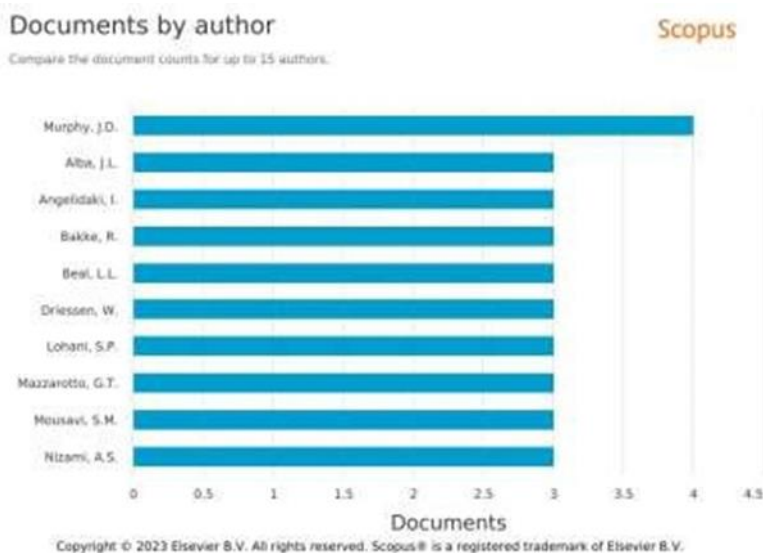


Figura 15. Principales autores en el estudio sobre la temática.

El análisis de las principales instituciones involucradas en esta línea de investigación ayuda a identificar los centros de excelencia y los posibles líderes en el desarrollo de conocimiento en esta área. La figura 16, muestra las instituciones académicas o universidades que han sido más activas y productivas en la investigación relacionada con la optimización multicriterio aplicada al diseño de Sistemas de Biorreactores Anaerobios de Flujo Ascendente (UASB).

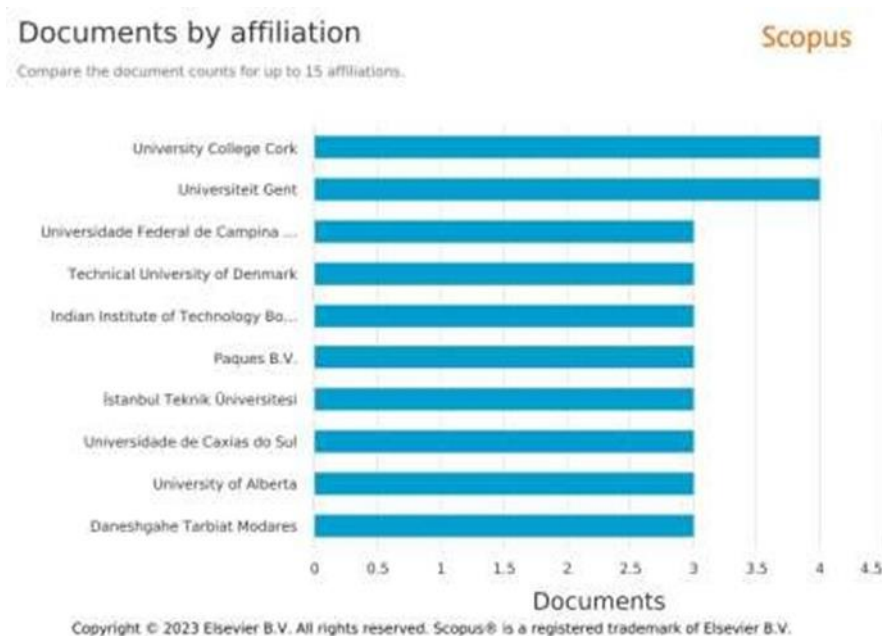


Figura 16. Universidades más productivas en las temáticas de las fuentes consultadas.

Durante el estudio bibliométrico, se ha observado la falta de correlación entre la optimización multicriterio y el diseño de Sistemas de Biorreactores Anaerobios de Flujo Ascendente (UASB). La escasez de investigación sobre este tema subraya la necesidad de desarrollar futuras líneas de investigaciones interdisciplinarias y multidisciplinarias, con enfoque en la innovación. Es crucial que la comunidad científica reconozca la importancia de este enfoque para avanzar en el diseño y la aplicación práctica.

Discusión

Los hallazgos del presente estudio resaltan la falta de una correlación directa entre la optimización multicriterio y el diseño de Sistemas de Biorreactores Anaerobios de Flujo Ascendente (UASB) en las bases de datos consultadas. Esta falta de relación identificada en las fuentes consultadas indica que la intersección de estos dos temas aún no ha sido ampliamente estudiada o documentada en dichas bases de datos. Esta brecha en el conocimiento representa una importante oportunidad para promover y desarrollar futuras líneas de investigación en esta área particular. Dada la crucial importancia de los UASB en los procesos de tratamiento de aguas residuales, y la reconocida capacidad de la optimización multicriterio para abordar situaciones complejas con múltiples objetivos, la aplicación de estas técnicas podría ofrecer importantes beneficios para maximizar la eficiencia y sostenibilidad de estos sistemas.

Factores clave como la remoción de contaminantes, la minimización de subproductos y la optimización de la producción y calidad del biogás podrían verse significativamente mejorados al

explorar la relación entre la optimización multicriterio y el diseño de UASB. Este campo de estudio representa una oportunidad única para avanzar en la eficiencia de los procesos de tratamiento de aguas residuales y disminuir los niveles de contaminantes a la atmósfera. Considerando la eficiencia y sostenibilidad como factores clave en el diseño y operación de los UASB, la aplicación de técnicas de optimización multicriterio podría ofrecer oportunidades para maximizar la remoción de contaminantes, minimizar la producción de subproductos indeseables y maximizar la producción y calidad del biogás generado. Por lo tanto, explorar la relación entre la optimización multicriterio y el diseño de UASB puede abrir perspectivas interesantes para mejorar la eficiencia y el rendimiento de estos sistemas.

Conclusiones

No se encontró una correlación directa entre la optimización multicriterio y el diseño de Sistemas de Biorreactores Anaerobios de Flujo Ascendente (UASB).

La ausencia de investigación específica sobre la optimización multicriterio aplicada al diseño de UASB resalta la existencia de brechas importantes en el conocimiento científico, necesitando una promoción y desarrollo futuro de líneas de investigación en esta área particular.

La importancia del tema radica en la optimización y mejora continua de los procesos de tratamiento de aguas residuales, donde los Sistemas de Biorreactores Anaerobios de Flujo Ascendente (UASB) desempeñan un papel crucial. La optimización multicriterio, por su parte, proporciona un marco teórico y metodológico para la toma de decisiones en situaciones complejas que involucran múltiples objetivos.

Falta evidencia de correlación directa entre la optimización multicriterio y el diseño de Sistemas de Biorreactores Anaerobios de Flujo Ascendente (UASB) en las bases de datos consultadas, destaca la existencia de brechas en la investigación científica y apunta hacia futuras líneas de investigación para comprender y aprovechar el potencial de la optimización en el diseño de UASB.

Agradecimientos: se extiende el agradecimiento al profesor MSc. Luis Enrique García Marrero por el apoyo en la búsqueda de información de la plataforma SCOPUS y a los investigadores del Centro de Estudios CAD-CAM de la facultad de Ingeniería de la Universidad de Holguín por el apoyo recibido en el desarrollo del presente trabajo.

Conflictos de intereses: los autores declaran no tener conflictos de intereses

5. Referencias

1. Solano López, E., Castellanos Quintero, S., López Rodríguez del Rey, M. & Hernández

Fernández,

2. J. La bibliometría: una herramienta eficaz para evaluar la actividad científica postgraduada. *MediSur*7, 59–62 (2009).
3. Muñoz-Estrada, G. K. et al. Análisis bibliométrico de la producción científica mundial sobre el aula invertida en la educación médica. *Educ. Médica* 23, 100758 (2022).
4. García-Villar, C. & García-Santos, J. M. Indicadores bibliométricos para evaluar la actividad científica. *Radiología* 63, 228–235 (2021).
5. Estrada-Cuzcano, A. & Bautista-Ynofuente, L. Análisis y visualización de datos en estudios bibliométricos | Biblioteca Nacional de España. <https://www.bne.es/es/blog/biblioteconomia/analisis-y-visualizacion-datos-estudios-bibliometricos-0> (2022).
6. Tilley, E. Reactor anaerobio de flujo ascendente | SSWM - Find tools for sustainable sanitation and water management! <https://sswm.info/es/gass-perspective-es/tecnologias-de/tecnologias-de-saneamiento/tratamiento-semi-centralizado/reactor-anaerobio-de-flujo-ascendente> (2018).
7. Baâti, S., Benyoucef, F., Makan, A., El Bouadili, A. & El Ghmari, A. A Cost-Effective Strategy for Leachate Treatment Optimization: Biostimulation Using Carob Powder as Co-substrate. *Int. J. Environ. Res.* 15, 535–541 (2021).
8. Ngwenya, N., Gaszynski, C. & Ikumi, D. A review of winery wastewater treatment: A focus on UASB biotechnology optimisation and recovery strategies. *J. Environ. Chem. Eng.* 10, (2022).
9. Montes, J. A., Leivas, R., Martínez-Prieto, D. & Rico, C. Biogas production from the liquid waste of distilled gin production: Optimization of UASB reactor performance with increasing organic loading rate for co-digestion with swine wastewater. *Bioresour. Technol.* 274, 43–47 (2019).
10. Goretti, M. Guías de la BUMA: Evaluación de la actividad investigadora: Acreditación y Sexenios: Bibliometría. <https://biblioguias.uma.es/Bibliometria/Presentacion> (2023).
11. Chatterjee, P., Ghangrekar, M. M. & Rao, S. Organic matter and nitrogen removal in a hybrid upflow anaerobic sludge blanket - Moving bed biofilm and rope bed biofilm reactor. *J. Environ. Chem. Eng.* 4, 3240–3245 (2016).
12. Yu, H.-Q. & Mu, Y. Biological hydrogen production in a UASB reactor with granules. II: Reactor performance in 3-year operation. *Biotechnol. Bioeng.* 94, 988–995 (2006).
13. Enitan, A. M., Adeyemo, J., Oluwatosin Olofintoye, O., Bux, F. & Swalaha, F. M. Multi-objective

- optimization of methane producing UASB reactor using a combined pareto multi-objective differential evolution algorithm (CPMDE). *Adv. Intell. Syst. Comput.* 288, 321–334 (2014).
14. Yangin-Gomec, C. & Engiz, G. Anaerobic treatment of propylene glycol-contaminated domestic wastewater and microbial community profile at threshold ratio. *Heliyon* 7, (2021).
15. Bhunia, P. & Ghangrekar, M. M. Simulation of granulation index and its utility for predicting percentage granules in UASB reactors. *World Rev. Sci. Technol. Sustain. Dev.* 6, 127–143 (2009).
16. Mu, Y. & Yu, H.-Q. Simulation of biological hydrogen production in a UASB reactor using neural network and genetic algorithm. *Int. J. Hydrog. Energy* 32, 3308–3314 (2007).

/ **Received:** 23 May 2024 / **Accepted:** 10 June 2024 / **Published:** 15 June 2024 /

Citation: Borrero Neninger, J. C., Simeón Monet, R. E., Arzola Ruiz, J., Saraiba Nuñez, L. I., & Torres Sainz, R. (2024). Análisis bibliométrico para identificar brechas en la literatura científica sobre la innovación y el diseño óptimo multicriterio de biorreactores anaeróbico de flujo ascendente (UASB). *Bionatura*, 9(2). DOI: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.12>
DOI: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.6>

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>.

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

13 The Mediterranean diet as a nutritional intervention strategy in young adolescents.

La dieta mediterránea como estrategia de intervención nutricional en adolescentes jóvenes.

Oswaldo Nápoles Abreu ^{1/*}; Armando Antonio Macias González ²; Lourdes Mariana Crespo Zafra ³; Luisa Matos Mosqueda ⁴.

¹ Ocean Grill & Bar / Hollywood / USA

^{2; 3; 4} University of Camaguey Ignacio Agramonte Loynaz / Camaguey / Cuba

*Correspondence: osvaldonapoles90@gmail.com

Available from: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.13>

Abstract

This systematic review evaluated the Mediterranean diet as a nutritional intervention strategy for young adolescents, with the primary objective of evaluating its effectiveness improving health outcomes among young adolescents. An extensive literature search from 2019 to 2023 across multiple databases identified four eligible randomized controlled trials focused on adolescents aged 12 to 18 years. The findings demonstrated significant improvements after 12 weeks of following a Mediterranean diet compared with a low-fiber diet, including enhanced serum transaminase levels, reduced insulin resistance and hepatic steatosis, increased antioxidant capacity, and improved inflammatory markers. Notably, the Mediterranean diet group exhibited levels of paraoxonase-1 and glutathione peroxidase, along with lower C-reactive protein levels. In addition, benefits were observed in the sleep parameters, including reduced latency, enhanced efficiency, and fewer awakenings. While promoting a holistic approach that emphasizes nutritional intake and the social aspects of eating, widespread adoption faces sociocultural barriers, economic constraints, and a high prevalence of ultra-processed foods. Multifaceted interventions at individual, community, and policy levels, such as nutrition education, marketing regulations, and improved access to affordable fresh produce, are recommended strategies to facilitate adherence to the Mediterranean dietary pattern among adolescents.

Keywords. Mediterranean diet; adolescent nutrition; cardiovascular health; lifestyle intervention; obesity prevention.

Resumen

Esta revisión sistemática evaluó la dieta mediterránea como una estrategia de intervención nutricional para adolescentes, con el objetivo principal de evaluar su efectividad en la mejora de resultados de salud en este grupo etario. Una exhaustiva búsqueda de literatura desde 2019 hasta 2023 en múltiples bases de datos identificó cuatro ensayos controlados aleatorizados elegibles, enfocados en adolescentes de 12 a 18 años. Los hallazgos mostraron mejoras significativas después de 12 semanas de seguir una dieta mediterránea en comparación con una dieta baja en fibra, incluyendo niveles mejorados de transaminasas séricas, reducción de la resistencia a la insulina y esteatosis hepática, aumento de la capacidad antioxidante y mejora en los marcadores inflamatorios. Notablemente, el grupo de la dieta mediterránea exhibió niveles elevados de paraoxonasa-1 y glutatión peroxidasa, junto con niveles más bajos de proteína C reactiva. Además, se observaron beneficios en los parámetros del sueño, como la reducción de la latencia, una mayor eficiencia y menos despertares. Aunque se promueve un enfoque holístico que enfatiza la ingesta nutricional y los aspectos sociales de la alimentación, la adopción generalizada enfrenta barreras socioculturales, restricciones económicas y una alta prevalencia de alimentos ultraprocesados. Se recomiendan intervenciones multifacéticas a nivel individual, comunitario y de políticas, como la educación nutricional, regulaciones de marketing y mejor acceso a productos frescos asequibles, como estrategias para facilitar la adherencia al patrón dietético mediterráneo entre los adolescentes.

Palabras clave. Dieta mediterránea; nutrición adolescente; salud cardiovascular; intervención en el estilo de vida; prevención de la obesidad.

Introduction

A healthy diet is essential for children's physical and mental development and to prevent nutrition-related diseases. Some nutritional patterns associated with both mental and physical health in adults and children have been observed in the Mediterranean diet. The primary components of the Mediterranean diet include a higher intake of fruits, vegetables, whole grains, legumes, nuts, olive oil, fish, and poultry. It involves consuming modest numbers of alcohol and dairy items, and a small amount of red meat. A lower risk of chronic diseases, including diabetes, cancer, cardiovascular disease (CVD), and neurological disorders, has been associated with this eating pattern¹. The Mediterranean diet captures the synergy between its dietary components and composite scores. Certain nutritional elements are associated with a lower chance of adverse health outcomes².

Obesity among young adolescents has surged globally, with 340 million overweight or obese individuals in 2016. Low- and middle-income nations have the highest prevalence rates. Adolescent

obesity can lead to metabolic syndrome, cardiovascular disorders, and cancer. The Mediterranean diet is a potential intervention for prevention ³.

The world's top cause of morbidity and death, cardiovascular diseases, have been associated with a lower chance of developing with a Mediterranean diet ⁴. According to the study, the Mediterranean diet and lifestyle more closely had a 29% reduced risk of all-cause death and a 28% lower risk of cancer ⁵.

The Mediterranean diet, which places emphasis on the consumption of foods that are rich in nutrients, such as fruits, vegetables, and whole grains, has proven to be advantageous for adolescents. This dietary approach has been found to have a positive impact on reducing the prevalence of obesity, diabetes, and cardiovascular diseases among this age group ⁶. Moreover, the utilization of olive oil as the primary source of lipid in this dietary regimen furnishes monounsaturated fatty acids and bioactive compounds possessing antioxidant and anti-inflammatory properties, thereby potentially enhancing lipid profiles and mitigating the susceptibility to cardiovascular ailments in adolescents. Furthermore, teenagers adhering to the Mediterranean diet may encounter ameliorated cognitive capabilities and a diminished vulnerability to neurodegenerative disorders owing to the diet's moderate inclusion of fish and poultry, which imparts high-quality protein and vital fatty acids such as omega-3s, indispensable for cerebral development and cognitive function ⁷.

Although numerous benefits can be attributed to the Mediterranean diet, challenges related to cultural inclinations, socioeconomic limitations, and the accessibility of reasonably priced, fresh food items may impede the adoption of this diet by early adolescents. Moreover, the influence of media, peer pressure, and advertising on dietary choices among adolescents cannot be undermined, thereby highlighting the imperative of implementing comprehensive, multi-tiered interventions aimed at promoting wholesome eating habits.

Previous studies have shown that young adolescents are at a critical stage of growth and development and are exposed to unhealthy dietary habits and lifestyle behaviors; hence, Mediterranean dietary patterns may be beneficial ⁸. The primary objective of this systematic review was to evaluate the effectiveness of the Mediterranean diet in improving health outcomes among the young population. It focused on specific parameters such as nutritional status, cardiovascular indicators (including lipid profiles and blood pressure), body mass index (BMI), waist circumference, and dietary intake. The review included randomized controlled trials published between January 2019 and December 2023, following PRISMA criteria.

Materials and methods

This systematic review assessed the efficacy of the Mediterranean diet as a nutritional intervention approach for early adolescents. The review followed the PRISMA guidelines to establish the necessary query specifications and criteria for study inclusion.

1. Search Strategy: the researchers undertook the implementation of the PRISMA guidelines to establish the requisite query specifications and criteria for the inclusion of studies. Comprehensive searches across multiple electronic databases, such as Google Scholar, PubMed, and research4life, were performed. The search terms included "Mediterranean diet," "young adolescents," "nutrition intervention," "health promotion," and "preventive measures." The investigation encompassed a time frame extending from 2019 to 2024, with the combination of MeSH terms and free text words in the search strategy. Relevant keywords were identified during the initial stages of the search procedure.

This involved using synonymous searches and extracting search terms from academic papers that had already been presented. Following an extensive exploration of relevant databases and, employing the designated keywords, a thorough cross-referencing endeavor was initiated to determine mesh terms that corresponded with the pre-established criteria for inclusion. The inquiry was conducted using a range of English-language keywords. Two independent researchers performed comprehensive searches across multiple electronic databases, including Science Direct, PubMed, the Cochrane Library, and CINAHL. In addition, they used the search engine Google Scholar to ensure a thorough exploration of relevant literature. The investigation encompassed a time frame extending from 2019 to 2024, with the primary objective of discerning randomized controlled trials (RCTs) that were conducted solely on human subjects. A thorough analysis was carried out to investigate the references cited in both the primary and secondary publications and, identify any relevant clinical trials that could be of significance. Moreover, diligent efforts were made to acquire gray literature from alternative sources.

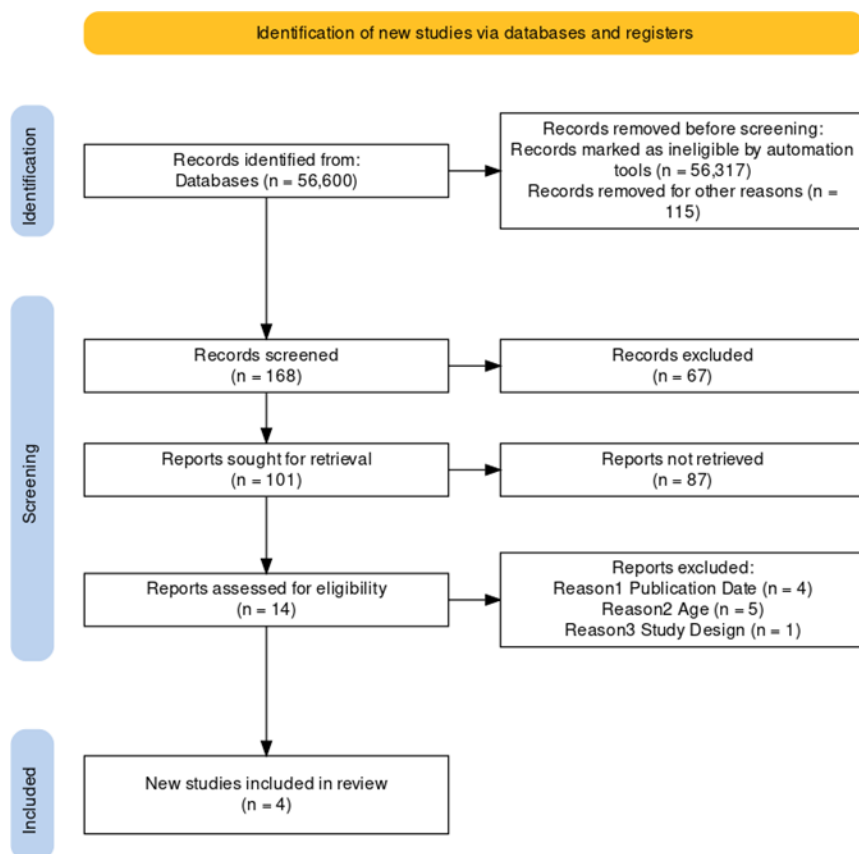


Figure 1. PRISMA flow diagram for identification of studies through databases and registers.

2. Selection:

The process of selecting studies and the rationale behind exclusions were visually depicted through the use of the PRISMA flow diagram. A comprehensive compilation of 56600 studies was systematically identified from diverse databases, spanning the time frame from January 2019 to 2024. After eliminating 56,432 redundant entries, the remaining studies underwent a meticulous screening process that involved evaluating their titles and abstracts. A comprehensive total of 67 records were determined to be ineligible and subsequently excluded from the study. Subsequently, a detailed assessment was conducted on the remaining 101 full-text articles to determine their suitability for inclusion in the study. A total of 87 additional studies were excluded from the analysis as per the criteria specified in the PRISMA diagram (Figure 1). However, after careful evaluation, 4 studies were found to meet the requirements and were thus considered appropriate for inclusion in the systematic review.

3. **Selection criteria:** inclusion criteria: in order to incorporate the studies, the following criteria were utilized as the inclusion criteria.

- i. The selected studies must adhere to the structure of randomized controlled trials (RCTs) or exhibit attributes that are in line with RCTs.

- ii. The target population must include adolescents aged between 12 and 18.
- iii. Studies have implemented a Mediterranean diet as a nutritional intervention strategy.
- iv. Studies reporting outcomes related to overall health, such as the prevention of chronic diseases, and cognitive function.
- v. Studies published in English.

Exclusion criteria: the following criteria were used to include the studies

- i. Studies involving the target population above or below 12 and 18 years
- ii. Studies not implementing a Mediterranean diet as a nutritional intervention strategy
- iii. Studies not reporting outcomes related to overall health, prevention of chronic diseases, and cognitive function
- iv. Studies published before 2019 or in languages other than English.

Outcome: the primary outcomes observed in the conducted studies were the effect of a Mediterranean diet as a nutritional intervention strategy. In addition, individual studies encompassed assessments related to overall health, prevention of chronic diseases such as cardiovascular disease, and cognitive function

Reviewing process: two independent reviewers screened the titles and abstracts of all identified articles based on the inclusion criteria mentioned above. The full texts were then evaluated for biases, examining the impact of information availability and uncertainty on an individual judgment. In instances where conflicts arose, a neutral third author was engaged to serve as an unbiased decision-maker.

4. **Data extraction and analysis:** the process of data extraction was performed by two review authors stringently and systematically, employing carefully crafted data retrieval forms. Data about the participants were collected, encompassing key demographic variables such as age and sex. In addition, information regarding the study setting will be documented. Furthermore, the number of individuals randomized will be recorded for analysis. Furthermore, meticulous accounts of the interventions used will be documented. The outcome measures will be meticulously recorded, alongside the findings, encompassing point estimates and measures of variability. This study will provide frequency counts for dichotomous variables and report, the total number of patients included in the research. A specifically assigned reviewer undertook the responsibility of compiling and inputting all the data into an Excel file. In the event of disagreements, the resolution was facilitated through the implementation of open dialog and the subsequent achievement of consensus

among the parties involved

5. **Data synthesis:** each study was synthesized using a narrative synthesis approach, and data were extracted. The findings are presented in a tabular format, highlighting the intervention characteristics, outcome measures, and study limitations and strengths. The results were analyzed qualitatively, and the findings were discussed about the research question.

6. **Quality assessment:** the risk of bias in randomized controlled trials (RCTs) was evaluated using a method developed by the Cochrane Collaboration. To evaluate the standard of observational research, the Newcastle Ottawa Scale was used. Two independent reviewers conducted a quality assessment, and discrepancies were resolved through discussion and consensus.

7. **Risk of bias assessment:** every study had its bias evaluated by two review authors. The review included several methodological issues, including the creation of random sequences, hiding the allocation, putting staff, participants, and outcome assessors in the dark, providing insufficient outcome data, disclosing only certain results, and possibly having additional biases. The evaluation was performed using the standards set by the Cochrane Collaboration. Various evaluative judgments, such as low, high, and uncertain assessments, were used in this study. The current study assessed biases by examining how people's judgments were impacted by information availability and uncertainty. When disagreements surfaced, an impartial third party was consulted to act as an arbiter.

8. **Risk of bias assessment:** the method of randomization used in each study was recorded, and the adequacy of the randomization process was assessed based on the study description. The randomization method used in each study was categorized as "adequate" if it was clearly described as a random process, such as computer-generated random numbers or a randomization table. If the study did not provide sufficient detail about its randomization process, it was categorized as "unclear." If the study did not use a randomization process, it was categorized as "inadequate."

Results

The four studies met the requirements for inclusion in this systematic review. A total of 755 young adolescents from several nations, including Spain, Italy, Greece, and Portugal, participated in the study. There was a range of 12 to 2 years for the interventions. Numerous outcomes were reported in the research, including blood pressure, lipid profiles, waist circumference, body weight, BMI, and food consumption. Table 1 presents the detailed demographic and metabolic characteristics of the participants by gender.

Table 1. Demographic and Metabolic Characteristics of Participants by Gender.

Characteristic	Girls	Boys
No. of participants	401	354
Age (year)	10-18 years	10-18 years
Weight (kg)	53.4 + 11.1	56.8 +14.1
Height (cm)	157.7 + 6.68	162.9 +11.3
BMI (kg/m ²)	21.4+ 3.9	21.2 + 3.7
Adiponectin, mg/mL	12.9 5.7	10.2 4.8
HOMA-IR	3.5 1.8	3.3 7.4

Note. Body mass index (BMI) is referred to as BMI, and the homeostasis model evaluation of insulin resistance is known as HOMA-IR.

Four selected articles demonstrated significant improvements in serum transaminase levels, insulin resistance, and the degree of hepatic steatosis in both groups after 12 weeks on a low-fiber diet (LFD) or a Mediterranean diet (MD). All groups showed similar results, but no significant differences were observed for aspartate aminotransferase (AST). AST levels decreased more in the MD group than in the LFD group ($p < 0.05$). Blood total antioxidant capacity, paraoxonase-1, and glutathione peroxidase levels in the Mediterranean diet (MD) group were higher ($p < 0.05$) than those in the low-fiber diet (LFD) group at baseline. C-reactive protein (CRP) levels only decreased in the MD group ($p = 0.008$), whereas interleukin-6 (IL-6) levels only increased in the LFD group ($p = 0.031$). To determine how the Mediterranean Diet (MD) affects different health outcomes in early adolescents, 44 individuals participated in the study.

Serum transaminase levels, insulin resistance, and hepatic steatosis all significantly declined in the low-fat diet (LFD) and Mediterranean diet (MD) groups. AST, glutathione peroxidase, paraoxonase-1, and serum total antioxidant capacity were all significantly lower in the MD group than in the LFD group. In both groups, interleukin-6 (IL-6) levels also decreased. After 12 weeks, the group following the Mediterranean diet was smaller than the control group in terms of weight, waist circumference, and body mass index (BMI). In comparison to the control group, the MD group's systolic blood pressure was considerably lower. The homeostatic model evaluation of insulin resistance revealed a substantial rise in HDL levels but a significant decrease in triglycerides, low-density lipoprotein (LDL), and fasting blood glucose levels in the MD group.

Serum concentrations of inflammatory markers, including IL-6 and high-sensitivity C-reactive protein, were considerably lower in the MD group.

Another study investigated the impact of anthropometric measures and sleep patterns in children and adolescents with abdominal obesity. The study comprised 529 adolescents between the ages of 12 and 18, and measurements of body adiposity and anthropometry were performed. All adiposity

variables showed a linear rise in HOMA-IR across quartiles ($p < 0.001$), independent of age, sex, pubertal stage, socioeconomic position, cardiovascular health, or adherence to the Mediterranean diet. Following the Mediterranean diet (MD) for twelve weeks resulted in significantly lower weight, waist circumference, and body mass index (BMI) than the control group ($p < 0.001$). Furthermore, there was a significant difference ($p < 0.001$) in the systolic blood pressure between the control and Mediterranean diet (MD) groups. Compared with low-density lipoprotein (LDL), triglycerides (TG), fasting blood glucose (FBS), and the homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR), there was a significant increase ($p < 0.001$) in the levels of HDL. A significant reduction ($p < 0.02$) in the blood levels of inflammatory markers, such as IL-6 and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), was linked to the Mediterranean diet (MD). Table 2 outlines how the Mediterranean diet influences inflammatory biomarkers and elements of metabolic syndrome among adolescent girls.

Table 2. Effect of the Mediterranean diet on inflammatory biomarkers and components of metabolic syndrome in adolescent girls.

Parameter	Result
Weight	Lower (Ptime*group $\leq 0/001$)
BMI	Lower (Ptime*group $\leq 0/001$)
Waist Circumference	Lower (Ptime*group $\leq 0/001$)
Systolic blood pressure	Significantly reduced (Ptime*group $\leq 0/001$)
Fasting blood glucose	Significantly decreased (Ptime*group $\leq 0/001$)
Triglycerides	Significantly decreased (Ptime*group $\leq 0/001$)
LDL	Significantly decreased (Ptime*group $\leq 0/001$)
HOMA-IR	Significantly decreased (Ptime*group = 0/02)
HDL	Increased (Ptime*group $\leq 0/001$)
IL-6	Significantly reduced (Ptime*group = 0/02)
hs-CRP	Significantly reduced (Ptime*group = 0/02)
TNF- α	No significant effect (Ptime*group = 0/43)

Research with 529 adolescents aged 12–18 years discovered that HOMA-IR increased linearly across all adiposity measure quartiles. Age, sex, pubertal stage, socioeconomic status, Mediterranean diet adherence, and cardiovascular health were not associated with this increase. In all cases, the p-value was less than 0.001. When compared with the low adiponectin group, adolescents in the upper quartile of adiposity for body fat percentage (BF%), body mass index (BMI), waist circumference (WC), and skinfold sum (Q4) had substantially lower HOMA-IR. This difference was observed for possible confounders and was detected at a significance level of $p < 0.01$. Children with higher

levels of physical activity compared with those with lower levels showed considerably reduced triglyceride levels ($p = 0.001$), according to another study including 529 adolescents.

A multidisciplinary investigation observed that the intervention group significantly reduced sleep latency at 12 and 24 months in children and adolescents with abdominal obesity. When compared with the group receiving normal treatment, they also demonstrated enhanced sleep efficiency at 2 and 12 months. The intervention group woke up after sleep had started at 24 months, and they woke up far less frequently.

All subject's leptin levels and wakefulness following the onset of sleep showed a favorable correlation. Following the 2-month intervention, total sleep time showed an inverse relationship with triglycerides and metabolic score and a negative correlation with leptin, triglycerides, and metabolic score. At one year, the metabolic score was negatively connected with efficiency and positively correlated with the frequency of awakenings and wakefulness after sleep onset, whereas triglyceride levels were adversely correlated with the total amount of time spent in bed and sleep.

Discussion

The Seven Countries Study had an observational design and possessed restricted capability to establish a cause-and-effect relationship. The link between total blood cholesterol levels and the dietary variables manipulated was the main area of study for Keys and his team. They were more focused on investigating the potential of the Mediterranean diet, which may be advantageous for cardiovascular health overall. Until the early 1990s, the notion of the "Mediterranean diet" was primarily unheard of, although the Seven Countries Study demonstrated the links between dietary practices and cardiovascular risk ¹⁰.

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) has been recognized as the most common liver disease among adolescents in the United States because of its significant association with obesity. NAFLD may cause progressive fibrosis over time, which may lead to severe liver disease. It has been one of the main causes of adult liver transplants throughout the last decade ¹¹.

Chronic hepatic fat buildup in children aged 18 years is known as pediatric nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Cases associated with infections, fatty liver-inducing drug usage, malnourishment, genetic or metabolic abnormalities, or alcohol intake were not included ¹². The results of subsequent liver biopsies performed as standard clinical treatment for children with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) were reported in two small retrospective studies. After an average of 28 months, the first trial found that 11 of 18 patients had either stable or better fibrosis ¹³. In a retrospective study, fibrosis deteriorated over an average of 41 months in 4 of 5 individuals investigated ¹⁴.

Numerous authors have reported obesity as a major risk factor for nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Body mass index (BMI), weight, and obesity have been associated with an elevated risk of NAFLD ¹⁵.

Four studies were reviewed to investigate the effects of the Mediterranean diet (MD) on early adolescents in this systematic review. By the time the trial ended, the evaluation showed that both groups of participants implementing a low-fiber diet (LFD) and the group following a Mediterranean diet (MD) had significantly lower levels of insulin resistance, serum transaminase, and severity of hepatic steatosis. However, aspartate aminotransferase (AST) levels were significantly reduced in the Mediterranean Diet (MD) group than in the low-fiber diet (LFD) group. Additionally, the Mediterranean Diet (MD) group showed improvements in blood levels of glutathione peroxidase, paraoxonase-1, and total antioxidant capacity in addition to a decrease in C - C-reactive protein (CRP). The group on the reduced fiber diet (LFD) exhibited a decrease in interleukin-6 levels. There was a decrease in waist circumference, body mass index (BMI), and weight in both groups.

HOMA-IR levels were consistently elevated by all markers of adiposity, including age, sex, pubertal stage, socioeconomic status, adherence to the Mediterranean diet, and cardiovascular health. Higher adiponectin and lower HOMA-IR levels were observed in obese adolescents. This implies that adiponectin, insulin resistance, and obesity are related. Higher levels of physical activity were related to decreased triglyceride levels.

Accordingly, in ¹⁶, low adiponectin levels at baseline and a reduction in adiponectin levels throughout the 10-year ten-year follow-up period are predictive of developing metabolic syndrome. In addition, adipocyte dysfunction is triggered by dietary habits such as excessive eating, inactivity, and low respiratory health. Defensive adipocytokines such as adiponectin are also dysregulated by these conditions, which results in radiotoxicity ¹⁷. In obese populations, obesity is linked to further metabolic conditions ¹⁸. According to the research, a prominent level of insulin resistance has been associated with an increase in the adipose depot, especially in the visceral area ¹⁹.

Correlation between insulin resistance and normal body mass index, glucose tolerance, waist circumference, and body fat mass in males ¹⁹. The relationship between insulin resistance, anthropometric measures, and the buildup of abdominal fat in those classified as obese or diabetic was explained by the results of a cross-sectional study ²⁰. Therefore, insulin resistance (IR) may serve as a trigger for the development of several maladies, such as metabolic syndrome, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), and progressive liver fibrosis, all of which are common liver disorders in obese people.

Research has focused on nutritional and pharmaceutical approaches that block many inflammatory pathways that cause metabolic problems associated with obesity. A lower incidence of cardiovascular diseases and death from all causes has been associated with strict adherence to a Mediterranean diet²¹. Cardiorespiratory health, which is indicated as a strong predictor of health outcomes in adolescents, is another essential component of health in addition to food²². Circulating adiponectin levels and cardiorespiratory fitness correlate negatively with some studies²³. Because adolescence is an essential stage for developing lifestyle patterns, the importance of nutrition and cardiorespiratory fitness in reducing the risk of cardiometabolic disease is significant.

The effects of a multidisciplinary intervention on sleep patterns in children and adolescents with abdominal obesity were investigated in a different study that was included in the systematic review. The intervention group showed significant increases in sleep efficiency at 2 and 12 months, as well as improvements in sleep latency at 12 and 24 months when compared with the control group. The frequency of awakenings and waking after sleep began was significantly lower in the intervention group at 24 months. Each participant's leptin level and sleep latency showed favorable correlations. Furthermore, inverse relationships were found between the metabolic score, triglycerides, and overall amount of time spent in sleep. Moreover, inverse relationships between total sleep duration and triglycerides, leptin, and metabolic score were noted after the 2-month intervention.

A recent study found that many variables, including sex, food, fasting, sleep, and hormonal changes, affect the control of diurnal blood leptin levels²⁴. The data indicate that leptin levels and sleep duration correlate in both directions²². The loss of fat mass in the selected study was the main cause of the decrease in leptin levels. Evaluating the levels in obese adolescents would be useful.

An investigation measuring the concentration of melatonin in the saliva of obese children found that 1 h after sleep, their levels were more than twice as high as those of control children²⁵. It was further shown after a year that there was a negative correlation between total sleep time in bed and triglyceride levels. The metabolic score revealed an inverse relationship with sleep efficiency and a direct relationship with waking after sleep initiation and the frequency of awakenings. In addition, the study discovered that teenagers' HOMA-IR values were lower in the top quartile than in the lower quartile of adiposity measures. This conclusion was reached after adjusting for potential confounding variables such as age, sex, pubertal stage, socioeconomic status, Mediterranean diet adherence, and cardiovascular health. Teenagers who engaged in more physical exercise had lower triglyceride levels than those who did not engage in as much physical activity.

Numerous studies have researched the relationship between the number of sleep and metabolic risk factors in addition to weight status. Strong evidence points to the fact that children who sleep for longer periods are more likely to be overweight or obese, which is consistent with our results on triglycerides and metabolic status²⁶. We observed a clear correlation between waking after sleep onset (WASO) and both metabolic scores and leptin levels along with our lifestyle modification. In a case-control study, children with obesity linked to metabolic syndrome exhibited increased waking after sleep onset (WASO)²⁷. Studies have shown a negative association between metabolic score and sleep efficiency.

A significant negative relationship was observed between better sleep efficiency and unfavorable anthropometric results in other research that employed objective techniques to quantify sleep efficiency²⁸. The number of awakenings was found to be a significant predictor of obesity in two studies including adolescents. Liu et al. found a significant difference in children's sleep maintenance between overweight/obese and normal weight, specifically if it came to night awakenings as reported by parents²⁸.

This study provides important new information on the possible benefits of lifestyle modifications on the quality of sleep in obese children and adolescents. The relationship between children's sleep habits and their metabolic health is being clarified because of these discoveries. However, we understand that there are still several limitations to that study.

First, the participants span a wide variety of ages and pubertal phases. The statistical models incorporated age, pubertal stage, and sex to reduce the impact of any confounding variables. One potential drawback of the research might be the diminished statistical power to compare sleep metrics between the two groups at follow-up, which could be linked to a decline in sample size because of dropouts. Furthermore, the particular characteristics of the individual and the tool may impact sleep measures.

The additional research and systematic review provide evidence in favor of the benefits of lifestyle modifications and the Mediterranean diet for early adolescents. Studies have indicated that the Mediterranean diet improves several inflammatory and metabolic parameters and sleep habits. Furthermore, it has been shown that modifying a person's lifestyle, such as increasing physical activity, can improve cholesterol levels. Implementing a Mediterranean diet and lifestyle changes at an early age could have a substantial impact on lowering the prevalence of obesity-related disorders such as type 2 diabetes, heart problems, and cancer.

Additional studies are needed to confirm these results in broader population samples and to explore the long-term effects of these treatments on early adolescent health outcomes. Numerous health indicators, including hepatic function, metabolic profile, inflammatory markers, anthropometric

parameters, and sleep patterns, have been found to improve with the Mediterranean diet. These results highlight the Mediterranean diet's ability to protect the population against obesity and related metabolic diseases. Further longitudinal studies and additional investigations are necessary to validate these findings and gain a more comprehensive understanding of the underlying mechanisms involved.

Conclusions

The four studies reviewed showed that the Mediterranean diet improves several anthropometric, metabolic, inflammatory, and antioxidant capacity markers compared to a low-fiber diet. The Mediterranean diet achieved significant reductions in insulin resistance, hepatic steatosis, waist circumference, blood pressure, weight, BMI, triglycerides, fasting glucose, and inflammatory biomarkers like IL-6 and CRP. It also increased HDL levels. These findings suggest that the Mediterranean diet could be an effective nutritional intervention to prevent obesity, type 2 diabetes, cardiovascular disease, and other metabolic conditions in early adolescence.

Conflicts of Interest: the authors declare no conflict of interest.

References

1. Lassale C, Fitó M, Morales-Suárez-Varela M, Moya A, Gómez SF, Schröder H. Mediterranean diet and adiposity in children and adolescents: A systematic review. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes.* **2022**;23 Suppl 1:e13381. doi:10.1111/obr.13381
2. Herrera-Ramos E, et al. Trends in Adherence to the Mediterranean Diet in Spanish Children and Adolescents across Two Decades. *J Title.* **2023**;15(10):2348.
3. Moharana M, Pandey M, Rautaray SS. Clustering Based Bmi Indexing for Child Disease Prone-Probability Prediction. *SN Comput Sci.* **2023**;4(413). doi:<https://doi.org/10.1007/s42979-023-01823-z>
4. Dominguez LJ, Di Bella G, Veronese N, Barbagallo M. Impact of Mediterranean Diet on Chronic Non-Communicable Diseases and Longevity. *Nutrients.* **2021**;13(6):2028. doi:10.3390/nu13062028
5. Di Daniele N, Noce A, Vidiri MF, et al. Impact of Mediterranean diet on metabolic syndrome, cancer and longevity. *Oncotarget.* **2016**;8(5):8947-8979. doi:10.18632/oncotarget.13553
6. Mastorakou D, Rabaeus M, Salen P, Pounis G, de Lorgeril M. Chapter 9 - Mediterranean Diet: A Health-Protective Dietary Pattern for Modern Times. In: Pounis G, ed. *Analysis in Nutrition Research.* Academic Press; **2019**:233-258. doi:10.1016/B978-0-12-814556-2.00009-9

7. Chacón A, Pineda ML, Jiménez C. Características fisicoquímicas y sensoriales de helados de leche caprina y bovina con grasa vegetal1. *Agron Mesoam*. 2016;27(1):19-36.
8. Farella I, Miselli F, Campanozzi A, Grosso FM, Laforgia N, Baldassarre ME. Mediterranean Diet in Developmental Age: A Narrative Review of Current Evidences and Research Gaps. *Children*. 2022;9(6):906. doi:10.3390/children9060906
9. Haddaway NR, Page MJ, Pritchard CC, McGuinness LA. PRISMA2020: An R package and Shiny app for producing PRISMA 2020-compliant flow diagrams, with interactivity for optimised digital transparency and Open Synthesis. *Campbell Syst Rev*. 2022;18(2):e1230. doi:10.1002/cl2.1230
10. de Lorgeril M. Mediterranean Diet and Cardiovascular Disease: Historical Perspective and Latest Evidence. *Curr Atheroscler Rep*. 2013;15:1-5.
11. Wong RJ, Aguilar M, Cheung R, et al. Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. *Gastroenterology*. 2015;148(3):547-555. doi:10.1053/j.gastro.2014.11.039
12. Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, et al. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017;64(2):319-334. doi:10.1097/MPG.0000000000001482
13. Hassan H, al et. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: A Single Center Experience. *J Title*. 2008;6(7):799-802.
14. Feldstein A, al et. The Natural History of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children: A Follow-up Study for up to 20 Years. *J Title*. 2010;7(1):69-70.
15. Li L, Liu DW, Yan HY, Wang ZY, Zhao SH, Wang B. Obesity is an independent risk factor for non-alcoholic fatty liver disease: evidence from a meta-analysis of 21 cohort studies. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes*. 2016;17(6):510-519. doi:10.1111/obr.12407
16. Lindberg S, Jensen JS, Bjerre M, et al. Low adiponectin levels at baseline and decreasing adiponectin levels over 10 years of follow-up predict risk of the metabolic syndrome. *Diabetes Metab*. 2017;43(2):134-139. doi:10.1016/j.diabet.2016.07.027

17. Kishida K, Funahashi T, Shimomura I. Adiponectin as a routine clinical biomarker. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* **2014**;28(1):119-130. doi:10.1016/j.beem.2013.08.006
18. Xia C, Li R, Zhang S, et al. Lipid accumulation product is a powerful index for recognizing insulin resistance in non-diabetic individuals. *Eur J Clin Nutr.* **2012**;66(9):1035-1038. doi:10.1038/ejcn.2012.83
19. Sasaki R, Yano Y, Yasuma T, et al. Association of Waist Circumference and Body Fat Weight with Insulin Resistance in Male Subjects with Normal Body Mass Index and Normal Glucose Tolerance. *Intern Med Tokyo Jpn.* **2016**;55(11):1425-1432. doi:10.2169/internalmedicine.55.4100
20. Velásquez CM, Velásquez M, Gómez L, Bermúdez-Cardona J. Abdominal obesity and low physical activity are associated with insulin resistance in overweight adolescents: a cross-sectional study. *BMC Pediatr.* **2014**;14:258. doi:10.1186/1471-2431-14-258
21. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med.* **2013**;368(14):1279-1290. doi:10.1056/NEJMoa1200303
22. Mosavat M, Mirsanjari M, Arabiat D, Smyth A, Whitehead L. The Role of Sleep Curtailment on Leptin Levels in Obesity and Diabetes Mellitus. *Obes Facts.* **2021**;14(2):214-221. doi:10.1159/000514095
23. Agostinis-Sobrinho C, Moreira C, Abreu S, et al. Serum Adiponectin Levels and Cardiorespiratory Fitness in Non-Overweight and Overweight Portuguese Adolescents: The LabMed Physical Activity Study. *Pediatr Exerc Sci.* **2017**;29:237-244. doi:10.1123/pes.2016-0162
24. Pan W, Kastin AJ. Leptin: A Biomarker for Sleep Disorders? *Sleep Med Rev.* **2014**;18(3):283-290.
25. Gombert M, Martin-Carbonell V, Pin-Arboledas G, Carrasco-Luna J, Carrasco-García Á, Codoñer-Franch P. Melatonin Levels in Children with Obesity Are Associated with Metabolic Risk and Inflammatory Parameters. *Nutrients.* **2021**;13(10):3629. doi:10.3390/nu13103629
26. Epel E, Jimenez S, Brownell K, Stroud L, Stoney C, Niaura R. Are stress eaters at risk for the metabolic syndrome? *Ann N Y Acad Sci.* **2004**;1032:208-210. doi:10.1196/annals.1314.022
27. alilolghadr S, al et. Sleep Architecture and Obstructive Sleep Apnea in Obese Children with and without Metabolic Syndrome: A Case Control Study. *J Title.* **2016**;20:845-851.

28. Bagley EJ, El-Sheikh M. Relations between daytime pre-ejection period reactivity and sleep in late childhood. *J Sleep Res.* **2014**;23(3):335-338. doi:10.1111/jsr.12117

/ **Received:** 10 May 2024 / **Accepted:** 5 June 2024 / **Published:** 15 June 2024 /

Citation: Nápoles O, Macías A, Crespo L, Mosqueda L. *The Mediterranean diet as a nutritional intervention strategy in young adolescents.* Bionatura. **2024**;9(2) DOI: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.02.13>

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>.

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Instrucciones a los autores

Los Trabajos serán Inéditos: Una vez aprobados, no podrán someterse a la consideración de otra revista, con vistas a una publicación múltiple, sin la debida autorización del Comité Editorial de la Revista. La extensión máxima será 8 cuartillas para los trabajos originales, 12 las revisiones y 4 las comunicaciones breves e informes de casos, incluidas las tablas y figuras.

Los artículos se presentarán impresos (dos ejemplares). Todas las páginas se numerarán con arábigos y consecutivamente a partir de la primera. Estos deben acompañarse de una versión digital (correo electrónico o CD) en lenguaje Microsoft Word, sin sangrías, tabuladores o cualquier otro atributo de diseño (títulos centrados, justificaciones, espacios entre párrafos, etc.). Siempre se ha de adjuntar la carta del consejo científico que avala la publicación y una declaración jurada de los autores. Referencias Bibliográficas. Se numerarán según el orden de mención en el texto y deberán identificarse mediante arábigos en forma exponencial. Los trabajos originales no sobrepasarán las 20 citas; las revisiones, de 25 a 50 y las comunicaciones breves e informes de casos. En las Referencias en caso de que las publicaciones revisadas estén online se debe proveer un enlace consistente para su localización en Internet. Actualmente, no todos los documentos tienen DOI, pero si lo tienen se debe incluir como parte de las referencias. Si no tuviese DOI, incluir la URL.

Tablas, modelos y anexos: Se presentarán en hojas aparte (no se intercalarán en el artículo) y en forma vertical numeradas consecutivamente y mencionadas en el texto. Las tablas se ajustarán al formato de la publicación se podrán modificar si presentan dificultades técnicas. Figuras: Las fotografías, gráficos, dibujos, esquemas, mapas, salidas de computadora, otras representaciones gráficas y fórmulas no lineales, se denominarán figuras y tendrán numeración arábiga consecutiva. Se presentarán impresas en el artículo en páginas independientes y en formato digital con una resolución de 300 dpi. Todas se mencionarán en el texto. Los pies de figuras se colocarán en página aparte. El total de las figuras y tablas ascenderá a 5 para los trabajos originales y de revisión y 3 para las comunicaciones breves e informes de casos. Abreviaturas y siglas: Las precederá su nombre completo la primera vez que aparezcan en el texto. No figurarán en títulos ni resúmenes. Se emplearán las de uso internacional. Sistema Internacional de Unidades (SI): Todos los resultados de laboratorio clínico se informarán en unidades del SI o permitidas por este. Si se desea añadir las unidades tradicionales, se escribirán entre paréntesis. Ejemplo: glicemia: 5,55 mmol/L (100 mg/100 mL). Para facilitar la elaboración de los originales, se orienta a los autores consultar los requisitos uniformes antes señalados disponibles en: [http://www.fisterra.com/recursos_web/mbelvancouver.htm#ilustraciones%20\(figura\)](http://www.fisterra.com/recursos_web/mbelvancouver.htm#ilustraciones%20(figura)) Los trabajos que no se ajusten a estas instrucciones, se devolverán a los autores. Los aceptados se procesarán según las normas establecidas por el Comité Editorial. El arbitraje se realizará por pares y a doble ciego en un período no mayor de 60 días. Los autores podrán disponer de no más de 45 días para enviar el artículo con correcciones, se aceptan hasta tres reenvíos. El Consejo de Redacción se reserva el derecho de introducir modificaciones de estilo y /o acotar los textos que lo precisen, comprometiéndose a respetar el contenido original. El Comité Editorial de la Revista se reserva todos los derechos sobre los trabajos originales publicados en esta.



Periférico Sur s/n, San Antonio. Ibarra – Ecuador

<https://bioecologicos.com/>

<https://www.facebook.com/BioecologicosEC/>

Email: bioecologicosec@gmail.com

Cel.: +593 99 5968529

Docencia, investigación,
 extensión y proyección
 social al servicio del territorio



Fortalezas institucionales

- > Biotecnología
- > Limnología
- > Derechos Humanos – Posconflicto
- > Internacionalización
- > Inclusión Social
 - SER – Servicio Educativo Rural
 - Educación de Alfabetización
- > MIES – Instituto de formación para el trabajo y el desarrollo humano
- > Formación humanística "Ruta Humanística en el currículo - Cátedra abierta Madre de la Sabiduría"
- > Investigación y desarrollo tecnológico
- > Comprometida con la calidad
- > Centro de Estudios Territoriales
- > Biodiversidad
 - Herbario
 - Ictiología
 - Litoteca

Áreas del conocimiento

- Ciencias Agropecuarias
 - Ciencias de la Educación
 - Ciencias de la Salud
 - Ciencias Económicas y Administrativas
 - Ciencias Sociales
 - Derecho
 - Ingenierías
 - Teología y Humanidades
- > 26 programas de pregrado
 > 16 programas de posgrado
 - 1 doctorado
 - 8 maestrías
 - 7 especializaciones

www.uco.edu.co [universidad.catolicadeoriente](https://www.facebook.com/universidad.catolicadeoriente) [@uconiano](https://twitter.com/uconiano)



“Servicio educativo con calidad en:
 Personas, procesos y servicios”

Contacto institucional Universidad Católica de Oriente
 Sector 3, Cra. 46 No. 40B 50 - **PBX:** +(57)(4) 569 90 90. Ext. 694
Fax: +(57)(4) 531 39 72 - **Email:** uco@uco.edu.co

