

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE PRODUCTOS Y SUBPRODUCTOS
DE LA SEMILLA DE ALMENDRA *Prunus serotina* VAR. CAPULI**

POR

ANALÍA ALEJANDRA LU MARTÍNEZ

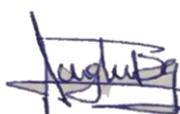
**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR
EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN ALIMENTOS**

JULIO, 2019

APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE PRODUCTOS Y
SUBPRODUCTOS DE LA SEMILLA DE ALMENDRA *Prunus*

serotina VAR. CAPULI

Comité de Tesis



Dr. Juan Gabriel Báez González

Presidente



Dra. Sandra Loruhamá Castillo Hernández

Secretario



Dra. Claudia Tomasa Gallardo Rivera

Vocal



Dr. Carlos Abel Amaya Guerra

Vocal



Dra. Ma. Adriana Núñez González

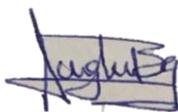
Vocal

APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE PRODUCTOS Y

SUBPRODUCTOS DE LA SEMILLA DE ALMENDRA *Prunus*

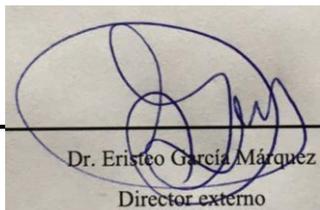
serotina VAR. CAPULI

Dirección de Tesis



Dr. Juan Gabriel Báez González

Director



Dr. Eristeo García Márquez
Director externo

AGRADECIMIENTOS

A CONACyT por el financiamiento de este trabajo a través de la beca 61120, así como el proyecto Problemas nacionales-2015-01-1470 y el proyecto CONACyT CB-157511.

A la universidad que me permitió formarme en un nivel académico de posgrado.

A mis directores de tesis por su guía, paciencia y motivación.

A mi padres y hermanos por su gran apoyo y amor incondicional.

A mis compañeros de posgrado por compartir conocimientos, experiencias, consejos y ratos de diversión.

Y a todas aquellas personas que se han ido, llegado y mantenido en mi vida pues sé que el conocerla(o)s no fue por accidente, sino porque debía aprender algo de cada uno de ustedes. Y me han ayudado a ser la persona de hoy en día.

Y a Dios por todas las facilidades y obstáculos que puso en mi camino a lo largo de estos cinco años, los cuales se convirtieron en experiencias de vida y me ayudaron a forjar mi carácter personal y profesional. Y por permitirme cumplir una meta más.

DEDICATORIA

Todas las batallas y victorias por las que pase en el proceso de cumplir esta meta y proyecto personal se lo dedico a mis padres, porque me han enseñado siempre a dar mi todo y sin importan el resultado siempre estuvieron ahí para apoyarme y darme la fortaleza y amor para seguir adelante.

INDICE

1	INTRODUCCIÓN	15
1.1	Almendra <i>Prunus serotina</i> var. <i>capuli</i>	16
1.2	Composición nutrimental	16
1.3	Perfil lipídico	17
1.4	Antioxidantes.....	18
1.5	Perfil proteico.....	19
1.6	Aplicaciones	19
1.6.1	Producto de panificación	19
1.6.2	Emulsión	20
1.6.3	Carbón activado.....	21
2	JUSTIFICACIÓN.....	23
3	HIPÓTESIS.....	24
4	OBJETIVO DEL TRABAJO.....	25
4.1	General.....	25
4.2	Particulares.....	25
5	MATERIAL Y MÉTODOS	26
5.1	Material Vegetal.....	26
5.2	Compuestos químicos y solventes	26
5.3	Análisis lipídico de semilla <i>P. serotina</i>	26
5.3.1	Extracción de aceite	27
5.3.1.1	Densidad.....	27
5.3.1.2	Índice de refracción	28
5.3.1.3	Análisis de ácidos grasos.....	28
5.3.1.4	Extracción de fracciones <i>Poliomintha longiflora</i>	29
5.3.1.5	Oxidación de lípidos.....	30
5.3.1.5.1	Cuantificación de peróxidos.....	30
5.3.1.5.2	Cuantificación de malondialdehídos	31
5.4	Capacidad antioxidante de almendra <i>P. serotina</i>	31
5.4.1	Preparación de muestras (aceite, cáscara y semilla).....	31
5.4.1.1	Determinación de compuestos fenólicos totales.....	32
5.4.1.2	Determinación de flavonoides totales	33

5.4.1.3	Actividad antioxidante con ABTS	33
5.4.1.4	Actividad antioxidante con DPPH	34
5.5	Harina de almendra	34
5.5.1	Elaboración de harina	34
5.5.1.1	Tamaño de partícula	35
5.5.1.2	Composición proximal	36
5.5.1.2.1	Determinación de humedad	36
5.5.1.2.2	Determinación de cenizas	36
5.5.1.2.3	Determinación de extracto etéreo	37
5.5.1.2.4	Determinación de proteína	37
5.5.1.2.5	Determinación de fibra cruda	38
5.5.1.2.6	Contenido de extracto libre de nitrógeno	38
5.5.1.2.7	Cuantificación calórica	39
5.5.1.3	Propiedades funcionales	39
5.5.1.3.1.1	Capacidad de absorción de agua	39
5.5.1.3.1.2	Capacidad de absorción de grasa	39
5.5.1.3.1.3	Capacidad emulsionante	40
5.5.1.3.1.4	Capacidad gelificante	40
5.5.1.3.1.5	Capacidad hinchamiento	40
5.5.1.3.1.6	Capacidad espumante	40
5.5.1.4	Extracción de proteínas solubles	41
5.5.1.4.1	Peso molecular de proteínas solubles	43
5.5.2	Concentrado y análisis de proteína de almendra	43
5.5.2.1	Determinación de punto isoelectrico	43
5.5.2.2	Obtención de concentrado proteico	44
5.5.2.2.1	Propiedades funcionales	47
5.6	Desarrollo de productos	47
5.6.1	Harina para galleta	48
5.6.1.1	Reacción de Grignard	48
5.6.1.2	Receta de galletas	49
5.6.1.2.1	Evaluación sensorial	50
5.6.1.2.2	Composición nutricional	50
5.6.2	Elaboración de emulsiones	51

5.6.2.1	Índice de estabilidad y actividad emulsionante	51
5.6.2.2	Concentrado de proteína en interfase	52
5.6.2.3	Viscosidad	53
5.6.2.4	Tamaño de partícula	53
5.6.2.5	Índice de cremado	54
5.6.2.6	Microscopia óptica	54
5.6.2.7	Ajustes de pH.....	54
5.6.3	Carbón activado	55
5.6.3.1	Análisis Elemental.....	55
5.7	Análisis Estadístico	56
6	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	57
6.1	Análisis lipídico de semilla <i>P. serotina</i>	57
6.1.1	Perfil lipídico	58
6.1.2	Fraciones de aceite <i>Poliomintha longiflora</i>	59
6.1.3	Oxidación de lípidos.....	61
6.2	Capacidad antioxidante de almendra <i>P. serotina</i>	69
6.2.1	Compuestos fenólicos totales.....	69
6.2.2	Flavonoides totales	71
6.2.3	Actividad antioxidante.....	72
6.3	Harina de almendra	73
6.3.1	Tamaño de partícula.....	74
6.3.2	Composición proximal.....	75
6.3.3	Propiedades funcionales	76
6.3.4	Peso molecular de proteínas solubles	77
6.4	Concentrado de proteína de almendra.....	79
6.4.1	Punto isoeléctrico	79
6.4.2	Contenido de proteína	80
6.4.3	Propiedades funcionales	84
6.5	Galletas.....	85
6.5.1	Prueba de Grignard	85
6.5.2	Evaluación sensorial	86
6.5.3	Composición nutrimental	87
6.6	Emulsiones	88

6.6.1	Índice de estabilidad y actividad emulsionante	88
6.6.2	Concentrado de proteína en interfase	90
6.6.3	Viscosidad	91
6.6.4	Tamaño de partícula	93
6.6.5	Índice de cremado	94
6.6.6	Microscopia óptica	95
6.6.7	Índice de estabilidad y actividad emulsionante a diferentes pH.....	98
6.6.8	Concentrado de proteínas en interfase a diferentes pH.....	100
6.6.9	Viscosidad a diferentes pH.....	100
6.6.10	Tamaño de partícula a diferentes pH.....	101
6.6.11	Índice de cremado a diferentes pH.....	103
6.7	Carbón activado	104
6.7.1	Análisis Elemental.....	104
7	CONCLUSIONES.....	106
8	PERSPECTIVAS	108
9	BIBLIOGRAFÍA.....	109

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Receta de la masa de galletas.	49
Tabla 2. Densidad en aceites.	57
Tabla 3. Perfil lipídico del aceite de almendras <i>P. serotina</i> comparado con <i>P. dulcis</i>	58
Tabla 4. Perfil de compuestos orgánicos en aceite <i>P. longiflora</i>	60
Tabla 5. Valores máximos de formación de hidroperóxido en aceite <i>P. serotina</i> con y sin antioxidantes.	65
Tabla 6. Contenido de fenoles totales en cáscara, semilla y aceite de <i>P. serotina</i>	70
Tabla 7. Contenido de flavonoides totales en cáscara, semilla y aceite de <i>P. serotina</i> . .	72
Tabla 8. Capacidad antioxidante de compuestos de almendra <i>P. serotina</i> comparado con <i>P. dulcis</i>	73
Tabla 9. Tamaño de partícula de harinas <i>P. serotina</i> comparado con <i>P. dulcis</i> y <i>Triticum spp.</i>	74
Tabla 10. Composición nutrimental de harinas de <i>P. serotina</i> comparado con <i>P. dulcis</i>	76
Tabla 11. Propiedades funcionales de harinas de <i>P. serotina</i> comparado con <i>P. dulcis</i> y <i>Triticum spp.</i>	77
Tabla 12. Composición de aminoácidos en semillas crudas y tostadas de <i>P. serotina</i> ...	79
Tabla 13. Contenido de proteína en residuo de harina de <i>P. serotina</i>	81
Tabla 14. Contenido de proteína en precipitado final de harina <i>P. serotina</i> . con pH ácido.	82
Tabla 15. Contenido de proteína en precipitado final de harina <i>P. serotina</i> con variaciones de NaCl y pH.	83
Tabla 16. Contenido de proteína en precipitado final de harina <i>P. serotina</i> sin uso de NaCl.	83
Tabla 17. Contenido de proteína en precipitado final de harina <i>P. serotina</i> sin uso de NaCl.	84
Tabla 18. Propiedades funcionales del concentrado proteico de <i>P. serotina</i>	85
Tabla 19. Efectos de harina de <i>P. serotina</i> en atributos sensoriales de galletas.	87
Tabla 20. Efecto de harina <i>P. serotina</i> en composición nutrimental de galletas comparadas con harina de trigo.	88
Tabla 21. Concentración de proteína en interfase de emulsiones con CPPs comparado con WPC.	91
Tabla 22. Elementos presentes en carbón activado de cáscara de <i>P. serotina</i>	105

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Procedimiento para obtener proteínas solubles a partir de harina <i>P. serotina</i> .	42
Figura 2. Procedimiento para obtener concentrado proteico de harina sin aceite <i>P. serotina</i> con NaCl.	46
Figura 3. Procedimiento para obtener concentrado proteico de harina sin aceite <i>P. serotina</i> por acidificación directa.	47
Figura 4. Formación de hidroperoxidos en aceite <i>P. serotina</i> comparado con <i>P. dulcis</i> .	63
Figura 5. Formación de hidroperóxidos en aceite <i>P. serotina</i> con fracciones de aceite <i>P. longiflora</i> a cuatro concentraciones.	64
Figura 6. Formación de malondialdehídos en aceite de <i>P. serotina</i> comparado con <i>P. dulcis</i> .	66
Figura 7. Formación de MDA en aceite de <i>P. serotina</i> con fracciones de aceite de <i>P. longiflora</i> a cuatro concentraciones.	68
Figura 8. Perfiles electroforéticos de fracciones proteicas de harina sin aceite de Capulín.	78
Figura 9. Punto isoelectrico (pI) de harina sin aceite de <i>P. serotina</i> .	80
Figura 10. Comparación de papeles pÍcricos de harina <i>P. serotina</i> con almendra fraccionada.	86
Figura 11. Índice de actividad y estabilidad emulsionante en emulsiones con CPPs comparadas con WPC.	90
Figura 12. Viscosidad de emulsiones con CPPs comparadas con WPC a diferentes ϕ .	92
Figura 13. Tamaño de partÍcula ($D_{3,2}$) de emulsiones con CPPs comparadas con WPC a diferentes ϕ .	94
Figura 14. Índice de cremado de emulsiones con CPPs comparadas con WPC a diferentes ϕ .	95
Figura 15. Microscopia de emulsiones con CPPs a 40X.	96
Figura 16. Microscopia de emulsiones con WPC a 40X.	97
Figura 17. Índice de actividad y estabilidad emulsionante de emulsiones con CPPs comparadas con WPC a diferentes pH.	99
Figura 18. Concentrado de proteínas en interfase de emulsiones con CPPs comparadas con WPC a diferentes pH.	100
Figura 19. Viscosidad de emulsiones con CPPs comparadas con WPC a diferentes pH.	101
Figura 20. Tamaño de partÍcula ($D_{3,2}$) de emulsiones con CPPs comparadas con WPC a diferentes pH.	102
Figura 21. Índice de cremado de emulsiones con CPPs comparadas con WPC a diferentes pH.	103

ABREVIATURAS

P. dulcis: *Prunus dulcis*

P. serotina: *Prunus serotina*

P. amygdalus: *Prunus amygdalus*

CG: Cromatografía de gases

CPPs: Concentrado de proteína de *P. serotina*

WPC: Concentrado de proteína de suero de leche

CLA: Ácido linoleico conjugado

MDA: Malondialdehídos

HC: Hidroperóxido de cumeno

TBA: Ácido tiobarbitúrico

TEP: 1,1,3,3-tetraetoxipropano

EAG: Equivalentes de ácido gálico

ECAT: Equivalentes de catequina

ABTS: 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)

DPPH: 1,1-difenil-2-picrilhidrazil

ELN: Extracto libre de nitrógeno

pI: Punto isoeléctrico

SDS-PAGE: Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio

BSA: Suero de albumina bovina

HCN: Ácido cianhídrico

IEE: Índice de estabilidad emulsionante

IAE: Índice de actividad emulsionante

IC: Índice de cremado

RESUMEN

Prunus serotina var. capuli es una planta originaria de Norte América. En México es conocida como Capulín y desde tiempos inmemorables la semilla ha sido consumida como botana. En el presente trabajo se analizó la cáscara, semilla y aceite de almendra. El CG cuantificó el perfil lipídico (41.42 % oleico, 26.97 % linoleico, 25.33 % α -eleostearico, 4.33 % palmítico, 1.33 % esteárico y 0.08 % linolénico). Los ácidos insaturados fueron oxidados, produciendo hidroperóxido ($11.84 \pm 0.39 \mu\text{M eq HC/kg aceite}$) y MDA ($10.82 \pm 0.15 \mu\text{M eq TEP/kg aceite}$). La adición de 3 ppm de concentrado 2.5X de *P. longiflora* con alto contenido de monoterpenos oxigenados e hidrocarbonados, disminuyó la producción de hidroperóxidos ($3.65 \pm 0.18 \mu\text{M eq HC/kg aceite}$) pero no la formación de MDA.

La cáscara destacó por su contenido de fenoles totales con $1.65 \pm 0.06 \text{ mg EAG/g muestra}$, la semilla por flavonoides totales con $0.77 \pm 0.01 \text{ mg ECAT/g muestra}$, y el aceite por su % de inhibición de radicales $31.52 \pm 2.71 \%$ (ABTS) y $12.94 \pm 0.67 \%$ (DPPH).

La composición nutrimental de la harina sin aceite *P. serotina* fue $50.94 \pm 0.64 \%$ proteína, $3.36 \pm 0.31 \%$ extracto etéreo, $4.03 \pm 0.27 \%$ fibra y $36.48 \pm 1.09 \%$ ELN. Entre sus capacidades funcionales resaltó la absorción de agua ($3.21 \pm 0.49 \text{ g agua/g de harina}$), y su capacidad emulsionante ($57.74 \pm 1.07 \%$). La harina se usó para elaborar galletas, logrando sustituir entre 25 % y 50 % la harina de trigo. El contenido de proteínas en las galletas fue 17 veces mayor, y 6.57 veces menor el de carbohidratos, usando la mezcla con 50 % harina sin aceite *P. serotina*.

Se identificó el pI (3.7) de las proteínas *P. serotina*. El pI sirvió de guía para la precipitación de proteína de la harina, logrando obtener un concentrado proteico con $81.44 \pm 7.74 \%$ de proteína. El concentrado destacó por su capacidad emulsionante de $62.00 \pm 0.40 \%$. Y en emulsiones aceite en agua, el concentrado proteico fue estable a fracción másica $\phi = 0.02 \%$ (p/p). La cáscara de semilla puede implementarse como materia prima para el desarrollo de carbón activado microporoso, con rendimiento de $30.79 \pm 3.84 \%$.

Palabras clave: *Prunus serotina*, ácidos insaturados, hidroperóxidos, MDA, propiedades funcionales, CPPs y estabilidad emulsionante.

SUMMARY

Prunus serotina var. *capuli*, is a plant native of North America. In Mexico it is known as Capulin, since immemorial times the seed has been consumed as a snack. In the present work, we analyzed the shell, seed and oil of the almond. The GC analysis quantified unsaturated acids (41.42 % oleic, 26.97 % linoleic, 25.33 % α -eleostearic, 4.33 % palmitic, 1.33 % stearic and 0.08 % linolenic). The unsaturated fatty acids were oxidized, producing hydroperoxides ($11.84 \pm 0.39 \mu\text{M eq CH/kg oil}$) and MDA ($10.82 \pm 0.15 \mu\text{M eq TEP/kg oil}$). The addition of 3 ppm of 25X concentrated *P. longiflora*, with high content of monoterpene oxygenated and hydrocarbons, decreased hydroperoxides production ($3.65 \pm 0.18 \mu\text{M eq CH/kg oil}$) but not MDA formation.

The shell stood out for its total phenolic content with $1.65 \pm 0.06 \text{ mg EGA/g sample}$, the seed for its total flavonoids with $0.77 \pm 0.01 \text{ mg ECAT/g sample}$, and the oil for its percentage of radical inhibition $31.52 \pm 2.71 \%$ (ABTS) and $12.94 \pm 0.67 \%$ (DPPH).

The nutritional composition of the oil free *P. serotina* flour was $50.94 \pm 0.64 \%$ protein, $3.36 \pm 0.31 \%$ ethereal extract, $4.03 \pm 0.27 \%$ fiber and $36.48 \pm 1.09 \%$ NFE. Among its functional properties stood out water absorption ($3.21 \pm 0.49 \text{ g water/g of flour}$) and its emulsifying capacity ($57.74 \pm 1.07 \%$). The flour was used to make cookies, replacing wheat flour between 25 % and 50 %. The protein content in cookies was 17 times higher and, 6.57 times lower in carbohydrates using the mixture with 50 % of oil free *P. serotina* flour.

The *pI* (3.7) of the *P. serotina* proteins was identified. The *pI* served as guide for the precipitation of protein from the purified flour, obtaining a protein concentrate with $81.44 \pm 7.74 \%$ of protein. Of its functional properties highlighted its emulsifying capacity of $62.00 \pm 0.40 \%$. And in oil in-water emulsions, the protein concentrate was stable at a mass fraction $\phi = 0.02 \%$ (w/w).

The seed shell can be implemented as a raw material for the development of microporous activated carbon with a yield of $30.79 \pm 3.84 \%$.

Keywords: *Prunus serotina*, unsaturated acids, hydroperoxides, MDA, functional properties, *PsPC* and emulsion stability.

1 INTRODUCCIÓN

La almendra *Prunus serotina* var. capuli es un derivado del Capulín, la semilla es un subproducto que se consume en México. El árbol de Capulín ha sido utilizado desde la época colonial, las hojas y el fruto se han empleado para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, respiratorias y gastrointestinales (García Aguilar et al. 2015).

Compuestos fenólicos que pueden reducir radicales libres se han reportado en la piel del fruto. La semilla contiene lípidos insaturados y proteínas. En su aceite se encuentra el ácido oleico en un 35 % y de linoleico y α -eleosteárico un 27 %. El ácido α -eleosteárico se ha propuesto como agente quimioterapéutico contra el cáncer de mama por suprimir el crecimiento de células cancerígenas (Aguerrebere et al. 2011). Además es fuente de proteína (36.5%) con digestibilidad de 88.5% (García Aguilar et al. 2015).

Por lo anterior, se analizaron fisicoquímicamente los principales componentes de la almendra (aceite, cáscara y semilla), junto con la estabilidad oxidativa, capacidad antioxidante y propiedades funcionales. Se desarrolló un concentrado proteico, galletas y carbón activado, como una alternativa para incrementar el aprovechamiento de la semilla y cáscara de *P. serotina*.

ANTECEDENTES

1.1 Almendra *Prunus serotina* var. capuli

La familia de las *Rosaceas* tiene en promedio 400 especies del género *Prunus*. Las *Prunus* crecen en regiones de clima templado y caliente, como es el caso de *P. persica* (Durazno), *P. domestica* (Ciruelo), *P. armeniaca* (Chabacano) y *P. serotina* (Capulín) por mencionar algunos (Pacheco Uribe et al. 2005). En esta última, se encuentra la variedad capuli, el cual es un árbol originario de Norte América. Crece desde Canadá hasta Guatemala y en algunos países de Europa como Bélgica, Países Bajos y Alemania (García Aguilar et al. 2015), donde el clima es favorable.

En México se conoce a esta variedad bajo el nombre de Capulín. El fruto y las hojas se han empleado en la medicina tradicional mexicana. El árbol puede encontrarse en regiones montañosas a altitudes de 2 500 m o más en el valle de México y Guanajuato, así como desde Jalisco a Chiapas. Se distribuye en los estados de Chihuahua, Chiapas, Coahuila, Durango, Hidalgo, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Morelia, Oaxaca, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas, Veracruz y México (Alveano Aguerrebere 2010).

El fruto se puede consumir en crudo o conserva (mermeladas) y como ingrediente de licores o jarabes para tratar enfermedades de vías respiratorias (Alveano Aguerrebere 2010; García Aguilar et al. 2015). Las hojas se utilizan para elaborar tés y jarabes para tratar problemas de hipertensión, dolor de estómago, infecciones bucales, diarrea, bronquitis y tos (García Aguilar et al. 2015) . La semilla se consume como botana tostada o salada. Sin embargo, otros países y regiones de Latinoamérica consideran la semilla un desperdicio, por no contar con la tradición de su aprovechamiento (Alveano Aguerrebere 2010; Raya Pérez et al. 2012).

1.2 Composición nutrimental

En base a los análisis proximales reportados por Alveano Aguerrebere (2010) y García Aguilar et al. (2015) la almendra *P. serotina* cruda contiene 8.92 ± 0.42 % de humedad, 3.19 ± 0.18 % de cenizas, 40.37 ± 0.73 % de lípidos, 37.95 ± 0.16 % de proteínas, $7.76 \pm$

2.24 % de carbohidratos y 10.73 ± 1.49 % de fibra cruda. El aporte calórico calculado de 100 g de semilla aporta 546.16 ± 3.03 kcal. Respecto a vitaminas y minerales, 100 g de semilla contribuye con: 3.916 mg de vitamina E o α -tocoferol, 192.30 ± 0.58 mg de calcio, 9.49 ± 0.3 mg de hierro, 249.15 ± 0.34 mg de magnesio, 439.0 ± 0.16 mg de fósforo, 873.22 ± 12.64 mg de potasio, 3.40 ± 0.10 mg de zinc y 82.98 ± 0.90 mg de sodio. Relacionando los aportes de vitaminas y minerales, el consumo de 100 g de semilla *P. serotina* aporta una quinceava parte de la ingesta diaria recomendada de calcio, un tercio de la recomendación de magnesio, un cuarto de la de potasio, un séptimo de la de fósforo y un veinteavo de la de sodio, comparado con tablas publicadas por el Instituto Nacional de Nutrición (García Aguilar et al. 2015; Raya Pérez et al. 2012).

1.3 Perfil lipídico

El contenido lipídico de la semilla Capulín puede variar dependiendo el lugar de procedencia, el método de extracción y si ha pasado por algún tratamiento térmico. La semilla puede contener de 21.3 a 49 % de aceite, sin glucósidos cianogénicos, amigdalina y prunasina (Alveano Aguerrebere 2010; Raya Pérez et al. 2012). En su composición se encuentran lípidos monosturados y poliinsaturados como el ácido oleico (35.3 %), α -eleosteárico (26.7 %), linoleico (26.6 %), palmítico (4.3 %), esteárico (4 %), β -eleosteárico (1 %), palmitoleico (0.1 %) y α -linoleico (0.2 %). Se ha demostrado que el consumo de aceites insaturados reduce el colesterol en plasma y la aterogénesis, al disminuir la inflamación de los macrófagos y las células vasculares endoteliales (Alveano Aguerrebere 2010; García Aguilar et al. 2015).

El ácido α -eleosteárico es un ácido linolenico conjugado de composición 33 % cis y 66 % trans, por su estructura molecular de 9-cis, 11-trans y 13-trans octadecatrienoico (CLnA, 9c, 11t, 13t-18: 3). Diversos estudios reportan que reduce lípidos séricos, tiene efecto anticolesterolémico y es eficaz en la supresión de crecimiento en células cancerígenas (Aguerebereg et al. 2011; Saha y Ghosh 2009; Sbihi et al. 2014; Tsuzuki y Kawakami 2008).

Esto apoya los beneficios que aporta la oleaginosa, por lo tanto, determinar su estabilidad oxidativa permitirá conocer su vida de anaquel y por medio de la adición de antioxidantes

naturales (aceite *Poliomintha longiflora*) retrasar su oxidación lipídica, incrementando su potencial como alimento funcional, ingrediente nutracéutico y suplemento valioso para la salud (Alveano Aguerrebere et al. 2011).

1.4 Antioxidantes

Los radicales libres se pueden definir como especies con un electrón no apareado. Su reactividad varía de baja, en el caso de moléculas de oxígeno a alta en moléculas hidroxilo (Wettasinghe y Shahidi 2000). Los antioxidantes son moléculas que proporcionan protección contra el ataque oxidativo de radicales libres al donarles un átomo de hidrógeno (Jahanban Esfahlan et al. 2010).

Antioxidantes naturales como flavonoides, taninos, cumarinas, terpenos, xantonos, entre otros, se pueden encuentran en frutas, hojas, semillas y aceites de diversas plantas. En almendras (*P. dulcis*) se han encontrado compuestos polifenólicos como flavonoides en cáscara, piel y semilla (Jahanban Esfahlan et al. 2010; Johnson 2007) .

Los fenoles de almendras (*P. dulcis*) ayudan a inhibir la oxidación inducida por lipoproteínas de baja densidad (LDL), protegen el ADN de radicales peroxilo e hidroxilo y contienen capacidades quelantes. En cáscara y piel de almendra *P. dulcis* se encuentra una mayor cantidad de fenoles (88 ± 2 mg y 71 ± 2 mg equivalente de quercetina/g extracto, respectivamente) en comparación con su semilla (8 ± 1 mg equivalente de quercetina/g extracto). Lo mismo ocurre en otras variedades de *Prunus* como en *P. amygdalus*. Extractos a partir de su cáscara y piel han reportado capacidad antioxidante 10 a 13 veces mayor que en su semilla (Jahanban Esfahlan et al. 2010).

Estudios reportan que la piel del fruto *P. serotina* contiene polifenoles compuestos como flavonoides (cianidina-3-glucósido y cianidina-3-rutinósido) y taninos, los cuales confieren un capacidad antioxidante y antimicrobiana (Jiménez et al. 2011). Sin embargo, no hay estudios que mencionen actividad antioxidante o compuestos fenólicos en la cáscara, semilla o aceite de la almendra (*P. serotina*), lo cual puede ser de gran interés, ya que en el caso de la cáscara, ésta tiende a ser empleada como alimento para ganado, pudiéndosele otorgar un mejor aprovechamiento (Samudra Kumari y Siriwardhana 2001).

1.5 Perfil proteico

García Aguilar et al. (2015) han reportado que la almendra (*P. serotina*) contiene 37.95 ± 0.16 % de proteína y una alta biodisponibilidad por su digestibilidad del 88.12 ± 0.72 %. La relevancia de las proteínas en el aspecto nutricional se debe a la composición de aminoácidos presentes en el alimento, determinando así la calidad de la proteína. En almendra (*P. serotina*) la lisina es el aminoácido limitante.

Existe información incipiente que ha reportado el conjunto proteico en semilla de *P. serotina*. La albumina que lo compone tiene peso molecular entre 65 y 20 kDa, globulina entre 65 y 14 kDa y prolamina y glutelina tienen la misma variante de peso, entre 65 y 12 kDa (Raya Pérez et al. 2012; Sze Tao y Sathe 2000)

Las proteínas modifican propiedades físicoquímicas como: solubilidad, capacidad de retención de agua y aceite, formación de espuma, capacidad emulsionante, viscosidad, gelificación, textura, retención de sabor y aroma en productos alimenticios, entre otros (Sze Tao y Sathe 2000).

Debido a la relevancia de este macronutriente en los alimentos. Es de gran interés analizar las propiedades físicoquímicas de la proteína de almendra *P. serotina*, los cuales, pueden incrementar el campo de aplicación y aprovechamiento (Sze Tao y Sathe 2000).

1.6 Aplicaciones

En base a los compuestos anteriormente mencionados (lípidos, antioxidantes y proteínas), se elaboró una harina, un emulsionante proteico y un carbón activado, con la finalidad de incrementar el aprovechamiento de *Prunus serotina*, dándole un valor agregado.

1.6.1 Producto de panificación

Hoy en día existen diversos problemas de salud relacionados con el ámbito nutricional, ya sea por excesos o déficits nutrimentales. Debido a estos problemas, la industria alimentaria ha incrementado su interés por crear opciones más saludables por medio del enriquecimiento, fortificación o sustitución de ingredientes como alternativas.

Las botanas horneadas, como pan y galletas, son ampliamente aceptadas y consumidas en todas partes del mundo y se han convertido en un objetivo atractivo para los programas de alimentación y mejoramiento del estado nutricional. Especialmente las galletas, debido a que no solo pueden ser un buen vehículo para el enriquecimiento de proteínas para los consumidores, sino que, además tienen una vida de anaquel relativamente larga y pueden ser una mejor opción para el uso de harina compuesta, en comparación con el pan (Ogunsina et al. 2011; Wani et al. 2013).

La implementación de sustitutos o mimetismos de harina de trigo son alternativas deseables para lograr reducir calorías y obtener un perfil nutricional más saludable en su composición (Giarnetti et al. 2015; Swanson y Perry 2007). Leguminosas y oleaginosas como soya, girasol, cebada, semillas de melón, cacahuete, avellanas, nueces, semillas de sésamo, anacardos y almendras, son algunas fuentes alternas de harina (Ogunsina et al. 2011; Wani et al. 2013).

La almendra *P. serotina* presenta un buen contenido proteico de $37.95 \pm 0.16 \%$. Por lo cual el desarrollo de una galleta con harina de almendra *P. serotina* podría ser una alternativa saludable y una opción más para implementar el uso de la almendra, aprovechando los beneficios que este alimento aporta (Alveano Aguerrebere et al. 2011).

1.6.2 Emulsión

Los lípidos poliinsaturados tienen una alta susceptibilidad a la oxidación, lo cual provoca cambios en los atributos de calidad (sabor, textura, vida útil y apariencia) y perfil nutricional en los alimentos. Por ello la incorporación de este tipo de lípidos se había restringido en muchos productos alimenticios, hasta ser reincorporados por medio de emulsiones (Mc Clements y Decker 2000).

Una emulsión está conformada por dos líquidos inmiscibles (aceite y agua) donde uno se encuentra disperso en el otro en forma de pequeñas gotas esféricas y pueden clasificarse en base a la ubicación relativa de las fases de aceite y agua dentro del sistema. Un sistema que contiene gotas de aceite dispersadas en fase acuosa se llama emulsión "aceite en agua"

(O/W) y cuando las de gotas de agua se encuentran dispersas en fase de aceite se llama emulsión "agua en aceite" (W/O) (McClements y Decker 2000; Yih et al. 2014).

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables, donde el agua y el aceite tienden a separarse, debido a la diferencia de densidades entre el agua y aceite, así como por la energía positiva libre necesaria para aumentar el área superficial entre ambas fases; quedando el líquido menos denso (aceite) encima del de mayor densidad (agua) (McClements y Decker 2000; Yih et al. 2014).

Para poder estabilizar las emulsiones durante un periodo razonable, se debe añadir emulsionantes durante el proceso de homogeneización. Los emulsionantes son moléculas de superficie activa, los cuales son adsorbidos fácilmente por las gotas formadas en el sistema. Los emulsionantes se encargan de bajar la tensión en la interfase y crean una capa protectora, previniendo la agregación de las gotas durante la elaboración de la emulsión, su almacenamiento y utilización. Entre los más utilizados en la industria alimentaria, están las proteínas, fosfolípidos y pequeñas moléculas surfactantes (McClements y Decker 2000; Yih et al. 2014).

Actualmente existen diversos emulsionantes sintéticos que ayudan a controlar la oxidación de lípidos. Sin embargo, la demanda de alimentos naturales ha llevado a la industria alimentaria a buscar alternativas más amigables. Por ello se desarrolló una emulsión (aceite en agua) con aceite de canola, azida de sodio como conservador y concentrado de proteína de almendra *P. serotina* (CPPs) para determinar las propiedades físicas y estabilidad del concentrado proteico, en comparación con concentrado de proteína de suero de leche (WPC).

1.6.3 Carbón activado

Los carbones activados son materiales lignocelulósicos con propiedades adsorptivas, los cuales dependen del volumen, área, superficie y funcionalidad química de sus poros. Usualmente presentan una superficie alta y área química extensa, y se implementan con fines médicos, para separación y purificación de gases, catálisis, almacenamiento de gases y purificación de sistemas acuosos (Valente Nabais et al. 2011; Mohan et al. 2011).

Su elaboración puede llevarse a cabo por medio de dos métodos. El proceso físico (activación térmica) comienza con carbonización para deshidratar y desvolatilizar materia prima y finaliza con la activación, donde se expone un oxidante a temperaturas entre 800 y 1100 °C para producir un “quemado selectivo”, que puede ser con oxígeno, aire, CO₂ o vapor de agua. El proceso químico se implementa en materias primas de residuos forestales como madera, cáscara de coco, hueso de aceituna, etc. o carbones minerales, calentándolos con un agente activante deshidratante (ZnCl₂, H₃PO₄, H₂SO₄ o KOH), para formar una pasta que luego es secada en atmósfera inerte entre 100 y 200 °C y carbonizada entre 400 y 900 °C, para posteriormente lavarse con la finalidad de eliminar los restos del agente (Universidad de Sevilla 2009).

Los materiales vegetales más importantes para la producción de carbón activado son carbón, cáscara de coco y madera. Sin embargo, en la búsqueda de otros precursores de bajo costo, también se ha implementado subproductos como madera de eucalipto, sarmientos de vid, cáscara de cacahuete, médula de bonote, cáscara de castaña y frutos secos (Valente Nabais et al. 2011; Mohan et al. 2011).

Por ello, la cáscara de semilla *P. serotina* podría ser implementada como materia prima de bajo costo, para elaboración de carbón activado; dándole un aprovechamiento a este subproducto que usualmente es desechado, por considerarse un residuo sin importancia industrial.

2 JUSTIFICACIÓN

El árbol de Capulín es un recurso que puede encontrarse de manera natural en varios estados de la república. Su cultivo requiere como inversión solo la compra de semillas debido que no requiere fertilizantes y su cosecha es manual. El fruto y semilla de *P. serotina* cuentan con buen mercado, a pesar de esto, son de bajo costo (entre 27.50 y 75 pesos/kg de semilla, dependiendo la temporada) (Páez Reyes et al. 2013).

Lo anterior se debe a que las aplicaciones que se dan actualmente a la *P. serotina* son las mismas aprendidas desde la época colonial (fruto: mermelada, licor y jarabe), las cuales son escasas, especialmente en la semilla. Ésta se consume únicamente como botana al tostarse o cruda para tratamiento de tos, desaprovechando así los beneficios que su composición nutrimental puede ofrecer (García Aguilar et al. 2015).

En su composición destaca el perfil lipídico por el contenido de ácido α -eleostearico, el cual ayuda a suprimir el crecimiento de células cancerígenas (Aguerreberre et al. 2011) y su contenido proteico del 37.95 ± 0.16 % con alta biodisponibilidad y digestibilidad del 88.12 ± 0.72 %, convirtiéndose en una fuente complementaria de proteína (García Aguilar et al. 2015). Además de las antocianinas y polifenoles compuestos presentes en el fruto, que confieren capacidad antioxidante y microbiana (Jiménez et al. 2011).

Por ello el objetivo del proyecto fue desarrollar tres productos a partir de los principales componentes de la almendra *P. serotina* para un aprovechamiento integral, proporcionándole valor agregado, además de contribuir a la innovación de productos en el sector alimentario, mediante el desarrollo de una galleta y emulsión a partir de su harina y concentrado de proteína, respectivamente, y el desarrollo de carbón activado usando como materia prima la cáscara que recubre la almendra, pues ésta es considerada producto de desecho que tiende a ser incinerada o arrojada a la basura por no tener uso industrial importante (Jahanban Esfahlan et al. 2010).

3 HIPÓTESIS

La separación de compuestos bioactivos a partir de la almendra (*Prunus serotina* var. *capuli*) genera productos y subproductos de valor agregado.

4 OBJETIVO DEL TRABAJO

4.1 General

Desarrollar la tecnología para obtener productos y subproductos de almendra (*Prunus serotina* var. capuli) de alto valor agregado.

4.2 Particulares

1. Extracción de aceite de almendra, caracterización fisicoquímica y estabilidad oxidativa.
2. Extracción de compuestos fenólicos y determinación de capacidad antioxidante en cáscara, semilla y aceite.
3. Obtención de concentrado proteico del subproducto de almendra sin aceite, caracterización de sus propiedades funcionales y obtención de emulsión estables.
4. Obtención de harina de almendra para implementarla en panificación y evaluar su composición nutrimental, así como sensorial.
5. Obtención y caracterización del carbón activado obtenido a partir de cáscara de almendra.

5 MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Material Vegetal

La semilla de Capulín (*P. serotina*) se obtuvo del mercado de Xochimilco en Ciudad de México. En una tienda comercial de Monterrey, N.L., se obtuvo almendra (*P. dulcis*), harina de trigo y aceite de canola y maíz. La *Poliomintha longiflora* se recolectó de una cordillera donde convergen los estados de Coahuila, Durango y Zacatecas, bajo las coordenadas 25.2999, -103.1124 norte, 24.9278, -103.1782 sur, 25.277, -103.1215 este y 24.9278, -103.178 oeste. Las fracciones de *P. longiflora* se obtuvieron por la compañía Or-Lag y la corporación internacional Frutech de N.L., México, empleando el método de destilación fraccionada.

5.2 Compuestos químicos y solventes

Los solventes etanol, metanol, acetona, hexano, ácido bórico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico, butanol, ácido acético glacial, isooctano, propanol, trifluoruro de boro, heptano, persulfato de potasio, tiocianato de amonio, cloruro de bario y sulfato ferroso anhidro fueron grado analítico de reactivos JT Baker, México. Los reactivos Folin Ciocalteus, ácido gálico, hidrato de catequina, 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), 2,2-difenil-1-picrilhidazil, trolox, 1,1,3,3-tetraetoxipropano, ácido tiobarbitúrico e hidroperóxido de cumeno se obtuvieron de Sigma Aldrich. El concentrado de suero de leche (WPC, MB Pro-mix, 80 %) fue grado alimenticio de Marquez Bros, International, Inc., Hanford, CA. Y del Departamento de Especialidades Químicas (DEQ), N.L. se adquirió cloruro de sodio, hidróxido de sodio, azida de sodio, carbonato de sodio, tartrato de sodio, sulfato de cobre y el carbón activado.

5.3 Análisis lipídico de semilla *P. serotina*

A partir de la semilla de almendra *P. serotina* se extrajo aceite por prensado manual en frío para su posterior análisis. El aceite se caracterizó fisicoquímicamente mediante los análisis de densidad, índice de refracción, composición de ácidos grasos y determinación

de oxidación lipídica. Los análisis realizados se describen a continuación del punto 5.3.1.1 a 5.3.1.5.

5.3.1 Extracción de aceite

Las semillas de almendra Capulín se obtuvieron al quebrar el hueso por medio de un exprimidor metálico de limones previamente esterilizado para obtener almendras de su interior. Una vez recolectadas las semillas se guardaron en bolsa hermética y se mantuvieron -20 °C hasta su uso.

El aceite fue obtenido por prensado en frío, usando prensa manual (Henan Wecare Industry Co. Ltd, China). En el contenedor de alimentación del equipo se colocó 100 g de semilla. Se giró la manija para dar inicio al proceso de molienda y prensado a través del tornillo helicoidal.

Al finalizar la molienda de semilla se obtuvo dos fracciones: aceite y almendras molidas (pelets de pasta) como subproductos. El rendimiento del aceite se determinó por medio de la siguiente formula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Peso del aceite (g)}}{\text{Peso de semilla (g)}} * 100$$

Bajo el mismo procedimiento de extracción por prensado se obtuvo el aceite de almendra *P. dulcis* (control). Los aceites *P. serotina* y *P. dulcis* se colocaron en frascos ámbar (por separado) y los subproductos de ambas almendras se guardaron en bolsas herméticas. Las muestras se conservaron a -20 °C para su análisis posterior.

5.3.1.1 Densidad

Por medio de un picnómetro de vidrio (Brand GMBH +CO KG, Postfach, Wertheim, Alemania) de 10 mL, se determinó la densidad del aceite de Capulín. Para ello se obtuvo el peso constante del picnómetro. Posteriormente se llenó el picnómetro con aceite de *P. serotina* hasta aforar, se colocó la tapa y se verificó que saliera una gota por la tapa para

asegurar el completo llenado de este. Se tomó el peso del picnómetro con el aceite y se suplieron los datos en la siguiente fórmula para conocer el peso del aceite:

$$P.m. (g) = [(P.p.a. (g) - P.h.p. (g)) - P.c.p. (g)]$$

Donde P.m. es peso muestra, P.p.a. es peso de picnómetro con aceite, P.h.p. es peso húmedo de picnómetro y P.c.p. es peso constante del picnómetro.

Una vez conocido el peso del aceite, se sustituyó el valor en la siguiente fórmula para determinar la densidad:

$$Densidad \left(\frac{g}{cm^3} \right) = P.muestra (g) / 10.008$$

Las mediciones se realizaron por triplicado. La densidad final se obtuvo del promedio de los tres valores obtenidos.

5.3.1.2 Índice de refracción

El índice de refracción se rige por la ley de Snell, su determinación se ve influenciada por temperatura y longitud de onda de la luz emitida. Es una propiedad constante y permite determinar la pureza de una sustancia (Szigety et al. 2009). Por medio de un refractómetro Anton Paar (Abbemat 300, Austria) se determinó el índice de refracción. El equipo fue calibrado con agua destilada. En el lente del refractómetro se colocaron dos gotas de aceite de Capulín para determinar el índice de refracción. La medición se realizó por triplicado.

5.3.1.3 Análisis de ácidos grasos

El aceite obtenido por prensado de almendras *P. serotina* fue analizado para determinar su composición de ácidos grasos, saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, por cromatografía de gases (CG), conforme lo indica la norma NMX-F-490-1999-NORMEX. –Alimentos-aceites-grasas. Los resultados se compararon con los obtenidos del aceite de almendra *P. dulcis*.

El método consistió en analizar los ésteres metílicos de los ácidos grasos. Los ácidos grasos se saponificaron, y luego se agregó trifluoruro de boro. Se añadió n-heptano, y se

mezcló con cloruro de sodio obteniéndose dos fases. La fase orgánica se separó y se mezcló con sulfato de sodio anhidro. Ambas muestras se disolvieron en proporción 1:100 n- heptano, y se inyectó 1 mL de cada muestra en el CG con detector de ionización de llama (Agilent Technologies, 7890A (CG)/7693 (ALS), CA, EUA). El análisis se realizó a temperatura inicial de 100 °C y fue programado para llegar a 160 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C min⁻¹, se utilizó una rampa con temperatura inicial de 220 °C, manteniéndose 5 min con velocidad de calentamiento de 5 °C min⁻¹ y posteriormente fue aumentó 10 °C min⁻¹ hasta alcanzar 260 °C. Las temperaturas del inyector y detector fueron de 260 °C y 280 °C, respectivamente.

Se utilizó helio como gas acarreador a velocidad de flujo de 1 mL min⁻¹ con relación de división (split) de 30:1. Los resultados, se reportaron como porcentajes relativos de cada ácido graso, considerando que el área total bajo las elevaciones de la gráfica representa el cien por ciento. Las elevaciones de la gráfica se identificaron con estándares internos y externos (aceite de Tung, Sigma-Aldrich).

5.3.1.4 Extracción de fracciones *Poliomintha longiflora*

El aceite esencial *Poliomintha longiflora* (*P. longiflora*) y sus fracciones concentradas (2.5X y 10X) se obtuvieron por arrastre de vapor, a través de un sistema de destilación fraccionada con columna de destilación equivalente a 20 placas utilizando un vacío de 5 Torr. El rango de temperatura de destilación fue de 82 a 140 °C. El periodo de recolección entre cada fracción fue de 20 min aproximadamente.

El aceite y las fracciones de *P. longiflora* se analizaron por la metodología propuesta por Rostro Alanis et al. (2019) con modificaciones. La CG se realizó en columna capilar HP-5 MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm). La temperatura de inyección fue 200 °C. El horno se mantuvo a 70 °C durante 5 min y se elevó a 200 °C a velocidad de 10 °C/min (manteniéndose 2 min), y finalmente llegó a 300 °C a velocidad de 5 °C/min. Se usó helio como gas acarreador a velocidad de flujo de 1 mL/min, con tamaño de muestra de 1 µL. Los parámetros para el análisis MS 5973N fueron: ionización electrónica de 70 eV, temperatura de cuadrupolos 150 °C, temperatura de interfase 230 °C, m/z = 30-400 amu.

La identificación de los compuestos se realizó comparando sus espectros de masa con los de la biblioteca Wiley 7 n.L., considerando una coincidencia de calidad a $> 95 \%$.

5.3.1.5 Oxidación de lípidos

La formación de hidroperóxidos en aceite de *P. serotina*, se evaluó a través de dos métodos espectrofotométricos. Uno a través de cuantificación de peróxidos, que son productos primarios de oxidación por método Shantha y Decker (1994) y otro a través de formación de malondialdehídos (MDA), que son productos secundarios de oxidación, en base al método TBARS conforme lo describe Papastergiadis et al. (2012). Se usó el aceite de *P. dulcis* extraído por prensado como control. Los análisis se realizaron cada tercer día durante un mes.

Una vez obtenidos los resultados de oxidación del aceite *P. serotina* se agregaron (por separado) tres fracciones de aceite de orégano (*Poliomintha longiflora*), cada una bajo las mismas cuatro concentraciones (3000, 300, 30 y 3 ppm). Las fracciones se etiquetaron con el nombre de aceite esencial, concentrado 2.5X y concentrado 10X. Todas las muestras se colocaron en frascos ámbar (7 mL) y se almacenaron a temperatura ambiente ($25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) durante todo el periodo de estudio, para determinar el efecto antioxidante.

5.3.1.5.1 Cuantificación de peróxidos

A 100 μL de aceite *P. serotina* se adicionaron 1.5 mL de la mezcla isooctano/2-propanol (3:1 v/v), la muestra se agitó en vortex durante 10 min. De lo anterior se tomó 200 μL y se mezcló con 2.8 mL de metanol/butanol (2:1, v/v), seguido de 15 μL de tiocianato de amonio 3.94 M y 15 μL de solución de iones de hierro (relación 1:1 de BaCl_2 0.132 M y FeSO_4 0.144 M). La solución se agitó suavemente y después de 20 min se midió la absorbancia a 510 nm en espectrofotómetro (UV visible-Genesys 5, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA). La concentración de hidroperóxidos se calculó a partir de una curva estándar de hidroperóxido de cumeno (0.84 a 13.04 μM). Las concentraciones se expresaron como μmol equivalente de hidroperóxido de cumeno/kg de aceite (μM eq HC/kg) (Yih et al. 2014). El aceite de *P. dulcis* se utilizó como control.

5.3.1.5.2 Cuantificación de malondialdehídos

Se preparó un extracto de la muestra de aceite, mezclando 1 g de aceite con 5 mL de agua destilada, se agitó por 2 min en vortex y posteriormente fue centrifugada (Hermle Z326, Labortechnik GmbH, Wehingen, Alemania) a 5000 rpm durante 5 min. Este proceso se repitió tres veces y se juntaron todos los sobrenadantes.

En un tubo de prueba de vidrio se colocó 2.5 mL del sobrenadante resultante con 2.5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 46 mM (en ácido acético glacial al 99%) y se llevó a ebullición en plancha de calentamiento por 35 min. Inmediatamente después fue enfriado con hielos. Finalmente, el producto de reacción fue cuantificado a través de la absorbancia con longitud de onda de 532 nm en espectrofotómetro (UV visible-Genesys 5, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA). Las concentraciones se determinaron utilizando curva estándar de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) (0.2 a 10 μ M). Los resultados se expresaron como μ mol equivalente de TEP/kg de aceite (μ M eq TEP/kg) (Papastergiadis et al. 2012). El aceite de *P. dulcis* se utilizó como control. En ambos métodos de cuantificación de hidroperóxidos, los procedimientos se llevaron a cabo por triplicado.

5.4 Capacidad antioxidante de almendra *P. serotina*

Los principales componentes de la almendra (cáscara, semilla y aceite), se mezclaron con 4 solventes diferentes (etanol 96%, metanol 96%, acetona 96% y agua destilada pH 4) como lo menciona Pinelo et al. (2004), para determinar el solvente que extrajo mayor cantidad de compuestos fenólicos e identificar en que parte de la almendra obtuvo más de estos compuestos y posteriormente evaluar su capacidad antioxidante *in vitro*.

5.4.1 Preparación de muestras (aceite, cáscara y semilla)

Para la extracción de los compuestos antioxidantes, se mezcló 1 g de aceite de *P. serotina* con 5 mL de solvente (etanol 96%, metanol 96%, acetona 96% y agua destilada acidificada pH 4) en vortex por 4 min y posteriormente fue centrifugado (Hermle Z326, Labortechnik

GmbH, Wehingen, Alemania) a 3 000 rpm durante 5 min. Una vez precipitada la muestra el sobrenadante fue recolectado para su posterior análisis. (Bail et al. 2008).

En el caso de la cáscara y semilla (los pelets de pasta), ambos fueron sometidos a un proceso de molienda en procesador de alimentos (NutriBullet, USA). Enseguida pasaron a baño de agua (50 °C) por 90 min con agitación magnética, donde cada muestra se mezcló relación 1:5, p/v con el solvente (etanol 96%, metanol 96%, acetona 96% y agua destilada acidificada pH 4). Los sólidos se separaron por centrifugado (Hermle Z326, Labortechnik GmbH, Wehingen, Alemania) a 8 600 rpm durante 5 min. Una vez precipitadas las muestras, se recolecto cada sobrenadante para su posterior análisis (Samudra Kumari y Siriwardhana 2001).

5.4.1.1 Determinación de compuestos fenólicos totales

El contenido de fenoles totales se determinó en base a Gutiérrez Avella et al. (2008) con algunas modificaciones, usando el método colorimétrico Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton y Rossi (1965). Se mezcló 1 000 µL de extracto de muestra con 100 µL de reactivo Folin-Ciocalteu 1 N y se dejó reposar no más de 5 min, enseguida se añadió 300 µL de carbonato de sodio 20 %, se llevó a volumen final de 2700 µL con agua destilada y se agitó brevemente. Después de 90 min de reposo se midió la absorbancia a 765 nm en espectrofotómetro (UV visible-Genesys 5, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) a oscuras a 25 ± 2 °C. Se llevó a cabo el mismo proceso con cada extracto de los principales componentes del Capulín (aceite, cáscara y semilla). El ácido gálico se empleó como curva estándar (0 a 5.3 mg/L). El contenido fenólico se expresó como mg equivalentes de ácido gálico/kg de extracto (mg EAG/kg). El análisis se realizó por triplicado (Marina et al. 2008).

El rendimiento de solvente se determinó por medio de la siguiente formula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Volumen de solvente al finalizar el análisis (mL)}}{\text{Volumen inicial de solvente (mL)}} * 100$$

5.4.1.2 Determinación de flavonoides totales

Los flavonoides totales fueron analizados por el método colorimétrico reportado por Jahanban Esfahlan et al. (2010) con algunas modificaciones, basado en Jia et al. (1999). En una celda de vidrio se mezcló 250 μL de extracto de muestra con 1 525 μL de agua destilada, enseguida se añadió 75 μL de NaNO_2 5%, 5 min después se añadió 150 μL de AlCl_3 10% y finalmente 500 μL de NaOH 1 M después de 5 min. Se midió la absorbancia (antes de 30 min) en espectrofotómetro (UV visible-Genesys 5, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) a 510 nm. Como curva estándar se utilizó catequinas (1.6 a 16 mg/L). El mismo proceso se llevó a cabo con cada extracto de los principales componentes del Capulín (aceite, cáscara y semilla). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de catequina/kg de extracto (mg EC/kg). El análisis se llevó a cabo por triplicado.

5.4.1.3 Actividad antioxidante con ABTS

Para la determinación de actividad antioxidante se realizaron dos métodos colorimétricos. El primer análisis se realizó en base a Fernandes et al. (2013) con algunas modificaciones, quien tomó como guía el método de Re et al. (1999). Se empleó el reactivo ABTS o 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico). El radical ABTS se preparó mezclando persulfato de potasio (2.45 mM) y ABTS (7 mM) relación 1:1, v/v, en un frasco ámbar, dejándolo reposar 16 horas y protegido de la luz. El radical fue diluido a absorbancia 0.700 ± 0.05 . Para ello, 200 μL del radical ABTS se mezclaron con 10 mL de etanol 96 %, tomando lectura a 734 nm en espectrofotómetro (UV visible-Genesys 5, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA). El Trolox se empleó como curva estándar (25-505 μmol).

Una vez ajustada la densidad óptica, se usó 100 μL del extracto de muestra y se combinó con 2 000 μL del radical ABTS. Se agitó la mezcla para homogenizar y se midió absorbancia en espectrofotómetro (UV visible-Genesys 5, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) a 734 nm a los 7 min. Los resultados se expresaron como μmol equivalente de Trolox/g muestra (μM eq Trolox/g muestra). El análisis se realizó por triplicado (Pinheiro et al. 2009).

5.4.1.4 Actividad antioxidante con DPPH

Para corroborar la actividad antioxidante e inhibición de radicales de los compuestos fenólicos previamente extraídos, se realizó un segundo análisis colorimétrico conforme Moosavi Dolatabadi et al. (2015) basado en el método de Brand-Wiliamset et al. (1995), con el reactivo DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil). Se preparó radical DPPH diluyendo DPPH 0.1 mM con etanol 96 % hasta obtener absorbancia de 1.000 a 517 nm. El Trolox se empleó como curva estándar (25-505 μ mol).

Un volumen de 2 000 μ L del radical DPPH se mezcló con 50 μ L del extracto de muestra. Se dejó reposar 30 min a 25 ± 2 °C en la obscuridad y posteriormente se midió la absorbancia en espectrofotómetro (UV visible-Genesys 5, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) a 517 nm. Los resultados se expresaron como μ mol equivalente de Trolox/g muestra (μ M eq Trolox/g muestra). El análisis se realizó por triplicado (Pinheiro et al. 2009).

5.5 Harina de almendra

Con la finalidad de cumplir más adelante con el objetivo particular tres, se elaboraron tres variaciones de harina a partir de semilla *P. serotina*. Las harinas fueron sometidas análisis físicos y químicos (tamaño de partícula, composición proximal, propiedades funcionales e identificación de proteínas solubles) para su caracterización. Los análisis realizados se describen a continuación del punto 5.5.1.1 a 5.5.1.4.

5.5.1 Elaboración de harina

Tres variaciones de harina de semilla *P. serotina* fueron desarrolladas: Harina con aceite y piel, harina con aceite sin piel y harina sin aceite con piel. Estas harinas se compararon con dos variaciones de harina de *P. dulcis*: Harina con aceite y piel y harina con aceite sin piel.

El proceso de elaboración de las harinas con aceite y piel de consistió en moler las semillas en procesador de alimentos (NutriBullet, USA) y tamizaje en malla No. 50. Las muestras se almacenaron a -20 °C hasta su uso (Sze Tao y Sathe 2000).

En el caso de las harinas con aceite sin piel se sometieron las almendras a proceso de blanqueo, que consistió en sumergir en agua caliente (90 °C) durante 5 min a las almendras para remover la piel, seguido de escurrido durante 7 min y secado a temperatura ambiente (25 ± 2 °C). Una vez secas, se molieron en procesador de alimentos (NutriBullet, USA) y se tamizaron a través de malla No. 50. Las harinas se almacenaron a -20 °C hasta su uso (Sze Tao y Sathe 2000).

Y para la harina sin aceite con piel se utilizó el subproducto pelet de pasta, proveniente de la extracción de aceite de almendra *P. serotina*. El aceite del pelet se eliminó por agitación magnética constante con hexano (1:5, p/v) durante 1 h. Enseguida se lavó y filtró con papel Whatman No.4. Se secó en extractor de campana durante 6 h. Finalmente se colocó en procesador de alimentos (NutriBullet, USA) para su molienda y fue tamizado en malla No. 50. Se almacenó a - 20 °C hasta su uso (Sze Tao y Sathe 2000).

La harina sin aceite con piel de *P. serotina* sirvió de base para más adelante obtener un concentrado de proteína.

El rendimiento de las harinas se determinó por medio de la siguiente formula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Peso de harina (g)}}{\text{Peso de semilla (g)}} * 100$$

5.5.1.1 Tamaño de partícula

El tamaño de partícula de las harinas fue analizado usando metodología de Khor et al. (2014), con algunas modificaciones. Las muestras de harina se midieron en equipo Malver Mastersizer 3000 Hydro Ev (Malvern Instruments, Ltd, Worcestershire, UK) usando unidad líquida. El tamaño de partícula se evaluó a través del diámetro promedio volumen-peso (D_{4,3}) a 25 ± 2 °C como lo reporta Belorio et al. (2019). Las propiedades ópticas de las muestras se definieron como índice de refracción 1.37, alcohol isopropílico como dispersante y absorción de 0.1. Las mediciones se hicieron por quintuplicado y los resultados se reportaron como medias ± desviación estándar. Se usó harina comercial de trigo (*Triticum spp*) como control. Los tamaños de las partículas se expresaron en µm.

5.5.1.2 Composición proximal

Una vez elaboradas las harinas se analizaron y compararon los componentes nutrimentales de las variaciones de harina *P. serotina* con la versión de harina con aceite y piel de *P. dulcis* (control), conforme los métodos establecidos en las normas mexicanas para determinar humedad, ceniza, extracto etéreo, proteína bruta y fibra total. Cada análisis se realizó por triplicado y se registraron los datos como promedios \pm desviación estándar.

5.5.1.2.1 Determinación de humedad

Se determinó por diferencia de peso. En charola de aluminio previamente tarada se colocó 1 g de muestra. Se introdujo en estufa de convección de aire a temperatura de 70 °C durante toda una noche (12 h) y posteriormente fue pesada hasta peso constante (Alveano Aguerrebere 2010).

Para los cálculos se emplearon las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ Materia seca} = \frac{(\text{Peso de charola seca} + \text{muestra seca}) - \text{Peso charola seca}}{\text{Peso de muestra húmeda}} * 100$$

$$\% \text{ Humedad} = 100 - \% \text{ materia seca}$$

5.5.1.2.2 Determinación de cenizas

Tomando como guía la Norma Mexicana NMX-F-607-NORMEX (2013), la cuantificación de cenizas se hizo por diferencia de peso. En crisoles de porcelana previamente tarados se pesó 1 g de muestra, ésta se carbonizó con mechero y calcinó en mufla a 550 °C durante toda la noche. Posteriormente se dejó enfriar 1 h en estufa de convección de aire a 70 °C y se colocó en desecador hasta alcanzar temperatura ambiente (25 ± 2 °C) y peso constante (Alveano Aguerrebere 2010).

Se empleó la siguiente fórmula para la cuantificación:

$$\% \text{ Ceniza} = \frac{(\text{Peso del crisol} + \text{cenizas}) - \text{peso del crisol seco}}{\text{Peso de muestra seca}} * 100$$

5.5.1.2.3 Determinación de extracto etéreo

Para la determinación de extracto etéreo se utilizó la técnica establecida por la Norma Mexicana NMX-F-615-NORMEX (2004), cambiando el uso de aparato Soxhlet por Goldfish. Vasos Berzelius fueron previamente tarados. Dentro de un dedal se colocó 2 g de muestra envuelto en papel y se situó en porta dedal. En el vaso se colocó 40 mL de éter etílico y ambos se pusieron en el aparato Goldfish. Se dejó circular agua por los refrigerantes, se encendió la parrilla y a una vez que dio inicio el reflujo del solvente se contó 4 h. Al finalizar el tiempo, se dejó enfriar, se retiró el dedal y se puso en su lugar un tubo recuperador. Una vez que se evaporó el éter, se retiró el vaso, se dejó enfriar y se colocó en estufa de convección (70 °C) toda la noche. Finalmente se pasó al desecador y se tomó peso.

El contenido total de extracto etéreo se determinó utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Extracto etéreo} = \frac{(P. \text{ vaso} + \text{ extracto etéreo}) - P. \text{ vaso tarado}}{\text{Peso de la muestra}} * 100$$

5.5.1.2.4 Determinación de proteína

Para la cuantificación de proteína cruda se empleó la Norma Mexicana NMX-F-608-NORMEX (2011). En papel libre de nitrógeno se colocó 1 g de muestra sin aceite. En matraz Kjeldahl se colocó 1 g de CuSO₄, 10 g de K₂SO₄, 25 mL de ácido sulfúrico, 6 perlas de vidrio y el papel con muestra. El matraz se calentó 1 h o hasta que se obtuvo un cambio de color a verde claro. Se dejó enfriar y posteriormente se añadió al matraz 250 mL de agua destilada, 100 mL de NaOH 40 % y 4 lentejas de zinc. El matraz se colocó en destilador sobre la hornilla y se abrió paso al condensador. En matraz Erlenmeyer se añadió 100 mL de ácido bórico 4 % y 6 gotas de indicador mixto. Se destiló hasta recolectar 150 mL.

El destilado se tituló con HCl 0.1 N estandarizado previamente hasta el primer vire (Alveano Aguerrebere 2010).

El contenido de nitrógeno total se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{\text{ml de HCl gastados} * \text{Factor del HCl}}{\text{Peso de la muestra}}$$

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} * \text{Factor de conversión}$$

El factor de conversión indicado por la FAO para almendras es de 5.18

5.5.1.2.5 Determinación de fibra cruda

Se empleó la técnica mencionada en la Norma Mexicana NMX-F-616-NORMEX (2017) con algunas modificaciones. La harina previamente desgrasada (1 g) se depositó en vaso Berzelius junto con 0.5 g de asbesto tratado y 200 mL de ácido sulfúrico 0.255 N. Se colocó en parrilla del digestor LABCONCO (asegurando la circulación del agua por el refrigerante) y se digirió por 30 min. Posteriormente se quitó de parrilla y se filtró por malla de acero, donde se lavó con agua caliente (50 – 100 mL) hasta eliminar la acidez de la muestra. El remanente se volvió a colocar en vaso Berzelius y se agregó 200 mL de hidróxido de sodio 0.313 N para su segunda digestión. Se dejó hervir 30 min, se filtró y lavo con agua caliente en malla de acero. Posteriormente, la muestra se transfirió a crisol y se colocó en estufa de aire a 100 °C hasta peso constante. Finalmente, el crisol se pasó a mufla a 600 °C por 2 h y al desecador para dejar enfriar y tomar peso constante (Alveano Aguerrebere 2010).

El contenido de fibra se determinó utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Fibra cruda} = \left[\frac{(P. m. s. c. - P. m. c.) - (P. a. s. c - P. a. c)}{\text{Peso muestra}} \right] * 100$$

Donde P.m.s.c. es peso de muestra sin calcinar, P.m.c. es peso de muestra calcinada, P.a.s.c. es peso de asbesto sin calcinar y P.a.c. es peso de asbesto calcinado.

5.5.1.2.6 Contenido de extracto libre de nitrógeno

El extracto libre de nitrógeno (ELN) considerado también como hidratos de carbono se obtuvo por diferencia a partir de la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned} \% \text{ ELN} \\ = [100 - (\% \text{ ceniza} + \% \text{ proteína} + \% \text{ Extracto etéreo} + \% \text{ Fibra cruda})] \end{aligned}$$

5.5.1.2.7 Cuantificación calórica

La cantidad de energía se declaró conforme lo indica la NOM-051-SCFI-SSA1(2010) en etiquetas de alimentos y bebidas no alcohólicas, por medio de la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned} & \text{Valor calórico (Kcal /100 g)} \\ & = [\text{Lípidos (g)} * 9] + [\text{Proteína (g)} * 4] + [\text{Hidratos de carbono (g)} * 4] \end{aligned}$$

5.5.1.3 Propiedades funcionales

Todas las pruebas de propiedades funcionales descritas a continuación se llevaron a cabo conforme la metodología realizada por García et al. (2012). Las pruebas se realizaron en las tres variedades de harina de *P. serotina* y se compararon con las de *P. dulcis* y harina de trigo (*Triticum spp.*) comercial. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

5.5.1.3.1.1 Capacidad de absorción de agua

Se adiciono en tubo de centrifuga de polipropileno dos gramos de harina y 20 mL de agua destilada. Se ajustó pH a 7 a 25 ± 2 °C y se agitó en vortex 1 min. Enseguida se centrifugó (Hermle Z326, Labortechnik GmbH, Wehingen, Alemania) a 3 000 g por 30 min. Posteriormente se decantó cuidadosamente el sobrenadante. Y finalmente se pesó la muestra de harina. El agua absorbida se expresó como gramos de agua retenida/gramo de muestra (g/g).

5.5.1.3.1.2 Capacidad de absorción de grasa

El procedimiento experimental realizado fue idéntico al efectuado para determinar capacidad de absorción de agua, descrito anteriormente, con la diferencia que se utilizó aceite de maíz en lugar de agua. Los resultados se expresaron como gramos de aceite retenido/gramo de muestra (g/g).

5.5.1.3.1.3 Capacidad emulsionante

Durante un periodo de 15 min un gramo de harina se agitó en vortex con 20 mL de agua destilada, para posteriormente ajustarse a pH 7. Se completó con agua destilada a volumen de 25 mL. La mezcla se agitó en homogeneizador (EURO-ST 60 D S001, IKA, Wilmington, NC, USA), y al mismo tiempo se adicionó desde una bureta aceite de maíz a velocidad constante de 3 000 rpm hasta que se observó una separación de fases. Se midió los mililitros agregados hasta la ruptura de la emulsión. La capacidad emulsionante se expresó en términos de porcentaje (%), como altura de la capa emulsificada con respecto al total del líquido.

5.5.1.3.1.4 Capacidad gelificante

Se prepararon soluciones acuosas al 4, 6, 8, 10, 12, 16, 18 y 20 % (p/v) de harina en volumen de 10 mL con agua destilada. Los tubos se calentaron durante 1 h en baño de agua hirviendo, seguido de enfriamiento rápido por inmersión en agua fría durante una hora. Transcurrido este tiempo se colocaron en posición invertida para determinar cualitativamente en cual(es) se derramaba.

La mínima concentración a la cual no se derramó el contenido del tubo se tomó como capacidad de gelificación mínima de la harina.

5.5.1.3.1.5 Capacidad hinchamiento

En cilindro graduado se pesó 100 mg de harina y se midió su volumen inicial, se añadió agua destilada hasta aforar a 10 mL y se agitó suavemente para dispersar la muestra. Se dejó reposar la harina 16 h para su hidratación y por último se midió el volumen final que ocupó la muestra. Los resultados se expresaron en mililitros/g muestra (mL/g).

5.5.1.3.1.6 Capacidad espumante

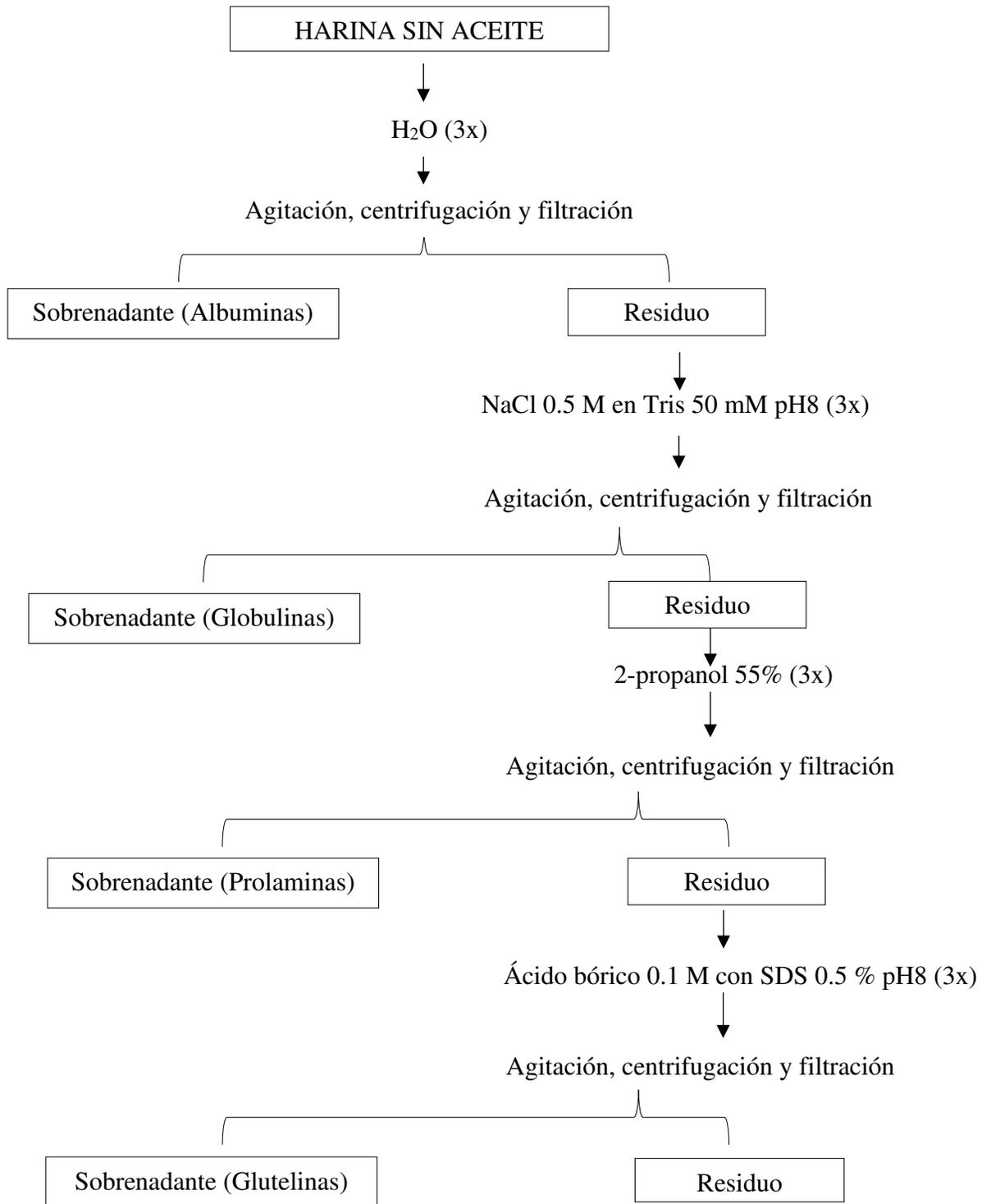
En licuadora Osterizer se mezcló 2 g de muestra con agua destilada durante 3 min. La espuma resultante se transfirió a un cilindro graduado de 100 mL para medir el volumen de espuma inicial. La estabilidad de la espuma se midió en intervalos de tiempo de 30 seg,

5, 10, 15, 30, 60 y 120 min. Los resultados se expresaron como porcentaje de aumento en volumen (%).

5.5.1.4 Extracción de proteínas solubles

Las proteínas solubles fueron extraídas de manera secuencial a partir de la harina sin aceite *P. serotina* con piel de acuerdo con el procedimiento descrito por Ramírez Pimentel et al. (2016) y Raya Pérez et al. (2012), ilustrado en la Figura 1. Los solventes empleados para obtener proteínas solubles fueron: Agua destilada (albúminas), solución de NaCl 0.5 M en Tris 50 mM pH 8 (globulinas), 2-propanol 55 % v/v (prolaminas) y ácido bórico 0.1 M con SDS 0.5 % pH 8 (glutelinas).

En tubos de centrifuga de 30 mL se colocó una mezcla de harina:solvente en relación 1:10 (p/v). Los tubos se agitaron durante 1 h a 25 °C. Los extractos fueron centrifugados a 13 000 g a 25 ± 2 °C por 20 min y los sobrenadantes filtrados (Whatman, No. 4). La extracción con cada solvente fue repetida sobre la misma muestra de manera secuencial. Se combinó los tres sobrenadantes obtenidos de las tres extracciones realizadas con el mismo solvente.



3x indica que la extracción se realizó tres veces

Figura 1. Procedimiento para obtener proteínas solubles a partir de harina *P. serotina*.

5.5.1.4.1 Peso molecular de proteínas solubles

Para determinar el peso molecular de las proteínas solubles previamente obtenidas, se llevó a cabo un análisis de electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) conforme Syros et al. (2003) con algunas modificaciones basadas en laboratorios Bio-Rad. Se montaron dos placas de vidrio en la cámara de electroforesis, fijándolas con espaciadores de plástico para después colocar gel de poliacrilamida (4-20 %) con peine de 10 pocillos (Mini-PROTEAN TGX, Precast Gels, Bio-Rad Laboratories, Inc., USA)

En rieles del gel se colocaron 20 μ L de cada extracción de proteína soluble bajo las siguientes concentraciones: albumina 0.985 mg/mL, globulina 1.39 mg/mL, prolamina 1.34 mg/mL y glutelina 1.26 mg/mL. Las extracciones se colocaron con pipeta en cada uno de los carriles y se adicionó agua destilada para evitar contacto con el aire.

Tras la electroforesis, el gel se sumergió completamente en solución de fijación y se lavó tres veces durante 10 min en agua destilada. Enseguida, el gel se sumergió en solución de teñido con azul de Coomassie (g-250) y se destiñó con ayuda de agitador y varios cambios de agua destilada hasta que las bandas se evidenciaron claramente.

5.5.2 Concentrado y análisis de proteína de almendra

Una vez obtenida la harina sin aceite de *P. serotina*, se sometió a diferentes procedimientos para obtener un concentrado de proteína. Posteriormente se determinó sus propiedades funcionales y se implementó como emulsionante en emulsiones aceite en agua.

5.5.2.1 Determinación de punto isoeléctrico

El punto isoeléctrico (pI) de las proteínas de semilla *P. serotina* fueron identificadas de acuerdo con la determinación teórica de proteínas y otras macromoléculas, a través del potencial zeta (potencial ζ) que es la caracterización más directa de la resistencia de repulsión o atracción entre sus residuos ácido-base (Sillero y Maldonado 2006; Feng et al. 2019). Para ello, en tubos de ensayo se colocaron mezclas de harina sin aceite de *P. serotina*:agua en relación 1:20 (p/v) a diferentes pH con NaOH 1 N y HCl 0.1 N. Los

tubos fueron agitados por dos minutos en vortex. Se empleó equipo de dispersión de luz Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Worcestershire, Inglaterra, Reino Unido). Las lecturas se llevaron a cabo en modo automático utilizando una celda de inmersión universal (ZEN 1002, Malvern Instrument, Worcestershire, UK) a 25 °C. Los resultados se reportaron como el promedio de tres inyecciones separadas, con tres lecturas por inyección. Los promedios de los valores triplicados fueron utilizados como valores de respuesta para la conductividad.

5.5.2.2 Obtención de concentrado proteico

Para la obtención de concentrado proteico de harina de almendra *P. serotina* (CPPs) se tomó como base los resultados obtenidos previamente del análisis de potencial ζ . Se hicieron variaciones del procedimiento para determinar aquel que diera valores de concentrado proteico ($\geq 80\%$ y $\leq 90\%$) y que fuera repetible el proceso. En todos los procesos se comenzó mezclando la harina sin aceite de *P. serotina* con agua destilada a pH 11 con NaOH 0.1 N (25 ± 2 °C) relación 1:20 (p/v) durante 1 h en vortex. Luego la muestra se aisló por centrifugación (Hermle Z326, Labortechnik GmbH, Wehingen, Alemania) a 13 000 g por 30 min temperatura ambiente (25 ± 2 °C) y se filtró con papel Whatman No. 4 para obtener dos fracciones (residuo y sobrenadante).

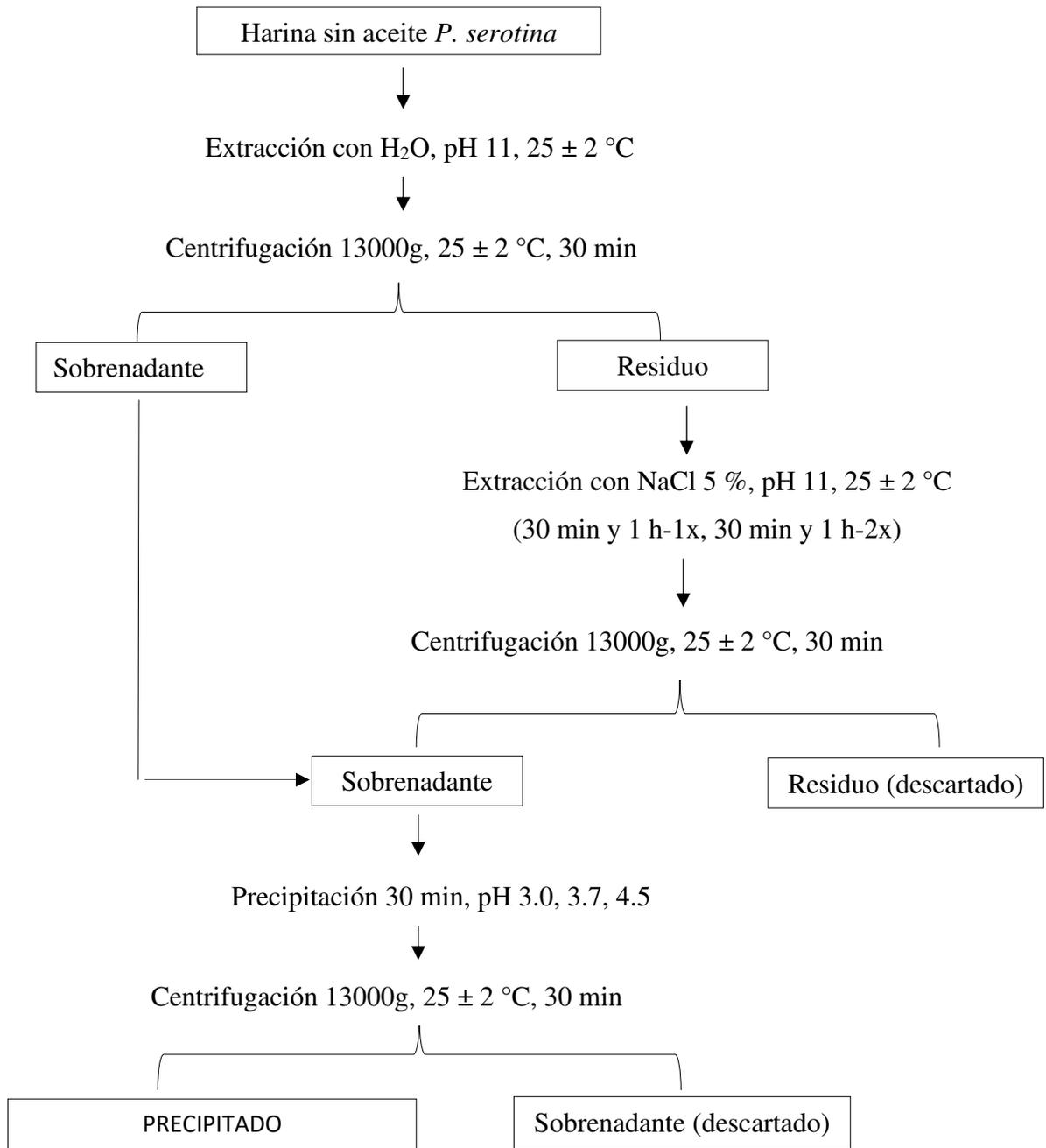
En la primera variación, se llevaron a cabo hasta dos extracciones del residuo obtenido en la primera parte del proceso con NaCl 5 % (1:20, p/v), así como dos tiempos de extracción (30 min y 1 h) en vortex a 25 °C, seguido de centrifugado (Hermle Z326, Labortechnik GmbH, Wehingen, Alemania) a 13 000 g por 30 min y se filtró con papel Whatman No.4, obteniendo nuevamente dos fracciones. El residuo fue analizado por el método de Kjeldahl (NMX-F-608-NORMEX 2011) para asegurar la menor pérdida de proteínas en el proceso. El sobrenadante resultante se combinó con el sobrenadante obtenido en la primera parte, y posteriormente se acidificó con HCl para recuperar la proteína solubilizada como lo muestra la Figura 2. El precipitado se almacenó a -20 °C hasta su uso. El pH para la acidificación fue 3.0, 3.7 y 4.5.

En la segunda variación, el residuo de la primera parte se desechó automáticamente y el sobrenadante se acidificó con HCl, dejándose reposar 30 min. Finalmente se centrifugó y

filtro bajo las condiciones anteriores. El precipitado se recolectó y almacenó a – 20 °C hasta su uso. Los pH ácidos fueron 3.0, 3.7 y 4.5, como lo muestra la Figura 3.

Todos los precipitados finales se analizaron de acuerdo con el análisis proximal por el método de Kjeldahl basado en la norma NMX-F-608-NORMEX (2011). El rendimiento del concentrado de proteína (CPPs) se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento de CPPs (\%)} = \frac{\text{Peso del precipitado (g)}}{\text{Peso de harina sin aceite } P. \text{serotina (g)}} * 100$$



1x indica que la extracción se realizó una vez y 2x que fue repetida dos veces.

Figura 2. Procedimiento para obtener concentrado proteico de harina sin aceite *P. serotina* con NaCl.

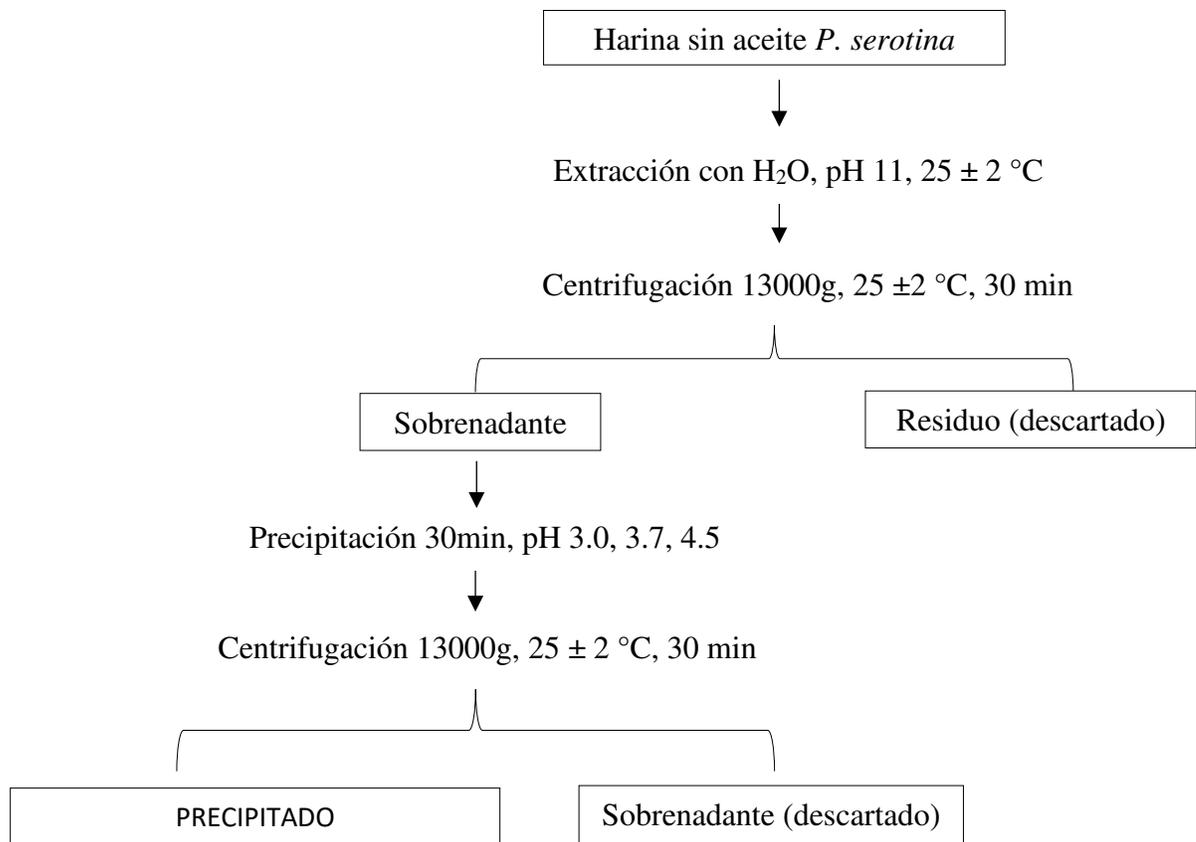


Figura 3. Procedimiento para obtener concentrado proteico de harina sin aceite *P. serotina* por acidificación directa.

5.5.2.2.1 Propiedades funcionales

Para determinar las propiedades funcionales del concentrado de proteína (CPPs) previamente obtenido, se realizó los mismos procedimientos descritos con anterioridad en la sección 5.5.1.3 donde se tomó como guía los análisis realizados por García et al. (2012) para cuantificar las capacidades de absorción de agua y aceite, capacidad emulsionante, gelificante, hinchamiento y espumante.

5.6 Desarrollo de productos

Con la finalidad de demostrar que la almendra de *P. serotina* puede tener más aplicaciones, se crearon y evaluaron tres productos. A partir del residuo (cáscara) obtenido

al abrir el hueso y extraer la semilla de *P. serotina* se elaboró un carbón activado, de la harina sin aceite se produjo un producto de panificación y del CPPs previamente obtenido se desarrolló un emulsionante.

5.6.1 Harina para galleta

Para asegurar la eliminación de ácido cianhídrico (HCN) de la harina sin aceite con piel *P. serotina*, se realizaron ciertos cambios en el proceso de elaboración. Se comenzó por un lavado a semillas con NaCl 2.5 % (1:5, p/v) durante 30 min con agitación magnética constante. Se mantuvo el remojo con agua caliente a 90 °C por 5 min, pero sin eliminar la piel de las almendras. De igual manera, se dejaron escurrir por 7 min. Se sometieron a un proceso de secado en estufa de convección de aire a 60 °C. Una vez secas se tostaron por 25 min a 100 °C. La extracción de aceite se hizo de igual manera, mediante el uso de prensa manual (Henan Wecare Industry Co. Ltd, China) y el remanente eliminándolo por agitación magnética con hexano (1:5, p/v) por 1 h a temperatura ambiente (25 ± 2 °C). Posteriormente se lavó y filtró con papel Whatman No.4. El residuo se dejó reposar en extractor de campana por 6 h para remover el solvente. Finalmente se pasó por procesador de alimentos (NutriBullet, USA) y tamiz de malla No. 50 (Giraldo et al. 2006; Sze Tao y Sathe 2000).

El rendimiento de la harina se determinó por medio de la siguiente formula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Peso de harina (g)}}{\text{Peso de semilla (g)}} * 100$$

5.6.1.1 Reacción de Grignard

Una vez elaborada la harina para la galleta se hizo una prueba cualitativa para corroborar que en el proceso el HCN fue eliminado. Para ello se prepararon papeles picrosódico, los cuales consistían en círculos de papel filtro (Whatman No. 4), que fueron empapados con solución de ácido pícrico 1 % y se dejaron secar a oscuras hasta cambiar de color a amarillo intenso. Una vez secos, se impregnaron con carbonato de sodio 10 % y se dejaron secar.

Ya listos los papeles se fijaron en la tapa de frascos ámbar con cinta y se añadió dos gotas de carbonato de sodio 10 % evitando que este goteara. La harina se colocó dentro del frasco hasta llenar un tercio de este y se tapó rápidamente. Los frascos se almacenaron en la oscuridad y a las 24 h se tomó lectura. Como control se empleó almendras únicamente fraccionadas (sin tratamiento alguno).

Si el papel conservaba color amarillo o naranja pálido no habría problema en su consumo, si cambiaba a naranja intenso o rosado habría que consumirse con precaución y si el color cambiaba a castaño rojizo u oscuro no debería consumirse (Castro y Rodríguez 2012).

5.6.1.2 Receta de galletas

Se elaboraron cuatro variaciones de una receta de galletas en base a Jia et al. (2011), con algunas modificaciones. La receta de masa para galletas se presenta en Tabla 1. La receta control fue 100 % con harina de trigo (Fc) y otras cuatro se suplieron en un 100, 75, 50 y 25 % con harina de *P. serotina* (F1 a F4, respectivamente).

Tabla 1. Receta de la masa de galletas.

Ingredientes	Peso (g)
Harina (Fc, F1, F2, F3, F4)	150
Polvo para hornear	3
Sal	3.5
Mantequilla sin sal	73
Azúcar	66.6
Huevo	25
Esencia de vainilla	2.5

Fc corresponde a 150 g de harina de trigo, F1 a 150 g de harina sin aceite de *P. serotina*, F2 a 112.5 g de harina sin aceite de *P. serotina* y 37.5 g de harina de trigo, F3 a 75 g de harina sin aceite de *P. serotina* y 75 g de harina de trigo y F4 a 37.5 g de harina sin aceite de *P. serotina* y 112.5 g de harina de trigo.

La mantequilla temperada y el azúcar se mezclaron con batidora a baja velocidad durante un minuto. Se agregó la esencia de vainilla y huevo y se mezclaron durante un minuto. En

otro recipiente se tamizaron todos los ingredientes secos (harina, polvo para hornear y sal) y se agregaron gradualmente a la mezcla anterior a baja velocidad durante un minuto y a velocidad media durante otro minuto. Cuando todos los ingredientes se integraron y homogeneizaron, la masa se envolvió en plástico y se dejó enfriar a 4 °C durante 1 h. Una vez que la masa reposó, se amasó y se extendió con rodillo y se cortaron galletas cuadradas de 2 x 2 cm y 0.5 cm de alto. Las galletas se colocaron en bandeja de aluminio con papel encerado para evitar que se pegaran. El horno se precalentó a 160 °C durante 15 min y se hornearon por 12 min a la misma temperatura. Después de retirar las galletas del horno, se dejaron enfriar a temperatura ambiente ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$).

5.6.1.2.1 Evaluación sensorial

La evaluación sensorial de galletas se llevó a cabo en el laboratorio de evaluación sensorial de la Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Alimentos, en la Universidad Autónoma de Nuevo León, México. Cincuenta y cinco panelistas no entrenados participaron en la prueba sensorial y se les sentó en mesas individuales en compartimientos diferentes. Se empleó una escala hedónica de 9 puntos (1 = extremo desagradado, 5 = ni agrado ni desagradado, 9 = extremo agrado) (Jia et al. 2011) para evaluar la textura, apariencia, color, olor, sabor, sensación en boca, el regusto (aftertaste) e impresión global. Valores de cinco en adelante en la impresión global se consideraron como aceptable en este estudio. En cada sesión, las muestras se sirvieron en platos blancos divididos en cinco partes, las galletas fueron presentadas a los panelistas con códigos aleatorios de tres dígitos, los cuales identificaban a cada galleta (528 = control, 467 = 100% harina capuli, 319 = 75% harina capuli, 708 = 50% harina capuli y 095 = 25% harina capuli). Las galletas fueron presentadas al azar. Los panelistas contaron con agua para enjuagar sus paladares entre cada evaluación sensorial.

5.6.1.2.2 Composición nutrimental

En base a los resultados de evaluación sensorial, a aquellas galletas que obtuvieron un puntaje mayor en la categoría de impresión global se les determinó su composición

nutrimental (extracto etéreo, proteína, fibra y extracto libre de nitrógeno) utilizando las metodologías descritas previamente en la sección 5.5.1.2.3 a 5.5.1.2.7

5.6.2 Elaboración de emulsiones

Los agentes emulsionantes CPPs y concentrado de proteína de suero de leche (WPC) se prepararon al 1 % (p/v) en agua desionizada y se solubilizaron con agitación constante. Los emulsionantes se dejaron hidratar durante la noche a 4 °C. Posteriormente se añadió 0.05 % de azida de sodio para evitar crecimiento microbiano. Se agregaron diferentes cantidades de aceite de canola 0.1, 1, 5, 10 y 20 g para obtener una variedad de fracciones másicas ($\phi = 0.002, 0.02, 0.1, 0.2$ y 0.4). Las emulsiones se mezclaron en homogeneizador (OMNI International GLH) a velocidad inicial de 1 000 rpm por 2 min y posteriormente a 3 000 rpm por 3 min (Ting et al. 2018; Yesiltas et al. 2018). El WPC se usó como control. Las emulsiones fueron elaboradas por triplicado.

Una vez elaboradas las emulsiones, se almacenaron a 25 ± 2 °C y se les calculó el índice de estabilidad (IEE) y actividad emulsionante (IAE), concentrado de proteínas en la interfase, viscosidad, así como tamaño de partícula e índice de cremado cada tercer día, durante un periodo de 18 días (Guo y Mu 2011).

En base a los resultados obtenidos con las emulsiones previas de CPPs se realizó un ajuste de pH (3.0, 5.0 y 7.0), con la finalidad de establecer en que producto alimenticio pudiera ser aplicado en la industria.

5.6.2.1 Índice de estabilidad y actividad emulsionante

Los índices de estabilidad emulsionante (IEE) y de actividad emulsionante (IAE) se analizaron por métodos colorimétricos, reportados previamente por Guo y Mu (2011), quienes se basaron en Pearce y Kinsella (1978) y Cameron et al. (1991). Inmediatamente después de homogenizar cada emulsión, se tomó 20 μ L del fondo y se diluyó con 5 mL de solución SDS 0.1 %. Se agitó en vortex por 5 min y se midió absorbancia en espectrofotómetro (GENESYS 10S UV-Vis, Thermo scientific) a 500 nm. El IEE e IAE fueron calculados usando las siguientes ecuaciones:

$$IAE \left(\frac{m^2}{g} \right) = \frac{2 * 2.303 * A_0 * \text{factor de dilución}}{c * 1 * (1 - \varphi) * 10\ 000}$$

Donde c es la concentración inicial de proteína de la emulsión, es decir, 1 % p/v (g/mL), φ es la fracción de peso del aceite empleado para realizar la emulsión, y el factor de dilución es 250.

$$IEE (min) = \frac{A_0}{A_0 - A_{10}} * t$$

Donde t son 10 min y A_0 y A_{10} son las absorbancias de las emulsiones diluidas a los 0 y 10 min, respectivamente.

5.6.2.2 Concentrado de proteína en interfase

El concentrado de proteína en la interfase de emulsiones se cuantificó de acuerdo con Eichberg y Mokrasch (1969) y Guo y Mu (2011). Se tomó 2 mL de emulsión recién elaborada y se diluyó con 2 mL de solución de sacarosa 50 % (p/v). Se agitó en vortex por 5 min. En tubo de centrifuga se vertió 2 mL de la mezcla anterior con 7 mL de solución de sacarosa 5 % (p/v). La muestra se centrifugo (Spectrafuge 6C, Labnet International, Inc.) a 3 500 g por 30 min a 25 ± 2 °C. Una vez centrifugada se observó tres fases: en parte superior gotas de aceite, en fase intermedia solución de sacarosa 5 % y en parte inferior del tubo la fase acuosa. Los tubos se congelaron a - 40 °C por 24 h y después la parte superior (aceite) fue removida.

Las proteínas adsorbidas de la fase de aceite fueron removidas añadiendo 20 mL de solución de SDS 1 % (p/v). Para determinar la concentración de proteína adsorbida (C_{ad}) se mezcló 1 mL de muestra con 3 mL de reactivo de cobre alcalino (Formado por solución A: Na_2CO_3 al 2%, NaOH al 0.4%, tartrato de sodio al 0.16%, y SDS al 1% con solución B: 4% de $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$, en partes 100:1). Las muestras se agitaron vigorosamente y se dejaron reposar a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) por 10 min. Posteriormente se añadió 0.3 mL de Folin- Ciocalteu 2 N y se dejó reposar 45 min a 25 ± 2 °C, enseguida se midió

absorbancia a 660 nm en espectrofotómetro (GENESYS 10S UV-Vis, Thermo scientific). Se empleó BSA (albumina de suero bovino) como estándar.

La concentración de proteínas en interfase (mg/m^2) se calculó por la siguiente fórmula:

$$T = C_{ad}/S_v$$

Donde C_{ad} es concentración de proteína adsorbida (mg/mL) y S_v son gotas de emulsión específicas del área interfacial (m^2/mL).

5.6.2.3 Viscosidad

La prueba de viscosidad se realizó utilizando un reómetro de esfuerzo controlado equipado con geometría de cilindros concéntricos (C-DG42/SS/QC-LTD, Anton Paar GmbH, Austria). Se llevó a cabo la medición a 25 ± 2 °C en rango de velocidad de corte de 2 a 100 s^{-1} .

Todas las medidas se tomaron inmediatamente después de haber elaborado las emulsiones (Guo y Mu 2011).

5.6.2.4 Tamaño de partícula

El tamaño de partícula se determinó mediante dispersión de luz integrada, utilizando un Mastersizer 3 000 Hydro LV (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Reino Unido). Las emulsiones se analizaron inmediatamente después de su elaboración por quintuplicado. La difracción láser midió la distribución del tamaño de partícula (diámetro equivalente al volumen) a partir de la variación angular de la intensidad de luz dispersa, cuando el rayo láser atraviesa las partículas dispersas en la solución. Luego, los datos se integraron en función de la intensidad de dispersión angular, calculando tamaño de partícula a través de la teoría de Mie de dispersión de luz. El tamaño de partícula se evaluó a través del diámetro medio de la superficie del volumen ($D_{3,2}$) a 25 ± 2 °C, como lo reportan Guo y Mu (2011). Las propiedades ópticas de las muestras se definieron como índice de refracción de 1.46 (WPC) y 1.43 (CPPs), agua como dispersante y absorción de 0.1. Los resultados se expresaron como medias \pm desviación estándar (Khor et al. 2014).

5.6.2.5 Índice de cremado

El índice de cremado (IC) se determinó para medir la estabilidad de las emulsiones con respecto al tiempo, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\% IC = 100 * \frac{As}{Ae}$$

Donde, Ae es la altura total de la emulsión (cm) y As es la altura de la capa opaca (cm) (Hernández Morales et al. 2018).

5.6.2.6 Microscopía óptica

La microscopía óptica se tomó en base al método descrito por Huang et al. (2011) con pequeñas modificaciones. Las emulsiones se agitaron previo al análisis durante 1 min en vortex. Una gota de emulsión se colocó entre un cubre y porta objetos de microscopio. Las gotas de las emulsiones se examinaron y observaron bajo iluminación de campo brillante con lente objetivo 40X en microscopio Leica (Leica DM500, Suiza) con el software Leica LAS EZ 2.0.0., Ltd., Application Suite (Leica Microsystems, Suiza).

5.6.2.7 Ajustes de pH

Una vez seleccionada la emulsión elaborada con CPPs a una fracción másica específica, se procedió a determinar el pH al cual la emulsión logró ser más estable. Para ello, se volvió a elaborar la emulsión, pero en esta ocasión la fase acuosa se fijó a tres pH diferentes (3.0, 5.0 y 7.0) con NaOH 0.1 N y HCl 0.1 N. Estos valores de pH se seleccionaron debido a que en ellos se encuentran diversos alimentos como manzana, chabacano, fresas, piña, ciruela, uvas, arándanos, durazno (pH 3.0), zanahoria, tomate, betabel, pepino, apio, pimiento, calabaza, plátano y carne roja (pH 5.0) entre otros, en los cuales (dependiendo el resultado) se pudiese utilizar este emulsionante.

Todas las emulsiones fueron almacenadas a 25 ± 2 °C durante 18 días y se les realizó los análisis anteriormente mencionados (5.2.5.2.1 a 5.2.5.2.5) cada tercer día. Las emulsiones fueron elaboradas por triplicado.

5.6.3 Carbón activado

Las cáscaras de semillas se molieron en procesador de alimentos (NutriBullet, USA) y se tamizaron para estandarizar su tamaño (2 a 4 mm). Posteriormente se pesó 170 g de cáscara molida y tamizada, y se adiciono 1 mL de disolución de H₃PO₄ 37 % por cada gramo. Para una correcta impregnación, se mantuvo en remojo con agitación a 120 °C por 24 h. Posteriormente se colocó la cáscara en mufla a 550 °C por 30 min y se lavó con 100 mL de HCl 37 % a 30 °C durante 6 h con agitación magnética constante. Enseguida se filtró y lavó con agua destilada hasta tener conductividad eléctrica (Sension 5, HACH) de 10 a 15 mS. Se secó a peso constante a 105 °C. Y por última vez se molió por 15 seg en procesador de alimentos (NutriBullet, USA). Para calcular el rendimiento se mantuvo la muestra en desecador (Mohan et al. 2011).

El cálculo de rendimiento se determinó por medio de la siguiente formula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Peso de carbón (g)}}{\text{Peso de cáscara (g)}} * 100$$

5.6.3.1 Análisis Elemental

Para el análisis elemental (AE) se tomó como guía metodología de Valente Nabais et al. (2011) con algunas modificaciones. La muestra de carbón activado se depositó en cinta de cobre recubierta con Au-Pd mediante una evaporadora, con la finalidad de hacer la muestra más conductora y tener mejor resolución en Microscopio Electrónico de Barrido (JSM-6510, Jeol Ltd., Akishima, Tokyo), con Espectrómetro de Dispersión de Energía de Rayos X (SEM-EDS) (Jeol Ltd., Akishima, Tokyo).

Una vez colocada la muestra dentro del SEM se hicieron 5 mapeos en diferentes zonas de la muestra y en cada zona se hizo análisis EDS a pantalla completa para obtener los porcentajes en peso de los elementos presentes. Se empleó carbón activado para laboratorio (Desarrollo de Especialidades Químicas, Mty, N.L.) como control. El análisis se hizo por quintuplicado.

5.7 Análisis Estadístico

Los datos de los experimentos replicados se analizaron para determinar si las variaciones eran estadísticamente homogéneas, y los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar. Las comparaciones estadísticas se realizaron mediante análisis de varianza (ANOVA), completamente aleatorio. La diferencia entre medias se consideró significativa a $p \leq 0.05$. En aquellos resultados significativos, se siguió con prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

En la elaboración de harinas se calculó el coeficiente de correlación lineal entre las muestras y su composición nutricional, y las muestras con sus propiedades funcionales.

Los cálculos estadísticos fueron realizados utilizando el programa computacional SPSS Statistics 21.0 (IBM, 2012).

6 RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1 Análisis lipídico de semilla *P. serotina*

El rendimiento del aceite obtenido a partir de semilla *P. serotina* por prensa fue 23.41 ± 3.62 % (p/p). Extracciones con CO₂ supercrítico y hexano reportan rendimientos de 21.3 y 30.9 % (p/p), respectivamente (Alveano Aguerrebere et al. 2011). El método de prensado en frío es atractivo y económico y puede superar en 2 % a la extracción con CO₂ supercrítico, pero puede tener menor rendimiento en comparación con extracciones con solvente.

El aceite *P. serotina* tuvo densidad de 0.9077 ± 0.007 g/cm³, e índice de refracción de 1.49225 ± 0.000 nD. Estos valores resultan similares con los resultados obtenidos por Alveano Aguerrebere (2010) en extracciones con hexano y CO₂ supercrítico, quien reporta índices de refracción de 1.491 y 1.490 nD, respectivamente, y densidades de 0.914 y 0.910 g/cm³, respectivamente.

La densidad obtenida fue similar a densidades de aceites de semilla de mostaza, oliva, canola, coco, cacahuete y albaricoque (Tabla 2), mientras que el índice de refracción fue superior a índices conocidos en aceites vegetales que van de 1.4000 a 1.4705 y de aceites frutales que van de 1.464 a 1.471. El valor superior de índice de refracción refleja la presencia de ácidos grasos con alto contenido de dobles enlaces conjugados (Padley et al. 1994; Kaya et al. 2008; Alveano Aguerrebere 2010).

Tabla 2. Densidad en aceites.

Aceites	Densidad (g/cm ³)
Semilla de mostaza	0.910
Oliva	0.910
Canola	0.910
Coco	0.908
Cacahuete	0.914
Albaricoque	0.9138

Los valores de densidad fueron consultados del libro Lipid handbook 2da ed. Por Padley et al. (1994) y del artículo publicado por Kaya et al. (2008) en la revista Asian Journal of Chemistry.

6.1.1 Perfil lipídico

Los lípidos presentes en aceite de *P. serotina* analizado por CG fueron: 41.42 % oleico, 26.97 % linoleico, 25.33 % α -eleosteárico, 4.33 % palmítico, 1.33 % esteárico y 0.08 % linolénico como se puede observar en Tabla 3.

Tabla 3. Perfil lipídico del aceite de almendras *P. serotina* comparado con *P. dulcis*.

Ácidos	<i>P. dulcis</i> (% peso aceite)	<i>P. serotina</i> (% peso aceite)
Oleico	65.99	41.42
Linoleico	27.38	26.97
Eleosteárico	ND	25.33
Palmítico	5.36	4.33
Esteárico	0.55	1.33
Linolénico	0.09	0.08
Ác. saturados	5.91	5.66
Ác. monoinsaturada	65.99	41.42
Ác. poliinsaturada	27.47	52.38

Los valores son porcentajes relativos de cada componente, considerando que el área total bajo los picos de la imagen cromatográfica representa el cien por ciento del total de la elución de aceite de almendra de *P. serotina* y *P. dulcis*. ND: No Detectado.

El perfil lipídico de *P. serotina* fue similar al reportado por otros autores en extracciones con hexano: 35.3 % oleico, 26.7 % α -eleosteárico, linoleico 26.6 %, palmítico 4.3 %, esteárico 4 % y 0.2 % linolénico (Alveano Aguerrebere et al. 2011). El aceite de *P. serotina* presentó 1.6 veces menor contenido de ácidos monoinsaturados y 1.9 veces mayor contenido de poliinsaturados en comparación con el aceite de *P. dulcis*.

El ácido α -eleosteárico destaca en el aceite de *P. serotina* con valor de 25.33 %, mientras que en aceite *P. dulcis* no fue detectado por el CG. El ácido α -eleosteárico aumenta el potencial del aceite como alimento funcional o ingrediente nutracéutico, ya que ha demostrado tener propiedades antioxidantes y de captación de oxígeno, así como efectos protectores contra el daño oxidativo en plasma, reduce la peroxidación lipídica, tiene efectos anticolesterolemicos y previene enfermedades degenerativas crónicas como

cancer (Chattopadhyay et al. 2012; Saha y Ghosh 2012; Sbihi et al. 2014; Alveano Aguerrebere et al. 2011; Tsuzuki y Kawakami 2008).

La cantidad de ácido oleico en aceite de *P. serotina* fue menor que aceite *P. dulcis*, con una relación de 0.62:1. Se ha reportado que el ácido oleico tiene una amplia gama de beneficios a la salud como reducir presión arterial, aumentar quema de grasa ayudando la pérdida de peso, proteger células del daño de radicales libres, prevenir diabetes tipo 2 y colitis ulcerativa, generar mielina cerebral y disminuir el riesgo de enfermedades inflamatorias crónicas, así como cardiovasculares, al reducir los lípidos en la sangre (principalmente el colesterol) (Rustaiyan et al. 2016; Parekh et al. 2009).

En aceite de semillas *P. serotina* se encontró ácido oleico y α -eleosteárico en proporción de 1.6:1. Vidrih et al. (2009), determinaron el ácido α -eleosteárico y oleico en semilla de cereza dulce (*Prunus avium*). La proporción reportada fue de 4:1 y mencionan que el ácido α -eleosteárico y otros ácidos conjugados fueron estudiados debido a sus beneficios en la salud, especialmente, por prevención de enfermedades relacionadas con problemas cardiovasculares y atributos antitumorales.

Existen otras fuentes de ácido α -eleosteárico como la semilla del melón amargo (*Momordica charantia*) con 60 % y el cerezo de Santa Lucía (*Prunus mahaleb*) con 38.32 %. Pero estas no se encuentran disponibles en México (Tsuzuki y Kawakami 2008). Por lo tanto, el aceite de *P. serotina* puede ser una fuente importante de ácidos insaturados en particular por su contenido de ácido oleico y α -eleosteárico.

6.1.2 Fracciones de aceite *Poliomintha longiflora*

Se obtuvieron dos fracciones de aceite concentrado (2.5X y 10X) por destilación fraccionada y posteriormente se comparó la efectividad antioxidante que tuvo el aceite esencial *P. longiflora* y sus concentrados sobre el aceite *P. serotina*.

Tabla 4. Perfil de compuestos orgánicos en aceite *P. longiflora*.

Compuestos	PE (°C)*	Concentrado	Concentrado	Aceite
		2.5X	10X	esencial
Área del pico (%)				
α -Tujeno	150-152			1.74
α -Pino	156			1.07
β -Mirreno	166-168			5.50
Felandreno	172			0.72
α -Terpineno	174			5.57
<i>o</i> -Cimeno	174	11.45	0.97	39.13
<i>d</i> -Limoneno	175			1.58
γ -Terpineno	181-183	26.76	0.94	22.34
Timol	232	2.23	3.77	1.71
1,8-Cineola	177			1.53
Carvacrol	237-238	38.98	64.31	12.60
Trans-Cariofileno	268	9.80	13.78	3.47
α -Humuleno	276		8.36	1.56
Monoterpenos hidrocarbonados		11.45	1.91	77.65
Monoterpenos oxigenados		48.78	68.08	15.84
Sesquiterpenos hidrocarbonados		9.80	22.14	5.03
Total de compuestos identificados		89.22	92.13	98.52

Se mencionan los compuestos monoterpenos y sesquiterpenos con 99.9 % de coincidencia. PE fue consultado en <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

El aceite esencial de *Poliomintha longiflora* está conformado por 13 compuestos orgánicos diferentes (Tabla 4). El análisis cuantitativo mostró 77.65 % de monoterpenos hidrocarbonados, 15.84 % monoterpenos oxigenados y 5.03 % de sesquiterpenos hidrocarbonados. El contenido de monoterpenos y sesquiterpenos predominó en su composición, dando en conjunto un total del 98.52 %. Los 6 compuestos que tuvieron mayor concentración en el aceite fueron: trans-cariofileno, carvacrol, γ -terpineno, α -

cimeno, α -terpineno y β -mirceno. Los monoterpenos hidrocarbonados más abundantes fueron: 39.13 % de *o*-cimeno, 22.34 % de γ -terpineno, 5.5 % de β -mirceno y 5.57 % de α -terpineno.

El contenido de monoterpenos hidrocarbonados en *P. longiflora* también fue reportado por Herrera Rodríguez et al. (2019), Cid Pérez et al. (2019), Silva Vázquez et al. (2018) y Teixeira et al. (2013), aunque el valor obtenido por los investigadores fue de 3.3 a 2.6 veces menor, variando su contenido entre 23.38 a 29.05 %. La diferencia de los resultados se puede atribuir a que la abundancia de compuestos depende de la localización, temporada de cosecha y proceso de extracción del aceite (Herrera Rodríguez et al. 2019).

El aceite de orégano (*P. longiflora*) se ha utilizado como antioxidante potencial y como antimicrobiano efectivo contra microorganismos patógenos (Herrera Rodríguez et al. 2019). Por ello, se elaboraron dos fracciones concentradas de aceite *P. longiflora* a 2.5X y 10X para estimar la concentración relativa de componentes y sus efectos antioxidantes.

La fracción concentrada a 10X redujo su contenido de monoterpenos hidrocarbonados a un 2 % (provenientes de *o*-cimeno y γ -terpineno) y aumentó 4 veces sus compuestos oxigenados (especialmente timol y carvacrol) y sesquiterpenos en comparación con el aceite esencial *P. longiflora*.

Los valores de monoterpenos y sesquiterpenos de la concentración 2.5X tuvieron valores promedios entre el aceite esencial y la concentración 10X. Los monoterpenos hidrocarbonados fueron 6.7 veces menos que en aceite esencial, pero 6 veces más que a concentración 10X, los monoterpenos oxigenados fueron 3 veces más que en aceite esencial, pero 1.4 veces menos que en concentración 10X y los sesquiterpenos fueron 2 veces más que en aceite esencial, pero 2.3 veces menos que en concentración 10X. Posiblemente los cambios en las concentraciones de los compuestos orgánicos del aceite *P. longiflora* influyeron en los efectos antioxidantes de los mismos.

6.1.3 Oxidación de lípidos

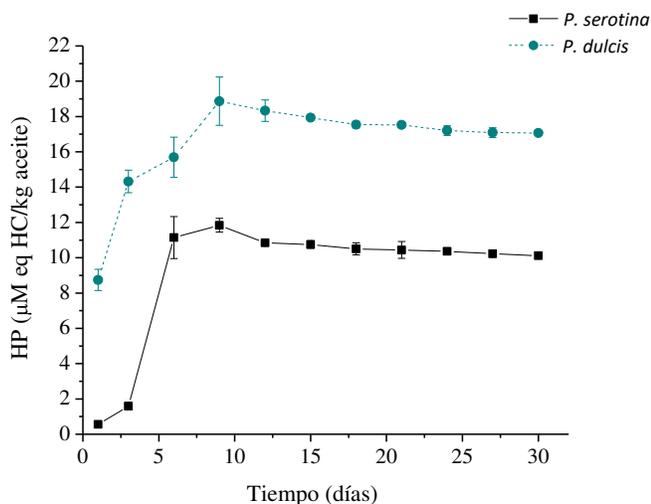
El proceso de oxidación de lípidos consiste en tres etapas: iniciación, propagación y terminación. La etapa de iniciación ocurre cuando los ácidos grasos reaccionan con

radicales o factores de oxidación como el oxígeno, provocando que se elimine el hidrógeno del ácido graso y se produzca un radical alquilo. Factores como calor, metales catalizadores, luz visible y UV pueden acelerar la formación de radicales libres. La etapa de propagación consiste en la reacción del radical alquilo resultante con oxígeno y forma radical peroxilo, que a su vez extrae hidrógeno de otros ácidos grasos y reacciona con el hidrógeno para formar hidroperóxido y otros radicales alquilo. Finalmente, cuando los radicales reaccionan entre sí y se producen especies no radicales, entonces la reacción se detiene (etapa de terminación) (Choe y Min 2006).

Los productos primarios de oxidación son los hidroperóxidos, estos se pueden degradar y formar radical alcoxi, para formar aldehídos, cetonas, ácidos ésteres y alcoholes. Por ello, la oxidación de lípidos de *P. serotina* se cuantificó por formación de hidroperóxidos y malondialdehídos (productos secundarios de degradación), debido a que estos peróxidos conducen a la formación de sabores desagradables, la reducción de compuestos bioactivos, así como disminución de calidad y seguridad de los aceites (Bakkali et al. 2008; Choe y Min 2006).

La oxidación del aceite *P. serotina* obtenida por prensado en frío se evaluó durante 30 días y se comparó con la del aceite *P. dulcis*. La concentración de hidroperóxidos aumentó hasta el día 9 de almacenamiento a 30 °C, con degradación máxima de $11.84 \pm 0.39 \mu\text{M}$ y $18.87 \pm 1.37 \mu\text{M}$ eq HC/kg en *P. serotina* y *P. dulcis*, respectivamente (Figura 4). Después de la producción máxima de hidroperóxidos, los valores fueron prácticamente constantes.

La abundancia relativa de los ácidos insaturados con respecto a los saturados en los aceites *P. dulcis* y *P. serotina* fue muy cerca entre sí, con valores de 15.78:1 y 16.57:1 respectivamente. La composición de ácidos insaturados presentes en aceite de *P. serotina* fueron más sensibles a los procesos oxidativos. Tsuzuki et al. (2004) mencionan que el ácido α -eleosteárico tiene tasa de oxidación más rápida que el ácido linoleico conjugado (9z, 11e-CLA y 10e, 12z-CLA), el ácido linoleico y el linolénico.

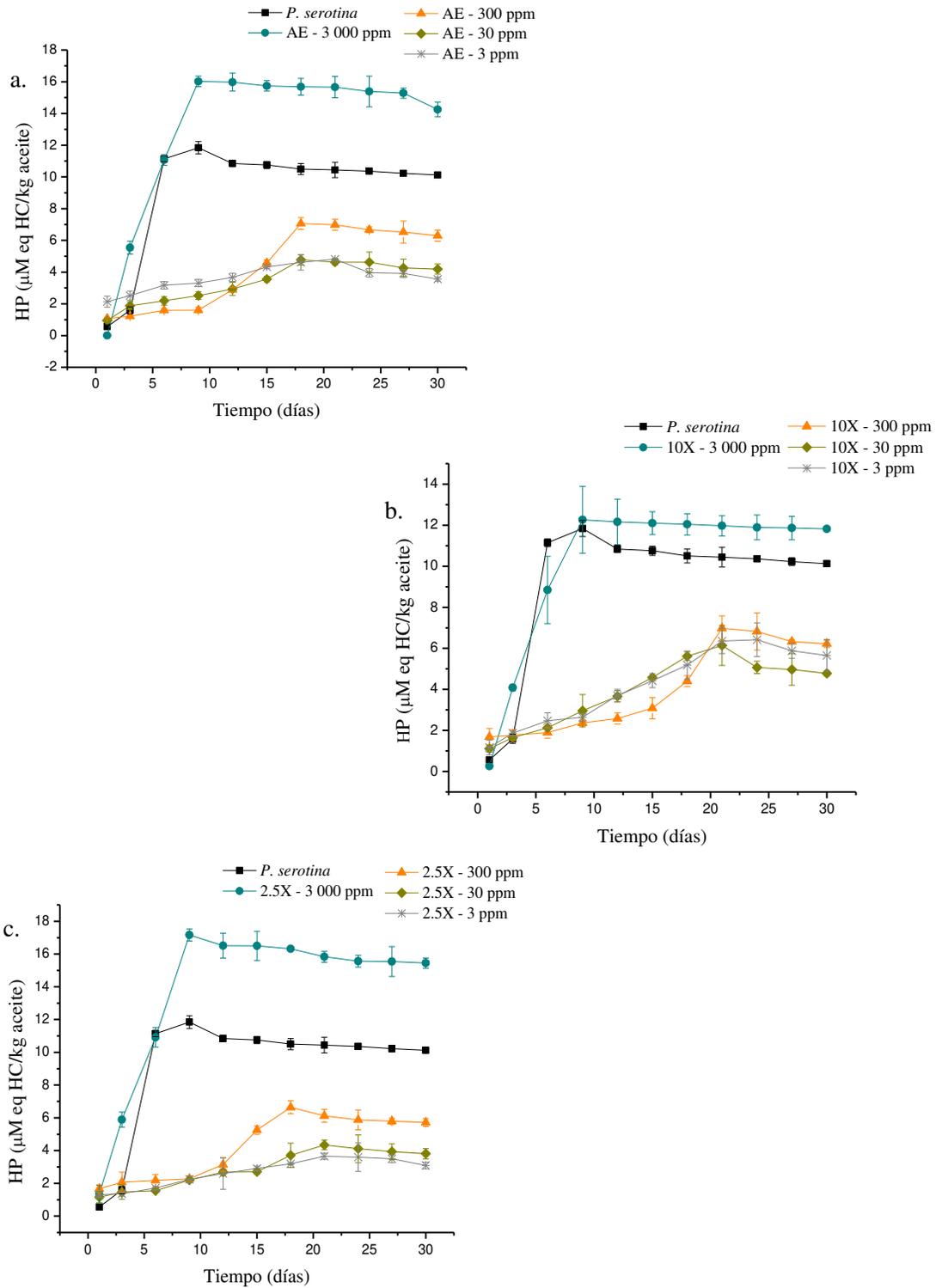


HP: Hidroperóxidos

Figura 4. Formación de hidroperóxidos en aceite *P. serotina* comparado con *P. dulcis*.

Hoy en día se sabe que la formación de hidroperóxidos y malondialdehídos (MDA) en aceite puede inhibirse mediante el uso de antioxidantes de aceites comestibles (Choe y Min 2006). Por lo cual, para extender la vida útil del aceite *P. serotina*, se agregaron tres fracciones de aceite de *P. longiflora* (Aceite esencial, concentrado 2.5X y concentrado 10X) a cuatro concentraciones cada una (3 000, 300, 30 y 3 ppm). Los resultados que se obtuvieron demostraron inhibición de formación de hidroperóxido y parcialmente de malondialdehídos.

Los hidroperóxidos tuvieron un aumento constante hasta el día 9 en las tres fracciones de aceite *P. longiflora* (aceite esencial, concentración 2.5X y concentración 10X) a 3 000 ppm (Figura 5). La formación de hidroperóxidos fue mayor en todos los casos cuando se añadió los aceites de *P. longiflora* a 3 000 ppm en comparación con el aceite *P. serotina* sin antioxidantes ($11.84 \pm 0.39 \mu\text{M eq HC/kg aceite}$), pero se mantuvieron menores en comparación con el aceite *P. dulcis* que tuvo $18.87 \pm 1.63 \mu\text{M eq HC/kg aceite}$. La oxidación máxima a 3 000 ppm en orden creciente fue: $12.26 \pm 1.63 \mu\text{M eq HC/kg aceite}$ (concentrado 10X), $16.02 \pm 0.33 \mu\text{M eq HC/kg aceite}$ (aceite esencial) y $17.16 \pm 1.37 \mu\text{M eq HC/kg aceite}$ (concentrado 2.5X). Por lo cual, el uso de altas concentraciones de antioxidantes en aceite de *P. serotina*, promueve la oxidación con efectos similares a los del aceite *P. serotina* a 30 °C.



HP: Hidroperóxidos; AE: Aceite esencial; 10X: Concentrado 10X y 2.5X: Concentrado 2.5X

Figura 5. Formación de hidroperóxidos en aceite *P. serotina* con fracciones de aceite *P. longiflora* a cuatro concentraciones.

Los aceites antioxidantes de *P. longiflora* a 300 ppm, reducen la tasa de hidroperóxido en aceite *P. serotina* 2.2 veces con aceite esencial, 2.7 con concentrado 2.5X y 1.9 veces con concentrado 10X. A 30 ppm la tasa de hidroperóxido se redujo a 3.4 veces con aceite esencial, 4 con concentrado 2.5X y 2 veces con concentrado 10X. Y al adicionar los antioxidantes 3 ppm, la velocidad de formación de hidroperóxido se redujo a 4 veces con aceite esencial, 5 con concentrado 2.5X y 2.5 veces con concentrado 10X (Tabla 5).

Tabla 5. Valores máximos de formación de hidroperóxido en aceite *P. serotina* con y sin antioxidantes.

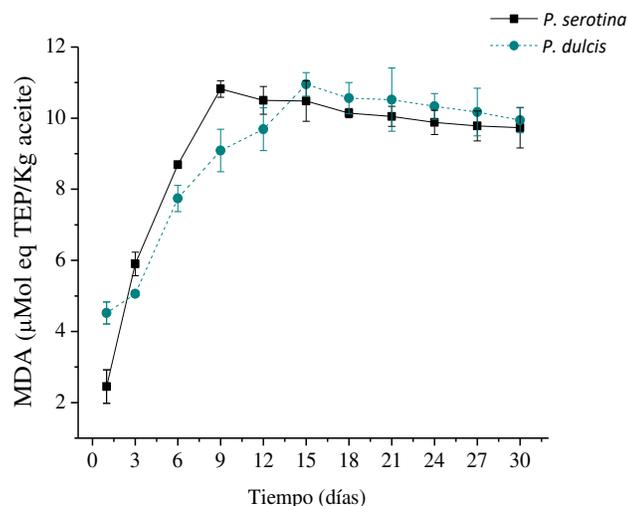
Aceites	Concentración de antioxidante (ppm)	Valor máximo de hidroperóxido ($\mu\text{M eq HC/kg aceite}$)
<i>P. serotina</i>	N.A.	11.84 ± 0.39
<i>P. serotina</i> + A.E.	3 000	16.02 ± 0.33
<i>P. serotina</i> + 2.5X	3000	17.16 ± 0.37
<i>P. serotina</i> + 10X	3000	12.26 ± 1.63

Los valores son el promedio de tres repeticiones \pm desviaciones estándar de hidróxido en aceites de *P. serotina* con y sin antioxidante. A.E: Aceite esencial; 2.5X: Concentrado 2.5X; 10X: Concentrado 10X; N.A: No aplica.

La formación de hidroperóxido obtenido usando el concentrado 2.5X de *P. longiflora* a 3 ppm fue $3.65 \pm 0.18 \mu\text{M eq HC/kg aceite}$, el cual fue 3.3 veces menor con respecto al aceite de *P. serotina* sin antioxidantes. Por ello esta fracción de aceite bajo la concentración mencionada, puede reducir eficazmente la velocidad de formación de hidroperóxidos.

El malondialdehído (MDA) es una especie reactiva de oxígeno, que a menudo está presente en altas concentraciones en los alimentos rancios (Feron et al. 1991), por ello se utilizó para estimar la oxidación del aceite *P. serotina*.

El desarrollo máximo de MDA en aceite de *P. serotina* ocurrió a los 9 días con valor de $10.82 \pm 0.15 \mu\text{M eq TEP/kg aceite}$, mientras que en aceite de *P. dulcis*, ocurrió al 15vo día del monitoreo con $11.63 \pm 0.33 \mu\text{M eq TEP/kg aceite}$ (Figura 6).



MDA: Malondialdehídos

Figura 6. Formación de malondialdehídos en aceite de *P. serotina* comparado con *P. dulcis*.

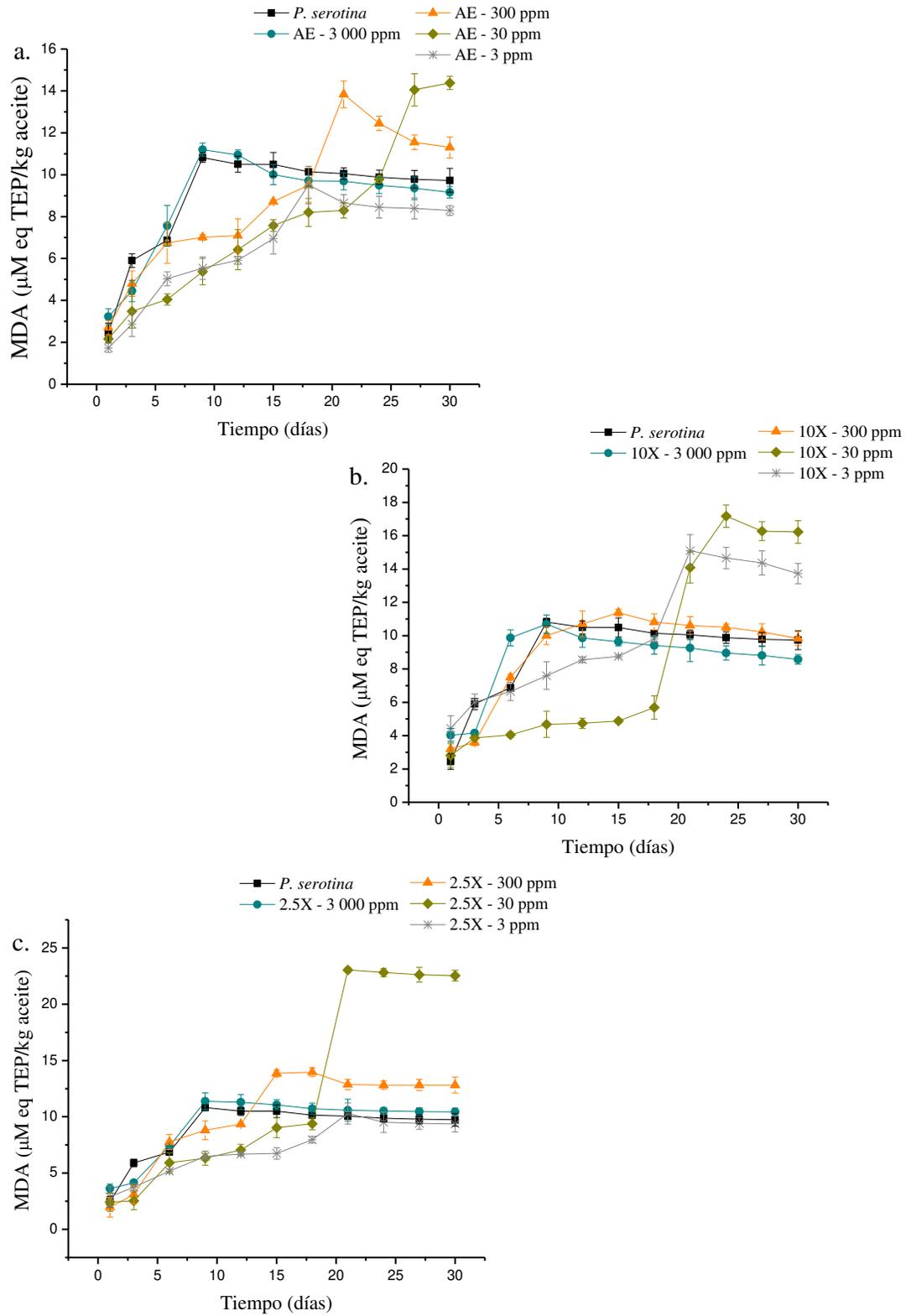
El equilibrio entre prooxidante/antioxidante es importante para evitar la oxidación de los aceites (Shahidi y Zhong 2010). El exceso de fracciones antioxidantes no disminuye la formación de MDA y una baja concentración la reduce solo parcialmente.

La fracción de aceite esencial a 3 000 ppm ($11.20 \pm 0.31 \mu\text{M eq TEP/kg aceite}$) añadida al aceite de *P. serotina*, no redujo la formación de MDA, en realidad, el valor obtenido fue similar al aceite *P. serotina* sin antioxidante ($10.82 \pm 0.23 \mu\text{M eq TEP/kg aceite}$). El aceite esencial a 300 y 30 ppm prolongaron la estabilidad del aceite *P. serotina* hasta los días 21 y 30, respectivamente. Pero los valores obtenidos en esos días fueron mayores al obtenido el día 9 en aceite de *P. serotina* sin antioxidantes, aumentando un 21.8 % (300 ppm) y 24.7 % (30 ppm). Solo a 3 ppm se logró reducir el contenido de MDA del aceite *P. serotina* en 12.1 % (Figura 7a).

El valor máximo de MDA desarrollado en aceite de *P. serotina* con la adición de *P. longiflora* concentrado 10X a 3 000 ppm ($11.2 \pm 0.31 \mu\text{M eq TEP/kg aceite}$) fue cercano al obtenido en aceite de *P. serotina* sin antioxidantes ($10.82 \pm 0.23 \mu\text{M eq TEP/kg aceite}$). A 300 ppm la formación de MDA se extendió al día 15 y 30 ppm al día 24, pero los valores obtenidos en estos días fueron superiores al aceite *P. serotina* sin antioxidante en 5 % y 37 %, respectivamente. Únicamente a 3 ppm la concentración 10X logró reducir parcialmente

la formación de MDA hasta el día 18 con valor máximo de $9.51 \pm 0.89 \mu\text{M eq TEP/kg}$ aceite (Figura 7b).

El desarrollo de MDA con la fracción concentrada 2.5X a 3 000 ppm ($11.38 \pm 0.74 \mu\text{M eq TEP/kg}$ aceite) fue similar al obtenido en aceite de *P. serotina* sin antioxidantes. A 300 ppm se extendió la formación máxima de MDA ($13.97 \pm 0.38 \mu\text{M eq TEP/kg}$ aceite) hasta el día 15 y a 30 ppm ($23.04 \pm 0.21 \mu\text{M eq TEP/kg}$ aceite) al día 21. Sin embargo, en ambos casos aumentó el contenido de MDA un 22.5 % y 53 %, respectivamente. Solo a 3 ppm ($10.29 \pm 0.94 \mu\text{M eq TEP/kg}$ aceite) se redujo en 5 % la formación de MDA (Figura 7c). Por lo anterior, el uso de fracciones de aceite *Poliomintha longiflora* como antioxidante, lograron reducir la producción de hidroperóxidos, pero solo parcialmente la formación de MDA.



MDA: Malondialdehídos; AE: Aceite esencial; 10X: Concentrado 10X y 2.5X: Concentrado 2.5X

Figura 7. Formación de MDA en aceite de *P. serotina* con fracciones de aceite de *P. longiflora* a cuatro concentraciones.

6.2 Capacidad antioxidante de almendra *P. serotina*

6.2.1 Compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos pueden ejercer su actividad antioxidante eliminando especies reactivas como el radical hidroxilo, peroxilo y superóxido al romper la cadena de oxidación, suprimir la peroxidación lipídica reciclando otros antioxidantes o prevenir la formación de radicales libres al unirse con metales prooxidantes, como hierro y cobre (Walte y Marchesan 2011). Estos compuestos son de gran importancia porque ayudan a combatir enfermedades, son antimicrobianos, tienen efectos nutricionales beneficiosos y ayudan a prolongar la estabilidad de productos alimenticios. Por ello, en los últimos años han atraído más la atención (Taghvaei y Jafari 2015).

Los análisis de fenoles totales con 4 solventes dieron como resultado que los valores más altos de absorbancia en los principales componentes de la almendra *P. serotina* (aceite, semilla y cáscara) se obtuvieron con los solventes metanol, etanol y acetona 96 %. Sin embargo, este último tuvo menor rendimiento debido a que fue el más volátil de los 4 solventes (Tabla 6).

De los tres componentes principales de la almendra, se obtuvo mayor contenido de equivalentes de ácido gálico en cáscara, seguido de semilla y por último aceite (Tabla 6). Estos resultados, se pueden atribuir, a que generalmente las capas externas de plantas, como piel y cáscara, contienen gran cantidad de compuestos polifenólicos para proteger los materiales internos (Jahanban et al. 2010), como sucedió en este caso con la almendra *P. serotina*.

Investigadores han identificado que en piel y cáscara de almendras (*P. amygdalus*) se encuentran diversos compuestos fenólicos incluidos la quercetina glicosilada, galactosa y ramnosa, kaempferol, ácidos hidroxicinámicos, flavanoles, naringenina, catequinas, epicatequinas, procianidinas, ácidos hidroxibenzoicos, entre otros (Jahanban et al. 2010).

Tabla 6. Contenido de fenoles totales en cáscara, semilla y aceite de *P. serotina*.

Muestra	Solvente	Rendimiento (%)	mg EAG/g muestra
Cáscara	Agua Acidificada pH 4	62.87 ± 0.81 _d	0.97 ± 0.12 _{d,e}
	Acetona 96 %	24.33 ± 0.58 _g	1.19 ± 0.04 _c
	Etanol 96 %	70.53 ± 1.29 _c	1.01 ± 0.05 _{c,d}
	Metanol 96 %	43.07 ± 1.01 _f	1.65 ± 0.06 _a
Semilla	Agua Acidificada pH 4	58.00 ± 0.20 _e	1.42 ± 0.14 _b
	Acetona 96 %	20.67 ± 1.15 _h	0.72 ± 0.05 _f
	Etanol 96 %	45.20 ± 0.72 _f	0.72 ± 0.02 _f
	Metanol 96 %	70.20 ± 0.20 _c	0.79 ± 0.03 _{e,f}
Aceite	Agua Acidificada pH 4	90.33 ± 0.23 _a	0.02 ± 0.01 _i
	Acetona 96 %	20.87 ± 1.68 _h	0.47 ± 0.00 _g
	Etanol 96 %	90.20 ± 0.20 _a	0.24 ± 0.02 _h
	Metanol 96 %	87.13 ± 1.03 _b	0.05 ± 0.01 _{h,i}

Los valores son el promedio de tres repeticiones ± desviaciones estándar de fenoles en cáscara, semilla con piel y aceite de *P. serotina*. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

Cuando una muestra se mezcla con diferentes solventes se obtienen extractos con compuestos desiguales, debido a la variabilidad química y la sensibilidad del método de extracción o al proceso de hidrólisis. En este análisis se obtuvo, que el uso del solvente metanol 96 % fue más efectivo para obtener mayor cantidad de equivalentes de ácido gálico en cáscara; en semilla fue mejor el agua acidificada (pH 4.0) y en aceite acetona 96 %.

En cáscara se obtuvo 1.65 ± 0.06 mg EAG/g muestra (extraído con metanol) y en semilla 1.42 ± 0.14 mg EAG/g muestra (extraído con agua acidificada). Estos valores fueron más bajos a lo reportado por otros investigadores en variedades como *P. amygdalus* y *P. dulcis* (Jahanban et al. 2010; Smeriglio et al. 2016). Sin embargo, el resultado en semilla coincidió en el orden de magnitud.

Del aceite *P. serotina* se obtuvieron extractos fenólicos de 0.47 ± 0.00 mg EAG/g muestra (con acetona 96 %) y 0.24 ± 0.02 mg EAG/g muestra (con etanol 96 %), en ambos casos el valor obtenido fue mayor a lo reportado por Miraliakbari (2007), quien extrajo fenoles totales de aceite de *P. dulcis* con hexano (0.12 ± 11 mg EAG/g aceite) y cloroformo/metanol (0.16 ± 15 mg EAG/g aceite). Los valores obtenidos demuestran que el aceite de *P. serotina*, tiene de 24 a 44 % mayor contenido de fenoles totales.

Para unificar el uso de solvente en las extracciones de compuestos fenólicos de cáscara, semilla y aceite en los siguientes análisis (flavonoides totales y capacidad antioxidante) se decidió emplear etanol 96 % por presentar uno de los mejores porcentajes de rendimiento, situación que también fue reportada con Jiménez et al. (2011). Y por ser un solvente grado alimenticio, además que los resultados obtenidos con este solvente fueron cercanos a los más altos obtenidos en cáscara, semilla y aceite con los otros solventes, aunado que Pinelo et al. (2004) mencionan que, para optimizar el rendimiento de compuestos fenólicos de almendras, el etanol es más favorable para extracciones totales, en comparación con metanol y agua.

6.2.2 Flavonoides totales

Las frutas y nueces están conformadas por una amplia variedad de ácidos fenólicos y flavonoides, los cuales están conformados por anillos fenólicos y piranos, con grupos hidroxilo, metilados, sulfatados o glucuronidados. Estos cuentan con propiedades antioxidantes y quelantes y quien los consume puede prevenir enfermedades crónicas. Dependiendo de la naturaleza, extensión, posición de los sustituyentes y el número de grupos hidroxilo, pueden actuar como antioxidantes o moduladores de actividad enzimática (Belge Kurutas 2016).

Entre los componentes principales de la almendra *P. serotina*, se observó que la semilla tuvo mayor contenido de flavonoides totales (0.77 ± 0.01 mg ECAT/g muestra), seguido de la cáscara (de 0.37 ± 0.05 mg ECAT/g muestra) y finalmente el aceite (0.33 ± 0.01 mg ECAT/g muestra) como se muestra en Tabla 7. Estos valores pueden ser atribuidos a la

influencia de factores genéticos, así como, por condiciones ambientales y prácticas de cultivo (Smeriglio et al. 2016).

Tabla 7. Contenido de flavonoides totales en cáscara, semilla y aceite de *P. serotina*.

Muestra	Solvente	mg ECAT/g muestra
Cáscara	Etanol 96 %	0.37 ± 0.05 _b
Semilla	Etanol 96 %	0.77 ± 0.01 _a
Aceite	Etanol 96 %	0.33 ± 0.01 _c

Los valores son el promedio de tres repeticiones ± desviaciones estándar de flavonoides en cáscara, semilla con piel y aceite de la *P. serotina*. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

En este caso, la semilla de almendra *P. serotina* en comparación con otras semillas oleaginosas como, anacardo, avellana, nuez pecana, piñón, pistache y nuez, con 0.02, 0.12, 0.34, 0.005, 0.18 y 0.03 mg de flavonoides/g muestra, respectivamente, puede llegar a tener de 2 a 154 veces mayor contenido de flavonoides totales (Bolling et al. 2011). Sin dejar de lado, que el aceite de *P. serotina* a diferencia de otros aceites vegetales como aceite de oliva extra virgen en su versión deshuesada y sin deshuesar (0.11 ± 0.01 y 0.03 ± 0.003 mg equivalentes de catequinas/g muestra, respectivamente), puede tener de 3 a 12 veces mayor contenido de flavonoides totales en su composición (0.33 ± 0.01 mg equivalentes de catequinas/g muestra) (Restuccia et al. 2011).

6.2.3 Actividad antioxidante

Los compuestos fenoles y flavonoides son moléculas que frecuentemente presentan actividad antioxidante. Efecto que se determinó mediante dos análisis colorimétricos (DPPH y ABTS) en almendra *P. serotina*, comparando sus resultados con los de *P. dulcis* (Tabla 8).

Entre los resultados destaca el obtenido en aceite de *P. serotina*, pues fue el que obtuvo mayor actividad antioxidante en ambos métodos, también reflejado en el porcentaje de inhibición del radical. Empleando el método DPPH, el porcentaje de inhibición del radical

($12.94 \pm 0.67 \%$) del aceite *P. serotina* fue 1.82 veces mayor que en aceite *P. dulcis* ($7.12 \pm 1.11 \%$). Mientras que con el método ABTS, su capacidad antioxidante ($17\ 888.89 \pm 1\ 537.34 \mu\text{M}$ equivalentes de Trolox/g de aceite) fue hasta 2.4 veces mayor. Y en comparación con otros aceites vegetales como aceite de oliva extra virgen (8.80%), el aceite de *P. serotina* alcanza un % de inhibición de radical DPPH 1.4 veces mayor (Ramadan y Moersel 2006).

Tabla 8. Capacidad antioxidante de compuestos de almendra *P. serotina* comparado con *P. dulcis*.

Alimento	Muestra	ABTS	%	DPPH	%
		$\mu\text{M eq. Trolox/g muestra}$	Inhibición de radical	$\mu\text{M eq. Trolox/g muestra}$	Inhibición de radical
<i>P. serotina</i>	Cáscara	$1527.78 \pm$	$10.77 \pm$	$568.45 \pm$	$7.04 \pm$
		$268.69_{c,d}$	1.89_b	22.47_c	0.28_c
	Semilla	$1229.17 \pm$	$8.66 \pm$	$562.50 \pm$	$6.97 \pm$
	con piel	587.78_d	4.14_b	49.71_c	0.62_c
	Aceite	$17888.89 \pm$	$31.52 \pm$	$4178.57 \pm$	$12.94 \pm$
		1537.37_a	2.71_a	217.24_a	0.67_a
<i>P. dulcis</i>	Semilla	$3819.44 \pm$	$26.92 \pm$	$803.57 \pm$	$9.96 \pm$
	con piel	552.90_c	3.90_a	85.17_c	1.06_b
	Aceite	$7555.56 \pm$	$13.31 \pm$	$2297.62 \pm$	$7.12 \pm$
		1131.41_b	1.99_b	359.52_b	1.11_c

Los valores son el promedio de tres repeticiones \pm desviaciones estándar de actividad antioxidante en cáscara, semilla con piel y aceite de la *P. serotina* y *P. dulcis*. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

6.3 Harina de almendra

El rendimiento de las harinas con aceite de *P. dulcis* fueron hasta 2 veces mayor en sus versiones con y sin piel ($68.61 \pm 6.06 \%$ y $73.95 \pm 0.24 \%$, respectivamente) en comparación a las harinas con aceite de *P. serotina* ($35.82 \pm 0.31 \%$ con piel y $45.00 \pm 5.33 \%$ sin piel). Mientras que la versión de *P. serotina* sin aceite presentó hasta 1.99 veces

mayor rendimiento ($71.29 \pm 4.36 \%$) que sus versiones con aceite y un valor de rendimiento muy cercano al que obtuvo la harina sin piel de *P. dulcis*.

La presencia de piel en las harinas afecto en ambos géneros de *Prunus* el rendimiento, debido a que tanto la piel como el aceite bloquearon y obstruyeron los poros del tamiz.

6.3.1 Tamaño de partícula

Al comparar el tamaño de partícula entre las variedades de harinas *Prunus*, se puede observar en Tabla 9 que en sus versiones de harina con piel presentaron mayor tamaño de partícula en contraste con sus versiones sin piel.

La harina de *P. dulcis* en ambas versiones obtuvo menor tamaño de partícula en comparación con las harinas de *P. serotina*. A pesar de esto, las versiones con aceite y piel y sin aceite con piel de *P. serotina* presentaron valores más pequeños que la harina comercial de trigo (*Triticum spp.*) con $7.31 \mu\text{m}$.

La AOAC 965.22 estipula que la harina de trigo debe poder pasar a través de un tamiz No. 70 de 212 micras para su venta. A pesar de que el proceso de elaboración de estas harinas no empleo un tamiz con esa numeración, al presentar un tamaño final menor a la harina control de trigo pueden considerarse de igual manera aptas para uso comercial.

Tabla 9. Tamaño de partícula de harinas *P. serotina* comparado con *P. dulcis* y *Triticum spp.*

Tipo de almendra y trigo	Versión de Harina	Tamaño de partícula
		D _{4,3} (μm)
<i>P. serotina</i>	Con aceite y piel	$24.58 \pm 0.04_f$
	Con aceite sin piel	$5.64 \pm 0.05_c$
	Sin aceite con piel	$5.10 \pm 0.03_b$
<i>P. dulcis</i>	Con aceite y piel	$16.5 \pm 0.16_e$
	Con aceite sin piel	$3.18 \pm 0.05_a$
<i>Triticum spp.</i>	Sin aceite sin piel	$7.31 \pm 0.01_d$

Los valores son el promedio de cinco repeticiones \pm desviaciones estándar del tamaño de partícula de las harinas *P. serotina*, *P. dulcis* y *Triticum spp.* Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

6.3.2 Composición proximal

Las tres versiones de harina de *P. serotina* fueron comparadas con una harina control, que en este caso fue la versión con aceite y piel de *P. dulcis*. Como se puede observar en Tabla 10 las cuatro harinas presentaron un contenido similar de humedad, cumpliendo con lo estipulado por el Codex Standard 152-1985.

En el caso de cenizas totales, la versión sin aceite de *P. serotina* presentó hasta 1.5 veces mayor contenido que la harina control. Respecto al extracto etéreo, las versiones con aceite tuvieron un 10 y 18 % (sin piel y con piel, respectivamente) menor contenido, con respecto a la harina de *P. dulcis*. Los valores en estas versiones fueron similares a lo reportado por Raya Pérez et al. (2012), donde mencionan que el contenido lipídico puede variar entre 41.2 hasta 49 % dependiendo la zona de México de donde haya provenido el Capulín.

La versión sin aceite de *P. serotina* tuvo 13.23 veces menor contenido de extracto etéreo en comparación con la harina control, debido al mismo proceso por el que fue sometido para su elaboración. Lo cual terminó favoreciendo su contenido proteico, reportando un valor de 50.94 ± 0.64 %, éste aumentó hasta 2.12 veces en contraste con las versiones con aceite. Sin embargo, las tres harinas de Capulín tuvieron mayor porcentaje de proteína bruta que la *P. dulcis*. García Aguilar et al. (2015) reportan un valor similar para la *P. serotina* con aceite y piel.

La harina con aceite y piel de *P. serotina* fue la que obtuvo mayor porcentaje de fibra cruda y menor contenido de extracto libre de nitrógeno (ELN). Mientras que la harina sin aceite con piel tuvo el mayor contenido de ELN, siendo casi el doble que la harina control; un valor muy similar de fibra cruda a la *P. dulcis* y fue la harina con menor contenido calórico.

En base al análisis de varianza que se realizó (SPSS Statistics 21.0, IBM 2012) se obtuvo que existe diferencia significativa con un $\alpha = 0.05$ entre la presencia o ausencia de piel respecto al porcentaje de cada nutriente en las harinas.

Tabla 10. Composición nutrimental de harinas de *P. serotina* comparado con *P. dulcis*.

Almendra	Tipo de harina	% Humedad	% Cenizas totales	% Extracto etéreo	% Proteína bruta	% Fibra cruda	% ELN	Kcal totales
<i>P. serotina</i>	Con aceite y piel	3.78 ± 0.07 _c	3.08 ± 0.06 _a	44.75 ± 0.38 _b	36.48 ± 0.41 _b	5.78 ± 0.38 _a	9.92 ± 0.33 _a	391.09 ± 2.70 _b
	Con aceite sin piel	3.07 ± 0.13 _{a,b}	2.76 ± 0.13 _a	49.53 ± 0.19 _c	23.93 ± 0.50 _c	2.46 ± 0.06 _c	21.32 ± 0.44 _c	626.78 ± 0.60 _c
	Sin aceite con piel	2.58 ± 0.09 _a	5.36 ± 0.24 _c	3.36 ± 0.31 _a	50.94 ± 0.64 _a	4.03 ± 0.27 _b	36.48 ± 1.09 _d	379.90 ± 0.54 _a
	<i>P. dulcis</i>	Con aceite y piel	3.13 ± 0.14 _b	3.49 ± 0.13 _b	54.54 ± 0.21 _d	19.58 ± 0.22 _d	3.97 ± 0.58 _b	15.77 ± 1.08 _b

Los valores son el promedio de tres repeticiones ± desviaciones estándar de las harinas *P. serotina* y *P. dulcis* en base seca. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

6.3.3 Propiedades funcionales

Dentro de las variedades de *P. serotina*, la harina sin aceite con piel presentó mayor capacidad de absorción de agua, con valor de 3.21 ± 0.49 g agua/g muestra, haciéndola 2.5 veces mayor que la harina control de trigo (Tabla 11).

Todas las variedades de harina de *P. serotina* tuvieron mayor capacidad emulsionante que la harina de trigo, superándola hasta en 4 veces su valor. Únicamente la versión de *P. serotina* con aceite sin piel pudo igualar el valor obtenido de capacidad gelificante de la harina control con 18 ± 0.00 %. Mientras que, en capacidad de hinchamiento las dos versiones con aceite de *P. serotina* fueron las de valor más alto, superando 3.5 veces a la harina de trigo.

Por medio de análisis de varianza se obtuvo que existe diferencia significativa con un $\alpha = 0.05$ entre la presencia de piel y las propiedades funcionales.

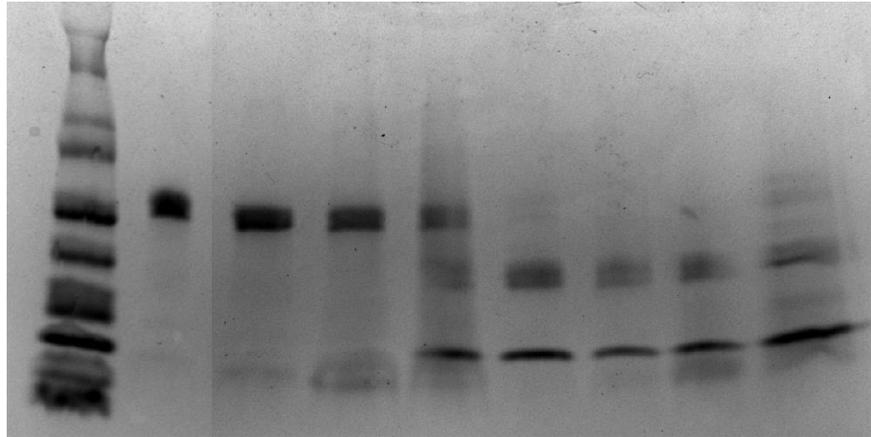
Tabla 11. Propiedades funcionales de harinas de *P. serotina* comparado con *P. dulcis* y *Triticum spp.*

Muestra	Tipo de harina	Absorción de agua (g agua/g muestra)	Absorción de aceite (g aceite/g muestra)	% Capacidad emulsionante	% Capacidad gelificante	Capacidad de hinchamiento (ml/g muestra)	% Capacidad espumante
<i>P. serotina</i>	Con aceite y piel	0.36 ± 0.05 _d	1.08 ± 0.04 _e	57.93 ± 0.49 _a	10.00 ± 0.01 _e	6.44 ± 0.32 _a	3.30 ± 1.09 _b
	Con aceite sin piel	0.46 ± 0.09 _d	0.95 ± 0.05 _f	58.67 ± 1.49 _a	18.00 ± 0.00 _b	7.18 ± 0.64 _a	6.33 ± 1.45 _{a,b}
	Sin aceite con piel	3.21 ± 0.49 _a	1.62 ± 0.07 _b	57.74 ± 1.07 _a	20.00 ± 0.00 _a	1.50 ± 0.66 _d	1.96 ± 0.16 _c
	Con aceite y piel	1.76 ± 0.02 _b	1.37 ± 0.00 _d	54.83 ± 2.09 _a	16.00 ± 0.02 _c	3.00 ± 0.48 _b	6.66 ± 1.73 _a
<i>P. dulcis</i>	Con aceite sin piel	0.24 ± 0.01	1.52 ± 0.02 _c	59.6 ± 2.63 _a	11.00 ± 0.01 _d	2.38 ± 0.05 _c	2.98 ± 0.98 _b
	Sin aceite sin piel	1.26 ± 0.13 _c	1.88 ± 0.08 _a	14.68 ± 2.12 _b	18 ± 0.00 _b	2.04 ± 0.48 _{c,d}	5.80 ± 1.66 _{a,b}
<i>Triticum spp</i>	Sin aceite sin piel	1.26 ± 0.13 _c	1.88 ± 0.08 _a	14.68 ± 2.12 _b	18 ± 0.00 _b	2.04 ± 0.48 _{c,d}	5.80 ± 1.66 _{a,b}

Los valores son el promedio de tres repeticiones ± desviaciones estándar de las propiedades funcionales de las harinas *P. serotina*, *P. dulcis* y *Triticum spp.* Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

6.3.4 Peso molecular de proteínas solubles

En cuanto al patrón electroforético de proteínas de la harina sin aceite de capuli, se puede observar en Figura 8 que en la albumina el peso molecular varió de 63 a 20 kDa (carril 2 y 6), en globulinas varió entre 63 y 20 kDa (carril 3 y 7), en prolaminas abarcó entre 60 y 20 kDa (carril 4 y 8) y en glutelinas entre 60 y 12 kDa (carril 5 y 9).



1. Marcadores de peso molecular, carriles 2 a 5 (con 2-mercaptoetanol); 2. Albumina; 3. Globulina; 4. Prolamina; 5. Glutelina. Carriles 6 a 9, como carriles 2 a 5 pero sin 2-mercaptoetanol.

Figura 8. Perfiles electroforéticos de fracciones proteicas de harina sin aceite de Capulín.

Estos valores son muy similares a lo reportado por Raya Pérez et al. (2012), donde mencionan que en la semilla sin aceite de *P. serotina* el peso de albumina varió entre 65 y 20 kDa, globulinas entre 65 y 14 kDa y prolaminas y glutelinas entre 65 y 12 kDa.

Las albúminas y globulinas son las principales proteínas de almacenamiento en plantas dicotiledóneas (legumbres y semillas oleaginosas), mientras que las prolaminas y glutelinas son importantes en plantas monocotiledóneas (cereales). Como se esperaba de una fuente de nitrógeno, las proteínas de almacenamiento son ricas en asparagina (y aspartato), glutamina (y glutamato) y arginina (González Pérez et al. 2009), como es el caso de la semilla *P. serotina* según lo reportado por García Aguilar et al. (2015) en Tabla 12.

Tabla 12. Composición de aminoácidos en semillas crudas y tostadas de *P. serotina*

Aminoácidos	Semillas crudas Proteína (mg/g)	Semillas tostadas Proteína (mg/g)
Asparagina	112.29	116.97
Glutamina	256.84	273.73
Serina	32.84	42.11
Histidina	21.60	21.29
Glicina	37.43	38.82
Treonina	52.85	59.16
Arginina	84.24	87.42
Alanina	41.47	44.06
Tirosina	48.75	60.99
Metionina	8.93	9.83
Valina	45.48	45.62
Fenilalanina	48.64	52.00
Isoleucina	39.17	40.33
Leucina	75.10	82.11
Lisina	8.85	11.17

Todos los valores fueron consultados en <https://www.mdpi.com/1420-3049/20/2/3479/htm>. El triptófano no fue determinado. Los aminoácidos se analizaron mediante un autoanalizador HPLC (Waters 2487, Millipore MA, EE. UU.)

6.4 Concentrado de proteína de almendra

6.4.1 Punto isoeléctrico

El punto isoeléctrico (pI) de un aminoácido, es el valor de pH al cual el aminoácido se encuentra doblemente ionizado o en concentración de zwitterión (iones híbridos) y se calcula de la ecuación de Henderson-Hasselbach, como promedio de los valores de pK de las etapas que forman y descomponen el zwitterión (ión híbrido). El punto de intersección de la curva de calibración con el eje x es el valor de pI de la proteína (Lopez Medina 2014; Jia et al. 2011).

Como resultado de la medición de conductividad a diferentes pH en la harina sin aceite de *P. serotina* (Figura 9), se encontró que el pI para esta almendra fue 3.7, pudiendo atribuir este valor al alto contenido de aminoácidos ácidos presentes en la composición de la semilla *P. serotina* (ácido aspártico 112.29 mg/g y glutamina 256.84 mg/g), lo cual influyó en el bajo valor del pI (García Aguilar et al. 2015). Además, este valor se encuentra dentro del rango óptimo para la precipitación de proteínas oleaginosas como el cacahuete (4.0 ± 0.25), coincidiendo con lo que otros investigadores han reportado (Ferreyra et al. 2007).

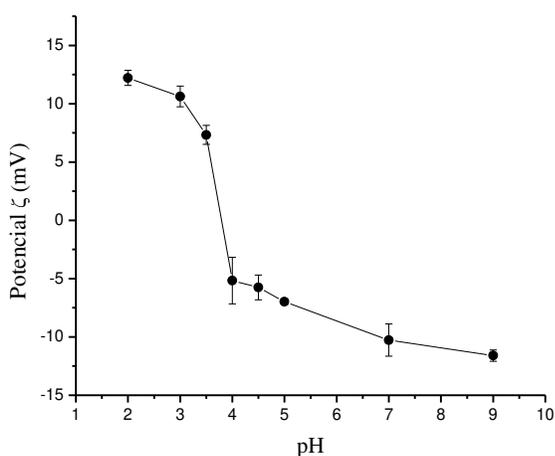


Figura 9. Punto isoeléctrico (pI) de harina sin aceite de *P. serotina*.

6.4.2 Contenido de proteína

La harina sin aceite de *P. serotina* se sometió a diferentes tratamientos hasta obtener valores de proteína suficientes para que el producto resultante pudiera entrar en categoría de concentrado proteico. Esto mediante un proceso que fuera repetible, estandarizado y por ende confiable.

Los tratamientos se fueron ajustando y realizando conforme los resultados se iban obteniendo y de acuerdo con la disponibilidad de tiempo. Usualmente para solubilizar proteína a partir de harina de semilla de oleaginosas, se emplean soluciones alcalinas por el alto grado de solubilidad que se puede obtener. Soluciones con pH de 9 a 12 tienen mayores rendimientos proteicos. Sin embargo, en valores de pH 12 y superiores no siempre se producen aislados de mejor calidad (Arntfield 2018).

Las sales incrementan la solubilidad por medio del proceso salting-in, donde contra iones recubren las cargas iónicas de moléculas de proteína (Universidad Nacional de Quilmes 2015). El NaCl es la solución salina más frecuente como agente solubilizante, y la combinación de álcali y sal a menudo se utilizan para mejorar la solubilidad de proteínas (Arntfield 2018).

En Tabla 13 se puede observar los primeros resultados de haber tratado la harina sin aceite de capuli con pH alcalino seguido de interacción con solución salina, a diferentes tiempos y número de extracciones, con la finalidad de extraer y recuperar el mayor contenido proteico del residuo de la harina.

Tabla 13. Contenido de proteína en residuo de harina de *P. serotina*.

Muestra	No. de extracciones	Tiempo de extracción	Relación Harina:NaCl (pH 11)	Contenido de proteína (%) en residuo
Harina sin aceite de <i>P. serotina</i>	1	30 min	1:20	$51.94 \pm 4.21_d$
		1 h		$36.07 \pm 3.47_c$
2	30 min	$22.06 \pm 1.34_b$		
	1 h	$13.30 \pm 0.39_a$		

Los valores son el promedio de tres repeticiones \pm desviaciones estándar de proteína bruta presente en la harina sin aceite de *P. serotina*. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

Y se obtuvo que la muestra que fue sometida a dos extracciones de una hora cada una con NaCl a una relación 1:20 (p/v) a pH 11 tuvo menor remanente de proteína, lo cual indicaría que este proceso permite recolectar mayor cantidad de proteína en sobrenadante. Por lo cual se prosiguió a intentar recuperar esa proteína.

El enfoque más común para recuperar las proteínas solubilizadas es precipitar la proteína con ajuste de pH. En el caso del cacahuate algunos autores usan pH 4.5 (Arntfield 2018; Universidad Nacional de Quilmes 2015), mientras que otros investigadores mencionan que el pH óptimo para precipitar la proteína de cacahuate se puede observar dentro de la

región isoelectrica entre valores de pH 3.0 a 5.0 (Ferreyra et al. 2007). Tomando lo anterior de guía y en base a los resultados obtenidos en la determinación del pI de la harina sin aceite de *P. serotina*, se emplearon los siguientes pH para precipitar proteínas del sobrenadante: 4.5, 3.7 y 3.0, obteniéndose los resultados de Tabla 14.

Tabla 14. Contenido de proteína en precipitado final de harina *P. serotina*. con pH ácido.

Muestra	No. de extracciones	Tiempo de extracción	Relación Harina:NaCl (pH 11)	pH para precipitar	Contenido de proteína (%)
Harina sin aceite de <i>P. serotina</i>	2	1 h	1:20	4.5	56.77 ± 9.20 _b
				3.7	66.96 ± 1.21 _{a,b}
				3.0	72.02 ± 5.01 _a

Los valores son el promedio de tres repeticiones ± desviaciones estándar de proteína bruta presente en la harina sin aceite de *P. serotina*. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

Como se puede observar en la tabla anterior, el contenido final de proteína bruta que fue precipitada del sobrenadante recolectado no alcanzó los valores de proteína que se estaban buscando ($\geq 80\%$ y $\leq 90\%$). Esto se puede atribuir a que, a una fuerza iónica elevada, las proteínas pueden ser casi completamente precipitadas de su disolución provocando insolubilización por salado (salting-out), debido a una deshidratación en las moléculas de proteína, reduciendo así su solubilidad (Universidad Nacional de Quilmes 2015). Por ello se hicieron cambios en el número y tiempo de extracción, así como en la relación Harina:NaCl. A la par, se hicieron pruebas con harina sin aceite donde esta interactuó únicamente con una solución alcalina a pH 11 y enseguida el sobrenadante fue acidificado para identificar que pH ácido era más efectivo, obteniéndose los resultados de Tabla 15 y 16.

Tabla 15. Contenido de proteína en precipitado final de harina *P. serotina* con variaciones de NaCl y pH.

Muestra	No. de extracciones	Tiempo de extracción	Relación Harina:NaCl (pH 11)	pH para precipitar	Contenido de proteína (%)
Harina sin aceite de <i>P. serotina</i>	1	30min	1:12	4.5	73.47 ± 0.92 _{a,b}
				3.0	75.37 ± 2.86 _a
			1:6	3.7	66.30 ± 7.80 _b
				3.0	70.78 ± 4.50 _{a,b}
			1:3	3.0	69.15 ± 3.07 _{a,b}

Los valores son el promedio de tres repeticiones ± desviaciones estándar de proteína bruta presente en la harina sin aceite de *P. serotina*. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

Tabla 16. Contenido de proteína en precipitado final de harina *P. serotina* sin uso de NaCl.

Muestra	pH ácido para solubilizar proteína	Contenido de proteína (%)
Harina sin aceite de <i>P. serotina</i>	4.5	63.99 ± 6.63 _b
	3.7	76.66 ± 7.36 _{a,b}
	3.0	81.99 ± 6.96 _a

Los valores son el promedio de tres repeticiones ± desviaciones estándar de proteína bruta presente en la harina sin aceite de *P. serotina*. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

En Tabla 15 se puede observar que, a pesar de haber disminuido el número y tiempo de extracción, así como la relación de solución salina con muestra, los resultados no fueron favorecedores y no alcanzaron el valor deseado de proteína. Sin embargo, los resultados obtenidos al momento de precipitar los sobrenadantes a pH 3.0 en comparación con los otros valores de pH (4.5 y 3.7), arrojan resultados más elevados. Lo cual se corrobora al tratar de obtener el concentrado de proteína por acidificación directa, donde no solo se

observa en Tabla 16 que a pH 3.0 hay mejores resultados, sino que ya se obtiene un valor de concentrado proteico ($81.99 \pm 6.96 \%$).

Con la finalidad de que el proceso se pudiera estandarizar, fuese repetible y confiable, se analizó otras dos muestras más de harina sin aceite de *P. serotina* (con sus triplicados) y los resultados de las tres pruebas se recopilaron en Tabla 17.

Tabla 17. Contenido de proteína en precipitado final de harina *P. serotina* sin uso de NaCl.

Muestra	pH ácido para solubilizar proteína	Contenido de proteína (%)	Valor promedio de contenido proteico (%)
Harina desgrasada de <i>P. serotina</i>	3.0	81.99 ± 6.96	81.44 ± 7.74
	3.0	80.31 ± 9.36	
	3.0	82.03 ± 6.12	

Los valores son el promedio de tres repeticiones \pm desviaciones estándar de proteína bruta presente en la harina sin aceite de *P. serotina*.

El tratamiento por medio del proceso de acidificación directa fue el más efectivo para obtención de concentrado proteico, dando un valor promedio de $81.44 \pm 7.74 \%$, permitiendo con este valor su clasificación como concentrado, con un rendimiento del $95.80 \pm 3.54 \%$.

6.4.3 Propiedades funcionales

El concentrado de proteína de Capulín destacó por su capacidad emulsionante con un $62.00 \pm 0.40 \%$, el cual fue 6.8 % mayor que su predecesor la harina sin aceite ($57.74 \pm 0.64 \%$) y por su capacidad espumante ($9.23 \pm 2.40 \%$), así como de hinchamiento (1.99 ± 0.00 mL/g), siendo 4.7 y 1.3 veces mayor, respectivamente, que la harina de *P. serotina* sin aceite (Tabla 18).

Andrade et al. (2012) y Yusuf et al. (2008) establecen que el poder de hinchamiento está relacionado a la presencia de aminoácidos polares en las proteínas, quienes tienen afinidad por moléculas de agua (Vegas et al. 2017). Y la almendra de capuli está conformada por

varios aminoácidos polares como glicina, serina, treonina, tirosina, asparagina, glutamina, arginina e histidina (García Aguilar et al. 2015).

Tabla 18. Propiedades funcionales del concentrado proteico de *P. serotina*.

Muestra	Absorción de agua (g agua/g muestra)	Absorción de aceite (g aceite/g muestra)	% Capacidad emulsionante	% Capacidad gelificante	Capacidad de hinchamiento (ml/g muestra)	% Capacidad espumante
Concentrado proteico de <i>P.</i> <i>serotina</i>	0.09±	0.14 ±	62.00 ±	8.00 ±	1.99 ±	9.23 ±
	0.01 ^b	0.02 ^b	0.40 ^a	0.00 ^b	0.00 ^a	2.40 ^a
Harina de <i>P.</i> <i>serotina</i> sin aceite con piel	3.21 ±	1.62 ±	57.74 ±	20.00 ±	1.50 ±	1.96 ±
	0.49 ^a	0.07 ^a	1.07 ^b	0.00 ^a	0.66 ^b	0.16 ^b

Los valores son el promedio de tres repeticiones ± desviaciones estándar de las propiedades funcionales del concentrado proteico de *P. serotina*. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

6.5 Galletas

6.5.1 Prueba de Grignard

El experimento mostró que en el caso del alimento control (almendra fraccionada sin tratamiento) el papel impregnado con ácido pícrico cambió de amarillo a color naranja intenso, lo cual indicó que el alimento podía consumirse, pero con precaución. Mientras que el papel de harina de *P. serotina* con tratamiento, el color amarillo se mantuvo igual; esto indicó que no había problemas de consumo (Figura 10).

El rendimiento de harina obtenido después del tratamiento por el cual fue sometido para eliminar el ácido cianhídrico (HCN) fue 71.07 ± 2.10 % (similar a la harina sin aceite con piel).



a): Almendra control; b): Harina con tratamiento

Figura 10. Comparación de papeles péricos de harina *P. serotina* con almendra fraccionada

6.5.2 Evaluación sensorial

Los efectos de la adición de harina de *P. serotina* se muestran en Tabla 19. Se encontró una disminución en las calificaciones de todos los atributos sensoriales, incluyendo impresión global de las galletas con la adición de harina de *P. serotina*. Sin embargo, la cantidad máxima de harina de *P. serotina* aceptada por los panelistas en las galletas fue de 75 % (F2) en base al valor obtenido en la categoría de impresión global, aunque la formulación con mayor aceptabilidad (dentro de las opciones con harina *P. serotina*) fue la sustituida en 50 % (F3).

Tabla 19. Efectos de harina de *P. serotina* en atributos sensoriales de galletas.

Muestra	Color	Olor	Sabor	Textura	Apariencia	Sensación en boca	Regusto/Aftertaste	Impresión Global
Fc	7.38 ± 2.01 _a	7.43 ± 1.78 _a	7.38 ± 1.70 _a	7.33 ± 1.88 _a	7.49 ± 1.99 _a	7.33 ± 1.76 _a	6.89 ± 1.72 _a	7.45 ± 1.54 _a
F1	4.49 ± 2.01 _c	4.81 ± 1.99 _c	2.55 ± 1.55 _c	3.95 ± 1.96 _c	4.56 ± 2.08 _c	3.16 ± 1.61 _c	2.89 ± 1.71 _c	3.27 ± 1.72 _c
F2	5.93 ± 2.03 _b	6.04 ± 2.03 _b	5.73 ± 2.18 _b	5.73 ± 1.92 _b	5.78 ± 2.01 _b	5.39 ± 2.34 _b	5.27 ± 2.16 _b	5.84 ± 1.79 _b
F3	6.96 ± 1.49 _{a,b}	6.59 ± 1.46 _{a,b}	5.53 ± 1.74 _b	5.76 ± 1.73 _b	6.85 ± 1.42 _a	5.69 ± 1.76 _b	5.60 ± 2.12 _b	6.31 ± 1.60 _b
F4	6.91 ± 1.97 _{a,b}	6.48 ± 1.77 _{a,b}	6.07 ± 2.14 _b	6.65 ± 1.67 _{a,b}	6.78 ± 1.82 _{a,b}	6.05 ± 2.04 _b	5.78 ± 2.15 _b	6.18 ± 1.88 _b

Los valores son el promedio de cincuenta y cinco repeticiones ± desviaciones estándar de los atributos sensoriales de las galletas de harina de *P. serotina* y trigo comercial. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

Los resultados obtenidos en la evaluación demuestran que las galletas que se elaboraron con 75 a 25 % harina de *P. serotina* (F2 y F4) recibieron calificación mayor a cinco en impresión global, haciéndolas por consecuencia aceptables. Estas galletas tuvieron mayor aceptación en comparación con otras galletas elaboradas a base de almendra californiana (*P. dulcis*), las cuales tuvieron aceptación máxima a un 20 % de sustitución, con valor de 5.25 en impresión global (Jia et al. 2011).

6.5.3 Composición nutrimental

En base a los resultados obtenidos en la prueba sensorial, se decidió realizar el análisis proximal a la fórmula control (100 % harina de trigo) por haber sido la de mayor predilección por parte de los panelistas y a las galletas que fueron sustituidas en un 50 y 25 % con harina de *P. serotina* (F3 y F4) por obtener la mayor calificación en la categoría

de impresión global dentro de las opciones de galletas elaboradas con *P. serotina*, obteniendo los resultados de Tabla 20.

Tabla 20. Efecto de harina *P. serotina* en composición nutrimental de galletas comparadas con harina de trigo.

Galleta	% Extracto etéreo	% Proteína bruta	% Fibra cruda	% ELN	Kcal totales
Fc	68.08 ± 0.29 _a	0.71 ± 0.0 _c	0.00 ± 0.0 _a	31.20 ± 0.05 _a	7.76 ± 2.56 _c
F3	61.94 ± 0.27 _a	12.5 ± 0.03 _a	0.93 ± 0.0 _a	24.63 ± 0.05 _c	8.22 ± 2.31 _a
F4	58.48 ± 0.27 _a	11.79 ± 0.02 _b	0.88 ± 0.0 _a	28.85 ± 0.08 _b	8.50 ± 2.36 _b

Los valores son el promedio de tres repeticiones ± desviaciones estándar de la composición nutrimental de las galletas. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

Las galletas que fueron elaboradas con harina de *P. serotina* destacaron por contener fibra. Además, su contenido de proteína fue hasta 17 veces mayor que las galletas con harina de trigo (Fc). Con respecto al ELN o carbohidratos, éstas presentaron 6.57 % y 2.35 % menor contenido, y 6.14 % y 9.6 % menor de extracto etéreo (F3 y F4, respectivamente) en comparación con las galletas control.

Además, se puede decir que las galletas elaboradas con un 50 y 25 % de harina de *P. serotina* tienen un menor contenido de gluten en comparación con las galletas control, ya que las almendras son de las mejores fuentes vegetales de proteína libre de gluten y de los ingredientes más populares en elaboración de alimentos libre de gluten, convirtiéndose en una alternativa saludable para personas con enfermedad celiaca (Ricciardi 2016).

6.6 Emulsiones

6.6.1 Índice de estabilidad y actividad emulsionante

Las partículas de proteína tienen buenas propiedades emulsionantes y un gran potencial para formar partículas blandas (Sillero 2006). La capacidad de una proteína para formar una emulsión se puede definir como un índice de actividad emulsionante (IAE), que

determina aproximadamente la cantidad de área interfacial que se puede estabilizar por unidad de cantidad de proteína. Mientras que la estabilidad de la emulsión durante un periodo de tiempo específico se denomina índice de estabilidad emulsionante (IEE) (Tirgar et al. 2017).

El IAE aumentó conforme lo hizo la fracción másica en emulsiones con CPPs (Figura 11). El efecto fue similar en emulsiones control. Por el contrario, en el IEE a medida que aumentó la fracción másica, el tiempo de estabilidad disminuyó.

En emulsiones con CPPs el IEE fue de 117.50 ± 2.17 (ϕ 0.002) a 29.34 ± 1.48 min (ϕ 0.4) y en emulsiones con WPC de 95.83 ± 7.95 (ϕ 0.002) a 19.87 ± 1.08 min (ϕ 0.4). Las emulsiones control siempre manifestaron menor tiempo de estabilidad en comparación con las elaboradas con CPPs.

Diferentes autores han reportado características similares en proteínas de almendras, gluten de trigo y subunidades ácidas de soya (globulina 11S) (Sze Tao y Sathe 2000; Flourey et al. 2000).

Guo y Mu (2011) también obtuvieron resultados similares, estudiaron las propiedades emulsionantes de proteína de camote y descubrieron que a bajas concentraciones de proteína (< 1 %, p/v) los valores de IAE son mayores, ya que facilita la formación de nuevas gotas, y con el aumento del aceite el valor del IEE disminuye. Sin embargo, a volúmenes de aceite > 35 % v/v, hay un marcado aumento en el IEE, un fenómeno que también ha sido reportado por Sun y Gunasekaran (2009) para aislados de proteína de suero.

El IAE puede relacionarse con el efecto interfacial y una baja interacción con soluciones acuosas.

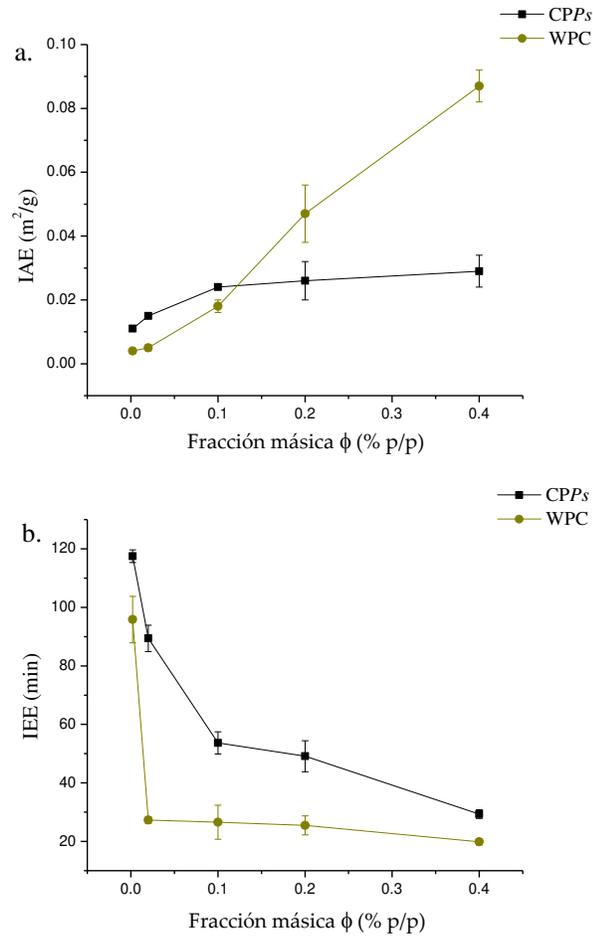


Figura 11. Índice de actividad y estabilidad emulsionante en emulsiones con CPPs comparadas con WPC.

6.6.2 Concentrado de proteína en interfase

El análisis de la concentración de proteína en interfase muestra la separación de fases de las gotas de aceite después de haber sido centrifugadas. Los valores sugieren que las emulsiones fueron estables. Cuando se utilizó valores de $\phi < 0.2$, fue difícil separar las fases y reportar los valores.

La tabla 21 muestra los resultados de las emulsiones con ϕ 0.2 y 0.4. Las emulsiones control con WPC mostraron que a medida que aumentó el peso del aceite, el contenido de proteínas en interfase disminuyó.

Tabla 21. Concentración de proteína en interfase de emulsiones con CPPs comparado con WPC.

Muestra	Fracción másica (Φ)	Concentrado de proteína en la interfase (mg/m^2)
CPPs	0.2	$0.009 \pm 0.0_c$
	0.4	$0.023 \pm 0.0_a$
WPC	0.2	$0.015 \pm 0.0_b$
	0.4	$0.014 \pm 0.0_b$

Los valores son el promedio de tres repeticiones \pm desviaciones estándar del contenido de proteína en la interfase. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

La concentración de proteína en interfase de emulsiones control fue más constante, en contraste con las de CPPs, que mostraron mayor valor a medida que aumentó el peso del aceite, lo que permitió mayor estabilidad. A bajas concentraciones de proteínas, la adsorción de proteínas en interfase aceite-agua está controlada por difusión y a altas concentraciones de proteínas, la barrera de energía de activación no permite que la migración de proteínas tenga lugar de manera dependiente de la difusión (Sze Tao y Sathe 2000).

6.6.3 Viscosidad

En base a las gráficas obtenidas de la prueba de viscosidad realizada (Figura 12), se puede observar que las emulsiones elaboradas con CPPs a ϕ 0.4 fueron más viscosas y demostraron tener comportamiento pseudoplástico, mientras que el resto de las emulsiones tuvieron comportamiento newtoniano y fueron menos viscosas.

Floury et al. (2000) menciona que las emulsiones que contienen menos del 20 % de aceite en la fase dispersa siguen un comportamiento Newtoniano por la baja interacción entre partículas. Mientras que emulsiones elaboradas con aceite entre un 20 y 50 % tienden a presentar adelgazamiento por corte, que puede atribuirse a la formación flóculos.

El comportamiento de adelgazamiento de emulsiones con mayor concentrado de aceite puede atribuirse a la formación de agrupamientos de gotas. Las suspensiones de gotas floculadas tienden a presentar comportamientos de adelgazamiento por corte pronunciados.

A bajas velocidades de corte, las fuerzas hidrodinámicas no son lo suficientemente grandes para romper los enlaces que mantienen las partículas juntas, por lo que los flóculos pueden actuar como gotas con un tamaño y forma fijos, con viscosidad constante. A medida que aumenta la velocidad de corte, las fuerzas hidrodinámicas pueden llegar a ser lo suficientemente grandes para que los flóculos se deformen y eventualmente se rompan causando un alargamiento y alineación con el campo de corte, provocando reducción de viscosidad (Floury et al. 2000).

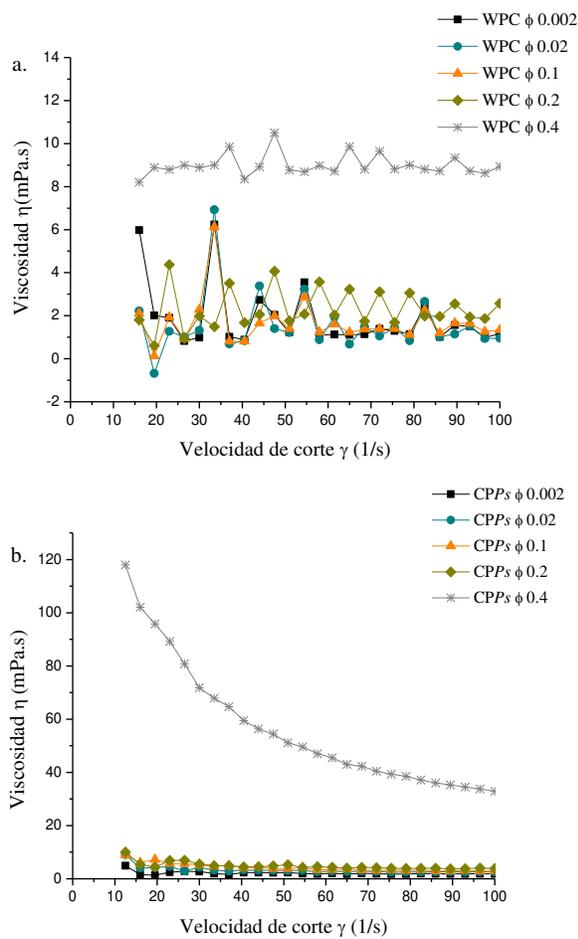


Figura 12. Viscosidad de emulsiones con CPPs comparadas con WPC a diferentes ϕ .

6.6.4 Tamaño de partícula

En Figura 13 se puede observar que las emulsiones con mayor contenido de aceite presentaron tamaño partícula más grande. A medida que pasaban los días, el tamaño de las partículas aumentó. En cada emulsión elaborada con CPPs, el valor máximo de tamaño de partícula se alcanzó a diferentes días, pero se consideró como promedio el día 10. Mientras que en emulsiones elaboradas con WPC el rango de días donde se alcanzó el tamaño más grande de partícula fue más estable, entre los días 6 y 12. El tamaño de partícula estuvo más disperso en la proteína de *P. serotina*.

La emulsión de CPPs a ϕ 0.02 presentó el tamaño de partícula $4.39 \pm 0.08 \mu\text{m}$ como su valor máximo, convirtiéndose en la emulsión más pequeña y constante durante el tiempo de estudio, y en la emulsión con WPC fue a ϕ 0.002, con valor de $2.20 \pm 0.20 \mu\text{m}$. Mientras que en las emulsiones control (WPC) y CPPs a ϕ 0.4, el tamaño de partícula tuvo el valor más alto de $6.88 \pm 0.11 \mu\text{m}$ (día 9) y $14.36 \pm 0.31 \mu\text{m}$ (día 15), respectivamente, durante el tiempo de estudio debido a la coalescencia.

Un tamaño de partícula pequeño es deseable en las emulsiones, porque están fuertemente correlacionadas con una alta estabilidad de emulsión (Tavernier et al. 2016). Autores como Pandolfe (1995) y Flourey et al. (2000) han reportado que a mayor porcentaje de aceite en emulsiones el diámetro medio de las gotas de grasa aumenta. Parte del efecto puede deberse a la limitación de los agentes tensioactivos en las emulsiones con mayor contenido de aceite, ya que a medida que aumenta el contenido de grasa, las proteínas disponibles disminuyen, limitando los beneficios estabilizadores de las proteínas, favoreciendo así la coalescencia de las gotas de aceite y, por lo tanto, aumenta el diámetro.

Sugerimos que la estabilidad de la emulsión se debe a la hidrofobicidad de la cadena de polipéptidos. El diámetro medio de las partículas en las emulsiones de alimentos puede variar de menos de $0.2 \mu\text{m}$ (para licores de crema) a más de $100 \mu\text{m}$ (para aderezos de ensaladas), dependiendo del producto (McClements y Decker 2000).

El resultado previamente obtenido de IAE puede relacionarse con el tamaño de partícula. A medida que aumentó el IAE, también lo hizo el tamaño de partícula de las emulsiones. Esto se puede atribuir a las proteínas, ya que son las moléculas de superficie activa con la capacidad de mejorar la estabilidad de emulsiones de aceite en agua, creando una

membrana protectora que genera interacciones repulsivas entre las gotas de aceite (Tavernier et al. 2016).

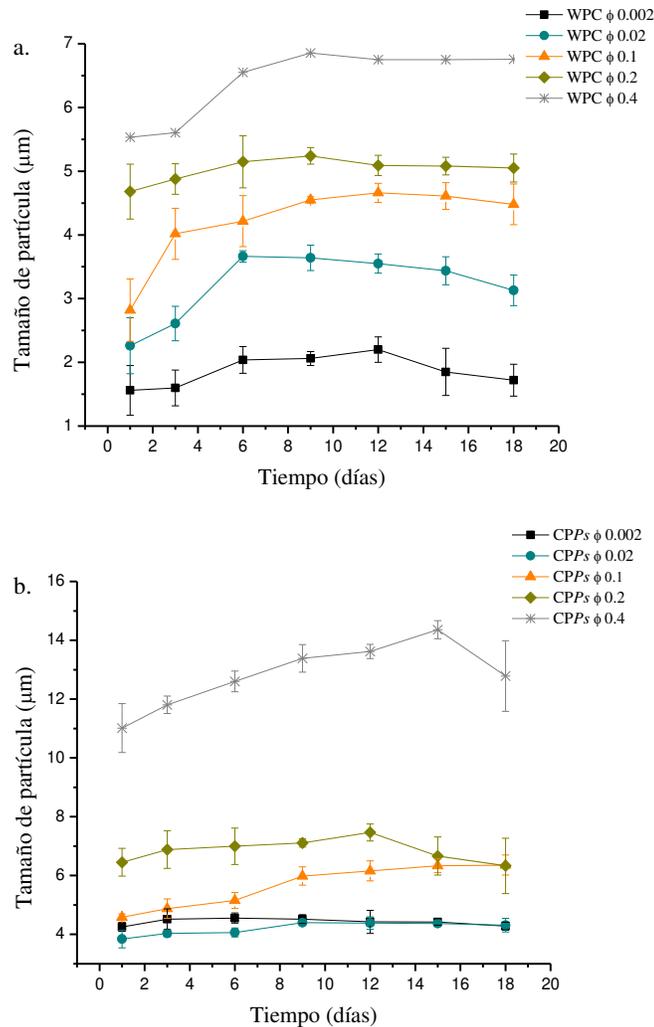


Figura 13. Tamaño de partícula ($D_{3,2}$) de emulsiones con CPPs comparadas con WPC a diferentes ϕ

6.6.5 Índice de cremado

Dentro de los mecanismos de desestabilización física de emulsiones además de la variación del tamaño de partícula se puede manifestar la desestabilización por medio de floculación, coalescencia e índice de cremado (Mirhosseini et al. 2008).

En el caso de las emulsiones control (WPC) la manera en que se comportó el índice de cremado fue similar al que se presentó en el tamaño de partícula, donde a mayor contenido de aceite, el porcentaje de cremado que se obtuvo fue mayor y conforme pasaron los días

éste se vio incrementado. Los mejores resultados se observaron en las emulsiones con ϕ 0.02 y 0.002 (Figura 14). Mientras que en emulsiones con CPPs, conforme avanzaron los días el porcentaje de cremado fue disminuyendo en todas las emulsiones. La emulsión con ϕ 0.002 fue la que obtuvo los valores más bajos a lo largo de los días de evaluación, coincidiendo en que las emulsiones con menor contenido de aceite lograron ser más estables.

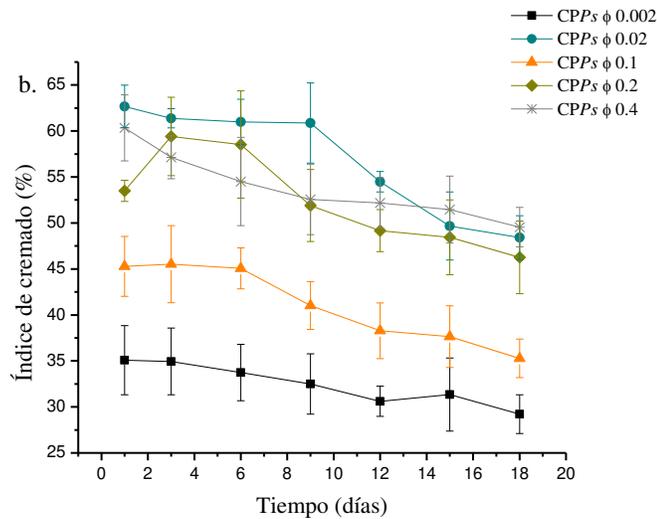
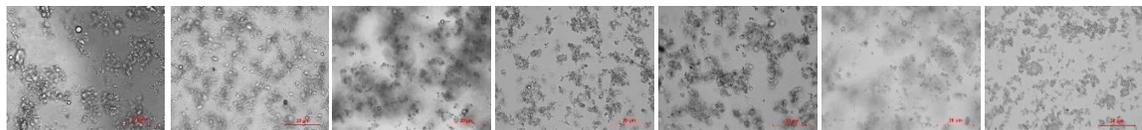


Figura 14. Índice de cremado de emulsiones con CPPs comparadas con WPC a diferentes ϕ .

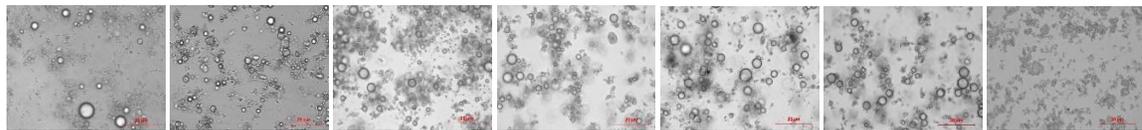
6.6.6 Microscopia óptica

La microscopia de las emulsiones con CPPs y WPC se muestran en Figura 15 y 16, respectivamente. Las imágenes reflejan los resultados del análisis de tamaño de partícula. Muestran que a medida que aumentó la fracción másica de las emulsiones, el tamaño de partícula también aumentó y comenzó a mostrar coalescencia. Guo y Mu (2011) reportaron resultados similares.

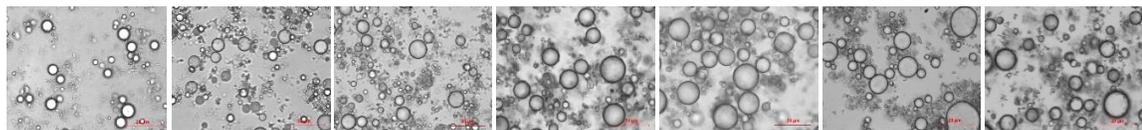
El tamaño de partícula más grande se puede ver entre los días 9 a 12 en ambas emulsiones. Las emulsiones con WPC y CPPs en sus fracciones másicas más pequeñas (ϕ 0.002 y ϕ 0.02) mostraron mayor homogeneización.



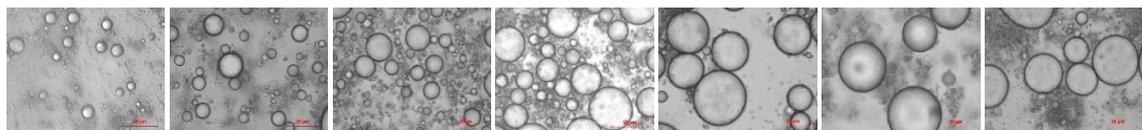
1	3	6	9	12	15	18
Tiempo (días)						
CPPs ϕ 0.002						



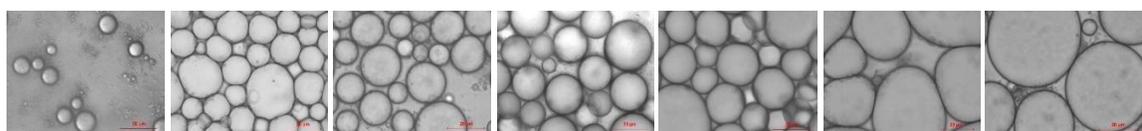
1	3	6	9	12	15	18
Tiempo (días)						
CPPs ϕ 0.02						



1	3	6	9	12	15	18
Tiempo (días)						
CPPs ϕ 0.1						



1	3	6	9	12	15	18
Tiempo (días)						
CPPs ϕ 0.2						



1	3	6	9	12	15	18
Tiempo (días)						
CPPs ϕ 0.4						

Figura 15. Microscopia de emulsiones con CPPs a 40X.

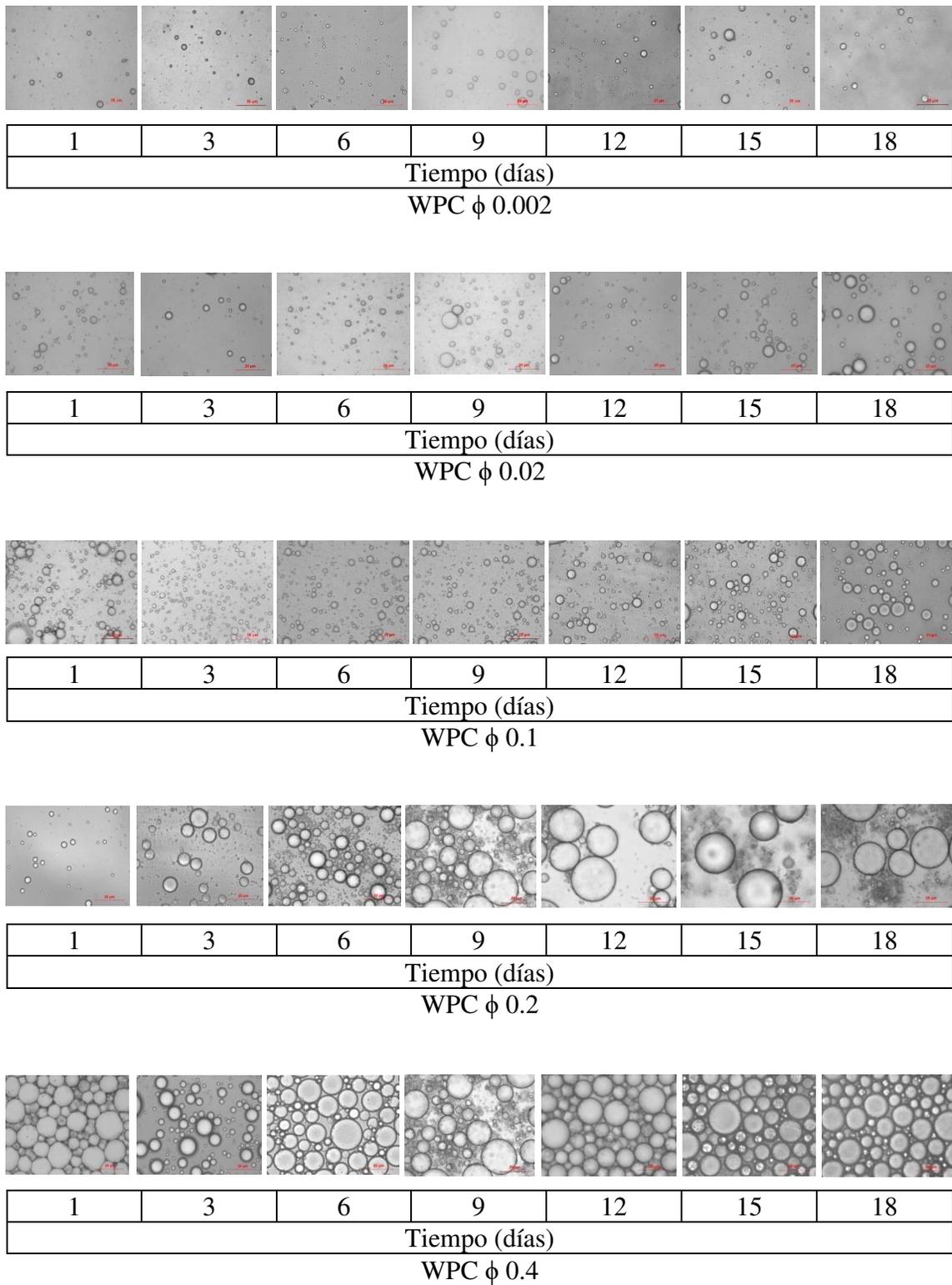


Figura 16. Microscopia de emulsiones con WPC a 40X.

6.6.7 Índice de estabilidad y actividad emulsionante a diferentes pH

A pesar de que la emulsión más estable de CPPs fue aquella con ϕ 0.02 en base a los resultados de índice de cremado y tamaño de partícula, se decidió seleccionar a la emulsión con la fracción másica ϕ mayor, es decir con valor de 0.4, para los siguientes análisis debido al resultado obtenido en la prueba de viscosidad, ya que acaparó nuestra atención al notar que fue la única emulsión que arrojó un resultado diferente, es decir, con mayor viscosidad y comportamiento pseudoplástico. Por ello se volvió a elaborar bajo tres pH distintos (3.0, 5.0 y 7.0).

Los valores resultantes del IAE y el IEE se vieron influenciados por el factor pH como se muestra en Figura 17. La capacidad emulsionante de una proteína depende del equilibrio hidrofílico-lipofílico, el cual es afectado por el pH (Khalid et al. 2003). En este caso se encontró que la emulsión con CPPs a pH 5.0 tuvo menor IAE con aumento a ambos lados del pH, siendo más alto a pH alcalino que a pH ácido. Esta observación concuerda con los hallazgos de Zhang et al. (2009), Ragab et al. (2004), Inyang y Iduh (1996) y Khalid et al. (2003), quienes analizaron los efectos del pH en emulsiones elaboradas con concentrado proteico de garbanzo y semilla de sésamo.

Estos autores reportaron que cuando la carga neta (pH 5) se encontraba cerca de la región isoeléctrica, la proteína podría haber desestabilizado la membrana interfacial. Y el rango de precipitación en proteínas oleaginosas es de 4.0 ± 0.25 , a lo cual se puede atribuir el resultado obtenido en IAE.

Lo anterior se vio reflejado de igual manera en el IEE. La emulsión con CPPs a pH 5.0 fue la que menos tiempo duró estable, mientras que la emulsión a pH 3.0 y 7.0 se vieron favorecidas, coincidiendo con lo que reporto Ragab et al. (2004).

Sin embargo, en emulsiones control (WPC) el IAE se vio favorecido a pH ácido (3.0) y fue disminuyendo conforme incrementó el valor de pH de las emulsiones, siendo menor a pH 7.0. Se ha visto que la solubilidad del WPC se reduce en el rango de pH de 3.0 a 8.0 (Fox y Mulvihill 1982). Y aunque la estabilidad de WPC se vio mayormente favorecida a pH 5.0, siguió siendo la menos estable a pH 7.0. En base al análisis de varianza realizado no hubo diferencia significativa ($p < 0.005$) en los valores obtenidos.

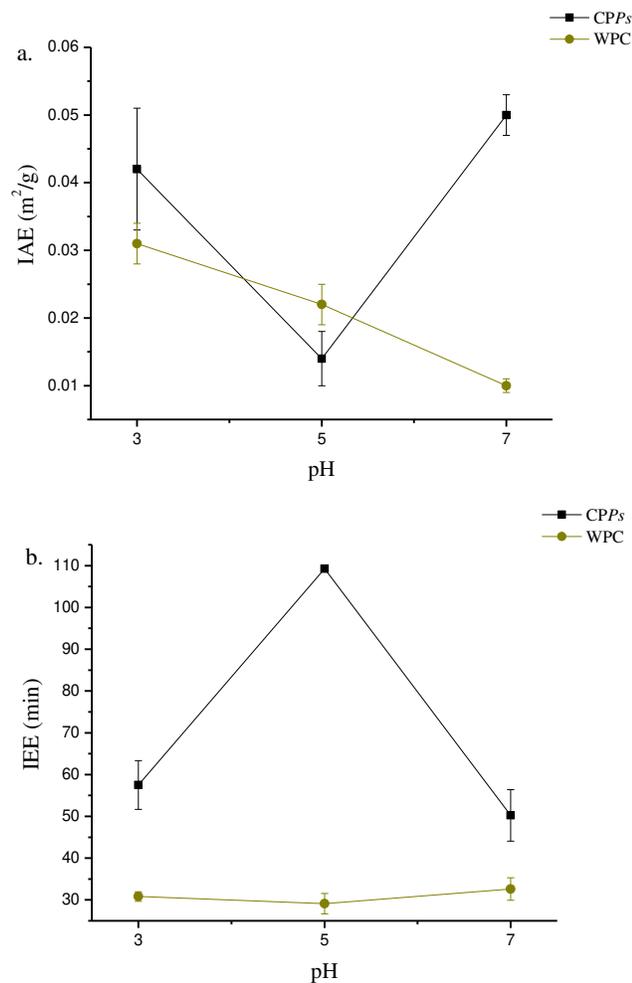


Figura 17. Índice de actividad y estabilidad emulsionante de emulsiones con CPPs comparadas con WPC a diferentes pH.

6.6.8 Concentrado de proteínas en interfase a diferentes pH

El contenido de proteína en interfase de las emulsiones tanto con *CPPs* como con WPC presentaron el mismo contenido de proteína a pH 3.0 (0.006 mg/ m²), pero conforme aumentó el valor del pH, la conducta de fue opuesta, ya que en emulsiones con *CPPs* a pH 5.0 el valor se mantuvo, pero incrementó 1.3 veces al estar bajo pH 7.0 (Figura 18), mientras que en WPC disminuyó 1.2 veces al cambiar a pH 5.0 (0.005 mg/ m²) y 1.5 veces al pasar a pH 7.0 (0.004 mg/ m²).

El comportamiento de las emulsiones con *CPPs* fue semejante a lo reportado en emulsiones con concentrado de proteína de garbanzo, que mostraron tener los valores más bajos de proteína en interfase a pH 5.0 (Zhang et al. 2009).

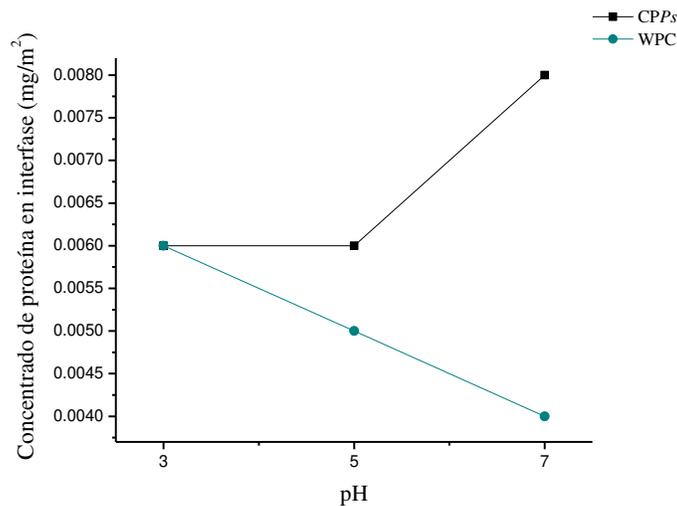


Figura 18. Concentrado de proteínas en interfase de emulsiones con *CPPs* comparadas con WPC a diferentes pH.

6.6.9 Viscosidad a diferentes pH

El efecto del pH en viscosidad de emulsiones se muestra en Figura 19. Todas las emulsiones con *CPPs* presentaron comportamiento de adelgazamiento por corte, reflejado en disminución de viscosidad conforme aumentó la velocidad de corte.

En este caso, el comportamiento newtoniano se manifestó en emulsiones con *CPPs* a pH 3.0 y 7.0. Mientras que a pH 5.0 hubo comportamiento pseudoplástico, con viscosidad

inicial mayor, lo cual coincide con lo reportado por Demetriades et al. (1997) en emulsiones que fueron estabilizadas con WPC a diferentes pH.

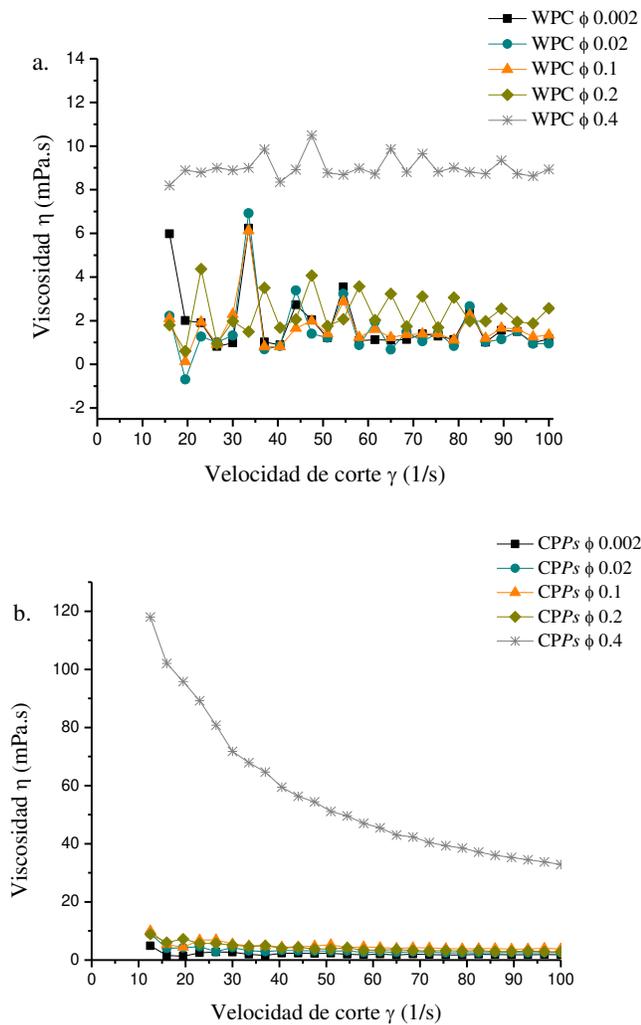


Figura 19. Viscosidad de emulsiones con CPPs comparadas con WPC a diferentes pH.

6.6.10 Tamaño de partícula a diferentes pH

Al igual que los resultados anteriores del punto 6.6.4 de tamaño de partícula en emulsiones a diferentes fracciones másicas, se puede observar en Figura 20 que todas las emulsiones con el paso del tiempo mostraron incremento en el tamaño de partícula sin importar el pH que presentaron con el paso de los días.

Los resultados de las mediciones mostraron que las emulsiones con CPPs presentaron disminución del tamaño de partícula al aumentar el pH ($\text{pH } 7.0 < \text{pH } 3.0 < \text{pH } 5.0$),

pudiendo observar que gotas más grandes se manifestaron a pH 5.0 y más pequeñas a pH 7.0, coincidiendo con los resultados obtenidos por Zhang et al. (2009).

En emulsiones control (WPC) el tamaño de partícula comenzó siendo menor a pH 3.0, pero con el paso de los días los valores obtenidos con pH 5.0 fueron menores. Las emulsiones a pH 7.0 siempre presentaron los valores más altos. A pesar de lo anterior, en base al análisis de varianza (ANOVA) realizado, no hubo diferencia significativa ($p < 0.005$) en los tamaños de partícula de las emulsiones WPC a diferentes pH a lo largo de los 18 días de estudio.

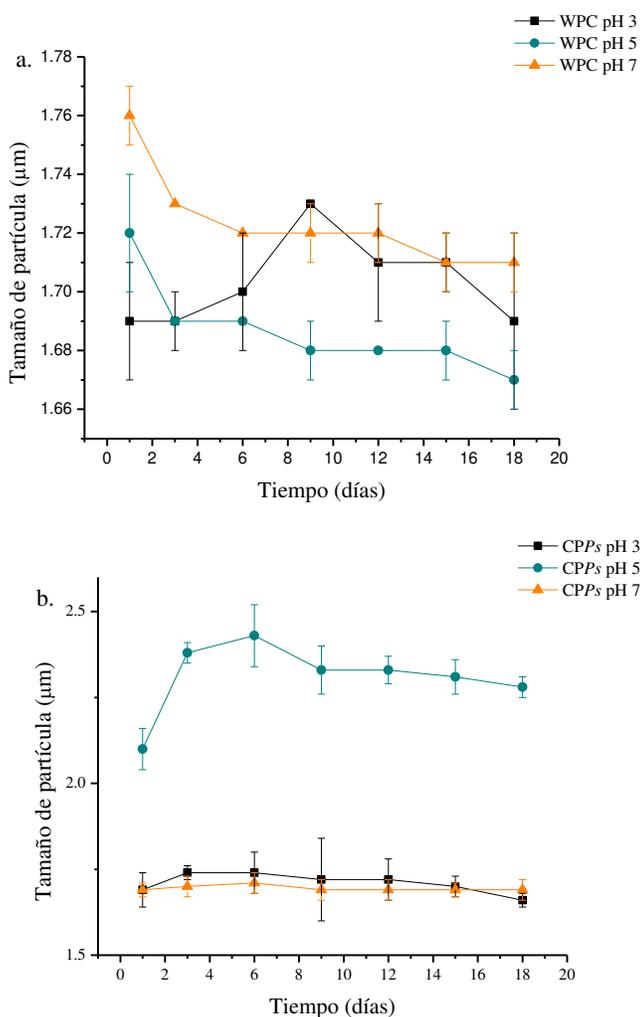


Figura 20. Tamaño de partícula ($D_{3,2}$) de emulsiones con CPPs comparadas con WPC a diferentes pH.

6.6.11 Índice de cremado a diferentes pH

Los valores obtenidos de formación de cremado fueron más altos en emulsiones con *CPPs* en comparación con *WPC* (Figura 21). Las emulsiones con *CPPs* cercanas al rango de precipitación en proteínas oleaginosas, es decir, a pH 5.0, tuvieron porcentajes de cremación más elevados, esto debido a que la estabilización de las emulsiones contra coalescencia, floculación y cremado depende en gran medida de las fuerzas de repulsión electrostática entre las proteínas adsorbidas que se encuentran en el área de la interfase (Zhang et al. 2009). En este caso, dando como resultado, que la disminución en el número de cargas negativas indujo una disminución en las repulsiones electrostáticas provocando mayor formación de cremado en emulsiones con *CPPs* a pH 5.0 y con *WPC* a pH 7.0.

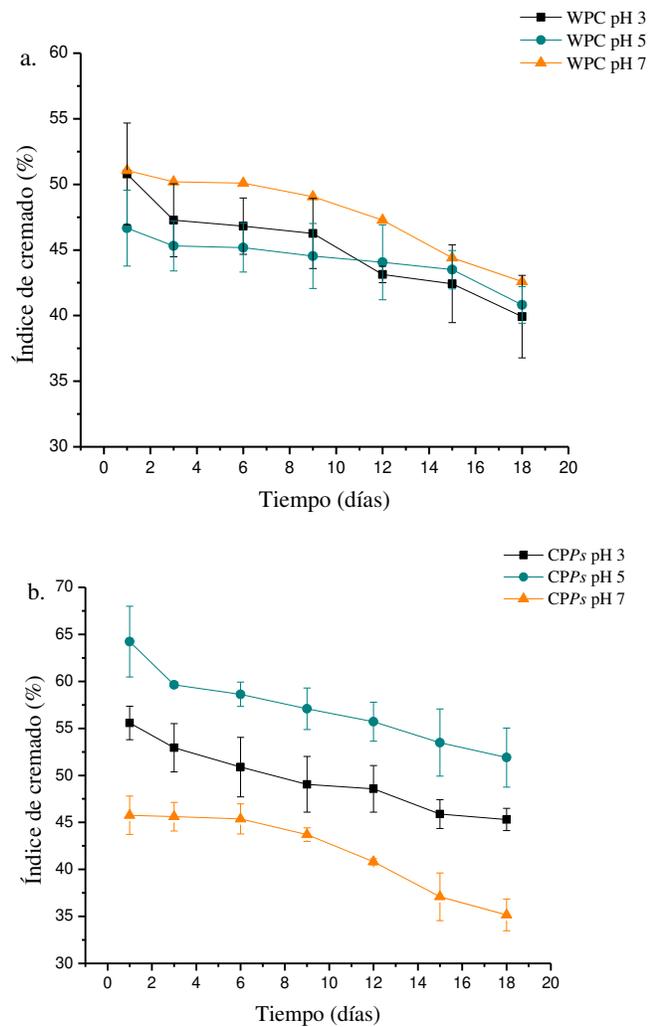


Figura 21. Índice de cremado de emulsiones con *CPPs* comparadas con *WPC* a diferentes pH.

En base a los resultados obtenidos de los análisis de índice de actividad emulsionante, tamaño de partícula, índice de cremado y concentrado de proteína en interfase podemos mencionar que emulsiones con CPPs a ϕ 0.4 tuvieron mejores resultados como emulsionantes a pH 7.0 y 3.0. Por lo cual se podría emplear este emulsionante en el desarrollo de alimentos como zumo de frutas (manzana, chabacano, fresas, piña, ciruela, uvas, arándanos y durazno).

6.7 Carbón activado

Del peso inicial de cáscara empleada para desarrollar el carbón activado (170 g), se obtuvo rendimiento del 94.64 ± 1.70 % posterior al proceso de activación y combustión, con lo cual, la pérdida a ese punto fue menor del 50 %, obteniéndose así un carbón que pudiese clasificarse como microporoso. Con un rendimiento final de 30.79 ± 3.84 %, debido a que en la etapa de lavado y filtrado hubo mayor pérdida de muestra. Este valor de rendimiento coincide a los obtenidos con procesos físicos de activación para el desarrollo de carbón activado (Universidad de Sevilla 2009).

6.7.1 Análisis Elemental

El análisis en el Microscopio Electrónico de Barrido acoplado con un Espectrómetro de Dispersión de Energía de Rayos X (SEM-EDS) permitió cuantificar los elementos presentes en muestra (Tabla 22). Se obtuvieron valores muy similares al control, con excepción del fósforo (P), que obtuvo casi el doble del valor control, pudiéndose atribuir este resultado a que el reactivo empleado para su activación fue el H_3PO_4 . Los elementos predominantes fueron carbón (C) y Oxígeno (O).

Tabla 22. Elementos presentes en carbón activado de cáscara de *P. serotina*.

Muestra	C (% en peso)	O (% en peso)	P (% en peso)	Cl (% en peso)
Carbón comercial	89.8 ± 0.68 _a	11 ± 0.48 _a	1.2 ± 2.1 _b	1.5 ± 0.2 _a
Carbón de <i>P. serotina</i>	86.3 ± 0.52 _a	11.1 ± 0.44 _a	2.34 ± 0.28 _a	1.3 ± 0.2 _a

Los valores son el promedio de cinco repeticiones ± desviaciones estándar del carbón activo comercial y de *P. serotina*. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.005$).

7 CONCLUSIONES

Prunus serotina ha sido una semilla poco estimada a pesar de tener compuestos antioxidantes, proteínas y lípidos insaturados importantes para la salud, convirtiéndolo en alimento con potencial para el desarrollo de nuevos productos.

El aceite de *P. serotina* es un producto que debe consumirse fresco para aprovechar sus beneficios, ya que el almacenamiento parece tener efectos contraproducentes. La cantidad adicionada de antioxidantes (concentrado 2.5X y 10X de *P. longiflora*) para conservar o prologar el tiempo de vida del aceite debe controlarse, ya que cantidades elevadas pueden tener efectos pro-oxidantes. En el caso de las fracciones de aceite de *Poliomintha longiflora* se recomienda 3 ppm, particularmente del concentrado 2.5X que disminuyó los hidroperóxidos.

El producto (aceite) y subproductos (cáscara y semilla) de *P. serotina* contienen fenoles (0.47 ± 0.00 , 1.65 ± 0.06 y 1.42 ± 0.14 mg EAG/g muestra, respectivamente) y flavonoides (0.33 ± 0.01 , 0.37 ± 0.05 y 0.77 ± 0.01 mg ECAT/g muestra) que le otorgan actividad antioxidante a este alimento. Encontrando primordialmente fenoles totales en cáscara y flavonoides en semilla.

La harina sin aceite de acuerdo con los análisis proximales realizados tiene alto contenido proteico (50.94 ± 0.64 %), buen contenido de fibra (4.03 ± 0.27 %) y es bajo en extracto etéreo (3.36 ± 0.31 %). Y cumple con lo establecido en las normas (AOAC 965.22 y Codex Standard 152-1985) para su venta comercial.

La semilla puede ser sometida a un tratamiento de bajo costo (lavado, remojo, y tostado) para eliminar la presencia de ácido cianhídrico, junto con sus riesgos y así ser empleado para el desarrollo de productos de panificación.

Es posible obtener un concentrado de proteína a partir de la harina sin aceite de *P. serotina*, solubilizando la proteína a pH 11 y acidificando posteriormente a pH 3.0 (30 min) para su recuperación, evitando así problemas de salting-out.

El concentrado proteico de *P. serotina* puede ser usado como agente emulsionante de comportamiento pseudoplástico a $\phi \geq 0.4$, con resultados más favorables de actividad

emulsionante, concentrado de proteína en interfase, tamaño de partícula y cremado a pH 7.0 que a pH 5.0, por lo cual se recomienda continuar con esta investigación.

De cáscara es factible extraer antioxidantes mediante el uso de solventes como etanol y metanol 96 %. Y puede ser aprovechada como materia prima en la industria para el desarrollo de carbón activado microporoso, mediante proceso químico.

8 PERSPECTIVAS

Frente al cierre de esta tesis doctoral se abren futuras líneas de investigación, que a continuación se mencionan:

- Investigación del proceso de separación de compuestos fenólicos presentes en cáscara y semilla.
- Identificación de compuestos fenólicos presentes en los principales compuestos de la almendra
- Desarrollo de producto comercial a base de una emulsión con *CPPs* como emulsionante.
- Análisis de funcionalidad del carbón activado.

9 BIBLIOGRAFÍA

Alveano Aguerrebere I. 2010. Estudio químico y farmacológico de la semilla de *Prunus serotina*. Universidad Autonoma de Querétaro: Querétaro, pp. 1-104.

Alveano Aguerrebere I, Molina Rojas A, Oomah Dave B, Drover C.G. J. 2011. Characteristics of *Prunus serotina* seed oil. *Food Chemistry* 124:983–990. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.040

Andrade M, Tapia D, Menegalli F. 2012. Physical-chemical, thermal, and functional properties of achira (*Canna indica L.*) flour and starch from different geographical origin. *Starch/Starke* 64: 348-358. doi:10.1002/star.201100149

Arntfield SD. 2018. 7-Proteins from oil-producing plants (2da ed). Winnipeg, MB, Canada. Woodhead Publishing Series, pp. 146-167.

Bail S, Stuebiger G, Krist S, Unterweger H, Buchbauer G. 2008. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol, composition, total phenols and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 108:1122-1132. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.11.063

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils - A review. *Food Chemical Toxicology* 46:446–475. doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106

Belge Kurutas E. 2016. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition Journal* 15:71. doi: 10.1186/s12937-016-0186-5

Belorio M, Sahagun M, Gómez M. 2019. Influence of flour particle size distribution on the quality of maize gluten-free cookies. *Foods* 8: 83. doi: 10.3390/foods8020083

Bio Rad. Mini-PROTEAN Tetra Cell, [Online]. Disponible en: <https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/10007296D.pdf>

Bolling BW, Chen CYO, McKay DL, Blumberg JB. 2011. Tree nut phytochemicals: composition, antioxidant capacity, bioactivity, impact factors. A systematic review of

almonds, Brazils, cashews, hazelnuts, macadamias, pecans, pine nuts, pistachios and walnuts. *Nutrition Research Reviews* 24:244–275. doi: 10.1017/S095442241100014X

Bradford MC. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-254. doi: 10.1006/abio.1976.9999

Castro AM, Rodríguez MG. 2012. Reacción de Grignard para detectar compuestos del ácido cianhídrico en sorgo. INTA Estación Experimental Agropecuaria Bordenave, [Online]. Disponible en: <https://inta.gob.ar/documentos/reaccion-de-grignard-para-detectar-compuestos-del-acido-cianidrico-en-sorgo>

Chattopadhyay K, Maity M, Banerjee S, Chattopadhyay B. 2012. Ameliorative role of dietary supplemented conjugated linolenic acid against nicotine-induced toxicity in rats. *Pharmaceutica Analytica Acta* 3:8. doi: 10.4172/2153-2435.1000182

Choe E, Min DB (2006) Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Review of Food Science and Food Safety* 5:169-186. doi: 10.1111/j.1541-4337.2006.00009.x

Cid Pérez T, Ávila Sosa R, Ochoa Velasco CE, Rivera Chavira BE, Nevárez Moorillón GV. 2019. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Mexican Oregano (*Poliomintha longiflora*) Essential Oil, Hydrosol and Extracts from Waste Solid Residues. *Plants* 8:22. doi: 10.3390/plants8010022.

Codex Standard 152-1985. Norma del Codex para la harina de trigo, [Online]. Disponible en: www.fao.org/input/download/standards/50/CXS_152s.pdf

Demetriades K, Coupland JN, McClements DJ. 1997. Physical properties of whey protein stabilized emulsions as related to pH and NaCl. *Journal of Food Science* 62: 342-347. doi: 10.1111/j.1365-2621.1997.tb03997.x

Dunwell JM. 2005. Structure, function, and evolution of vicilin and legumin seed storage proteins. In: Steinbüchel A and Doi Y (eds.) *Biotechnology of Biopolymers*: Weinheim, pp. 707-737.

Eichberg J, Mokrasch LC. 1969. Interference by oxidized lipids in the determination of

protein by the Lowry procedure. *Analytical Biochemistry* 30:386-390. doi: 10.1016/0003-2697(69)90131-6

Feng X, Dai H, Ma Liang, Yu Y, Tang M, Li Y, Hu W, Liu T, Zhan Y. 2019. Food grade gelatin nanoparticles: Preparation, characterization, and preliminary applicaiton for stabilizng pickerin emulsions. *Foods* 8:479. doi:10.3390/foods8100479

Fernandes L, Casal S, Cruz R, Pereira JA, Ramalhosa E. 2013. Seed oils ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. *Food Research International*, 50:161-166. doi: 10.1016/j.foodres.2012.09.039

Feron VJ, Til HP, De Vrijer F, Woutersen RA, Cassee FR, Van Bladerenn RJ. 1991. Aldehydes: occurence, carcinogenic potential, mechanism of action and risk assessment. *Mutation Research* 259: 363-385. doi:10.1016/0165-1218(91)90128-9

Ferreya JC, Kuskoski EM, Bordignon Luiz MT, Barrera Arellano D, Fett R. 2007. Propiedades emulsificantes y espumantes de las proteínas de harina de cacahuete (*Arachis hypogaea* Lineau). *Grasas y Aceites* 58:264-269.

Floury J, Desrumaux A, Lardières J. 2000. Effect of high-pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2:127-134. doi: 10.1016/S1466-8564(00)00012-6

Fox PT, Mulvihill DM. 1982. Milk proteins: molecular, colloidal and functional properties. *Journal of Dairy Research* 49:679-693 doi: 10.1017/s0022029900022822

García Aguilar L, Rojas Molina A, Ibarra Alvarado C, Rojas Molina JI, Vázquez Landaverde PA, Luna Vázquez FJ, Zavala Sánchez MA. 2015. Nutritional value and volatile compounds of black cherry (*Prunus serotina*) seeds. *Molecules* 20:3479–3495. doi: 10.3390/molecules20023479

García O, Aiello Mazzarri C, Peña Chirino MC, Ruiz Ramírez JL, Acevedo Pons IC. 2012. Caracterización físico-química y propiedades funcionales de la harina obtenida de granos de quinchoncho (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) sometidos a diferentes procesamientos. *Revista Científica UDO Agrícola*, 12:919-928.

Giarnetti M, Paradiso VM, Caponino F, Summo C, Pasqualone A. 2015. Fat replacement in shortbread cookies using an emulsion filled gel based on inulin and extra virgin olive oil. *LWT-Food Science and Technology* 63:339-345. doi: 10.1016/j.lwt.2015.03.063

Giraldo A, Velasco R, Aristizábal J. 2006. Obtención de harina a partir de hojas de yuca (*Manihot esculenta Crantz*) para consumo humano. Facultad de Ciencias Agropecuarias, [Online]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/242658485_OBTENCIN_DE_HARINA_A_PARTIR_DE_HOJAS_DE_YUCA

González Pérez S, Arellano JB. 2009. Vegetable protein isolates. In *Handbook of Hydrocolloids*, Phillips GO y Williams PA (eds). Woodhead Publishing: Salamanca, Spain, pp. 383-419.

Guo Q., Mu TH. 2011. Emulsifying properties of sweet potato protein: effect of protein concentration and oil volume fraction. *Food Hydrocolloids* 25:98-106. doi: 10.1016/j.foodhyd.2010.05.011

Gutiérrez Avella DM, García Ortiz CA, Mendoza Cisneros A (2008) Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. IOP Publishing CENAM. https://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf. Accessed 1 November 2016.

Herrera Rodríguez SE, López Rivera RJ, García Márquez E, Estarrón Espinosa M, Espinosa Andrews H. 2019. Mexican oregano (*Lippia graveolens*) essential oil-in-water emulsions: impact of emulsifier type on the antifungal activity of *Candida albicans*. *Food Science Biotechnology* 28:441-448. doi: 10.1007/s10068-018-0499-6

Hernández Morales MA, Maldonado Astudillo YI, Jiménez Hernández JJ, Salazar R, Ramírez Sucre MO, Ibarz A, Utrilla Coello RG, Ortuño Pineda C. 2018. Physicochemical and rheological properties of gum seed and pulp from *Hymenaea courbaril* L. *CyTA Journal of Food* 16:986-994. doi: 10.1080/19476337.2018.1513955

Huang X, Kakuda Y, Cui W. 2011. Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids* 15: 533-542. doi: 10.1016/s0268-005x(01)00091-1

Inyang UE, Iduh AO. 1996. Influence of pH and salt concentration on protein solubility, emulsifying and foaming properties of sesame protein concentrate. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 73:1663-1667. doi: 10.1007/BF02517969

Jahanban Esfahlan A, Jamei R, Jahanban Esfahlan R. 2010. The importance of almond (*Prunus amygdalus* L.) and its by-products. *Food Chemistry* 120:349–360. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.09.063

Jahanban Esfahlan A, Mahmoodzadeh A, Hassanzade A, Heidari R, Jamei R. 2010. Antioxidant and antiradical activities of phenolic extracts from Iranian almond (*Prunus amygdalus* L.) hulls and shells. *Turk Journal Biology* 34:165-173. doi: 10.3906/biy-0807-21

Jia C, Huang W, Abdel Shafi Abdel Samie M, Huang G, Huang G. 2011. Dough rheological, Mixolab mixing, and nutritional characteristics of almond cookies with and without xylanase. *Journal of Food Engineering* 105:227-232. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.02.023

Jiménez M, Castillo I, Azuara E, Beristain CI. 2011. Actividad antioxidantes y antimicrobiana de extractos de Capulin (*Prunus serotina* subsp capuli). *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 10:29–37.

Johnson HM. 2007. Almond skins as a natural antioxidant. *Clemson University*, [Online]. Disponible en : http://tigerprints.clemson.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1163&context=all_theses

Kaya C, Kola O, Ozer MS, Altan A. 2008. Some characteristics and fatty acids composition of wild apricot (*Prunus pseudoarmeniaca* L.) kernel oil. *Asian Journal of Chemistry* 20:2597-2602.

Khalid EK, Babiker EE, EL Tinay AH. 2003. Solubility and functional properties of sesame seed proteins as influenced by pH and/or salt concentration. *Food Chemistry* 82:361-366. doi: 10.1016/S0308-8146(02)00555-1

Khor YP, Koh SP, Long K, Long S, Syed Ahmad SZ, Ping Tan C. 2014. A comparative study of the physicochemical properties of a virgin coconut oil emulsion and commercial food supplement emulsion. *Molecules* 19:9187-9202. doi: 10.3390/molecules19079187

Lopez Dellamary Toral FA. 2000. Aislamiento y caracterización de proteínas de las semillas maduras de *Enterolobium cyclocarpum* para su aprovechamiento alimenticio. [Online]. Disponible en: <https://docplayer.es/13575106-Universidad-de-colima-posgrado-interinstitucional-en-ciencias-pecuarias.html>

Lopez Medina EJ. 2014. Suficiencia Profesional Aminoácidos y Proteínas. Escuela profesional de ingeniería de industrias alimentarias, [Online]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/6553>

Marina D, Avella G, Alberto C, García O, Cisneros AM. 2008. Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. Simposio de Metodología, Querétaro, México, Octubre 22-24.

McClements DJ, Decker EA. 2000. Lipid oxidation in oil in water emulsions: Impact of molecular environment of chemical reactions in heterogeneous food systems. *Journal of Food Science* 65:1270-1282. doi: 10.1111/j.1365-2621.2000.tb10596.x

Miraliakbari H. 2007. Tree nut oils : chemical characteristics, oxidation and antioxidants. Memorial University of Newfoundland: Canada, pp.1-191.

Mirhosseini H, Tan CP, Hamid NSA, Yusof S. 2008. Effect of arabic gum, xanthan gum and orange oil contents on z-potential, conductivity, stability, size index and pH of orange beverage emulsion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 315: 47-56. doi:10.1016/j.colsurfa.2007.07.007

Mohan D, Sarswat A, Singh VK, Alexandre-Franco M, Pittman Jr. CU. 2011. Development of magnetic activated carbón from almond shells for trinitrophenol removal from wáter. *Chemical engineering journal* 172:1111-1125. doi: 10.1016/j.cej.2011.06.054

- Moosavi Dolatabadi KS, Dehghan G, Hosseini S, Jahanban Esfahlan A. 2015. Effect of five-year storage on total phenolic content and antioxidant capacity of almond (*Amygdalus communis* L.) hull and shell from different genotypes. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 5:26-33.
- Norma Oficial Mexicana. 2004. NMX-F-615-NORMEX. Determinación de extracto etéreo (método soxhlet) en alimentos. México, D.F.: Dirección General de Normas.
- Norma Oficial Mexicana. 1999. NMX-F-490-NORMEX. Alimentos para humanos. Determinación de la composición de ácidos grasos a partir de C₆ por cromatografía de gases en aceites y grasas. México, D.F.: Dirección General de Normas.
- Norma Oficial Mexicana. 2013. NMX-F-607-NORMEX. Determinación de cenizas en alimentos. México, D.F.: Dirección General de Normas.
- Norma Oficial Mexicana. 2011. NMX-F-608-NORMEX. Determinación de proteínas en alimentos. México, D.F.: Dirección General de Normas.
- Norma Oficial Mexicana. 2017. NMX-F-616. Determinación de fibra cruda en alimentos. México, D.F.: Dirección General de Normas.
- Norma Oficial Mexicana. 2010. NOM-051-SCFI-SSA1. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados- Información comercial y sanitaria. México, D.F.: Dirección General de Normas.
- Ogunsina BS, Radha C, Indrani D. 2011. Quality characteristics of bread and cookies enriched with debittered *Moringa oleifera* seed flour. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 62:185-194. doi: 10.3109/09637486.2010.526928
- Pacheco Uribe G, Jiménez Barcenas NR, Rojas Molina A, Ibarra Alvarado C, Vázquez Luna FJ, Rojas Molina JI. 2005. Estudio farmacológico, toxicidad y perfil fenólico del fruto "Capulin" (*Prunus serotina*). *Verano ciencia región centro, Querétaro, México*, pp. 1-4.
- Padley FB, Gunstone FD, Harwood JL. 1994. Occurrence and characteristics of oils and fats. In: *The lipid handbook* 2nd ed, Padley FB, Gunstone FD, Harwood JL (eds). Chapman & Hall: London, pp. 47-89.

Páez Reyes LM, Sánchez Olarte J, Velasco Torres M, Álvarez Gaxiola JF, Argumedo Macías A. 2013. Propuesta de estrategia para el mejoramiento del cultivo de capulín en los municipios de Domingo Arenas, Calpan y San Nicolás de los Ranchos. *Ra Ximhani* 9:109–119.

Pandolfe WD. 1995. Effect of premix condition, surfactant concentration, and oil level on the formation of oil-in-water emulsions by homogenization. *Journal of dispersion science and technology*, 16:633-650. doi: 10.1080/01932699508943710

Papastergiadis A, Mubiru E, Van Langenhove H, De Meulenaer B. 2012. Malondialdehyde measurement in oxidized foods: evaluation of the spectrophotometric thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) test in various foods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60:9589-9594. doi: 10.1021/jf302451c

Parekh N, Voland RP, Moeller SM, Blodi BA, Ritenbaugh C, Chappell RJ, Wallace RB, Mares JA. 2009. Association between dietary fat intake and age-related macular degeneration in the Carotenoids in Age-Related Eye Disease Study (CAREDS): an ancillary study of the women's health initiative. *Archives Ophthalmol* 127:1483-1493. doi: 10.1001/archophthalmol.2009.130.

Pinelo M, Rubilar M, Sineró J, Núñez MJ. 2004. Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*) *Food Chemistry* 85:267-273. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.06.020

Pinheiro do Prado AC, Monalise Aragao Analu, Fett Roseane, Block JM. 2009. Antioxidant properties of pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] shell infusion. *Grasas y aceites*, 60:330-335. doi: 10.3989/gya.107708.

Ragab DDM, Babiker EE, Eltinay AH. 2004. Fraction, solubility and functional properties of cowpea (*Vigna unguiculata*) proteins as affected by pH and/or salt concentration. *Food Chemistry* 84:207-212. doi: 10.1016/S0308-8146(03)00203-6

Ramadan MF, Moersel JT. 2006. Screening of the antiradical action of vegetable oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19:838-842. doi: 10.1016/j.jfca.2006.02.013

Ramírez Pimentel JG, Herrera Herrera A, Aguirre Mancilla CL, Covarrubias Prie to J,

Iturriaga de la Fuente G, Raya Pérez JC. 2016. Caracterización de las proteínas de reserva y contenido mineral de semilla de melón (*Cucumis melo* L.). Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 7:1667-1678. doi: 10.29312/remexca.v7i7.158

Raya Pérez JC, Aguirre Mancilla CL, Tapia Aparicio R, Ramírez Pimentel JG, Covarrubias Prieto J. 2012. Caracterización de las proteínas de reserva y composición mineral de la semilla de capulín (*Prunus serotina*). Polibotánica 34:203–215.

Restuccia D, Spizzirri UG, Chiricosta S, Puoci F, Altimari I, Picci N. 2011. Antioxidant properties of extra virgin olive oil from cerasuola cv olive fruit: Effect of stone removal. Italian Journal of Food Science 23:62–71.

Ricciardi F. 2016. Genetic analysis on biosynthesis of compounds affecting bitterness in almond tree (*Amygdalus communis* L. = *Prunus Dulcis* Mill.), [Online]. Disponible en : <http://hdl.handle.net/11369/363087>

Rostro Alanis MJ, Báez González J, Torres Alvarez C, Parra Saldívar R, Rodriguez Rodriguez J, Castillo S. 2019. Chemical composition and biological activities of oregano essential oil and its fractions obtained by vacuum distillation. Molecules 24, 1904:1-1904:15. doi: 10.3390/molecules24101904

Rustaiyan A, Samiee K, Shahbazi S. 2016. Identification of omega-3, 6 and 9 fatty acids composition and lipid content from muscle tissue of *Ophionereis dubia* (y-striped brittle star) in qeshm island of the persian gulf. European Journal of Pharmaceutical and Medical Research 3:138-142.

Saha SS, Ghosh M. 2009. Comparative study of antioxidant activity of α -eleostearic acid and punicic acid against oxidative stress generated by sodium arsenite. Food and Chemical Toxicology 47:2551–2556. doi: 10.1016/j.fct.2009.07.012

Samudra Kumari S, Siriwardhana W. 2001. Almond as a source of natural antioxidants. Memorial University of Newfoundland, [Online]. Disponible en : http://collections.mun.ca/PDFs/theses/Siriwardhana_Wijeratne.pdf

Sbihi HM, Nehdi IA, Al Resayes SI. 2014. Characterization of White Mahlab (*Prunus mahaleb* L.) Seed Oil: A Rich Source of α -Eleostearic Acid. Journal of Food Science

79:795–801. doi: 10.1111/1750-3841.12467

Shahidi F, Zhong Y (2010) Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chem Soc Rev* 39:4067-4079. doi: 10.1039/b922183m.

Silva Vázquez R, Duran Meléndez LA, Hernández Martínez CA, Gutiérrez Soto JG, Hume ME, Méndez Zamora G. 2018. Effects of two sources of Mexican oregano oil on performance, blood profile, carcass variables, and meat of broilers. *Revista Brasil Zootecnia* 47. doi: 10.1590/rbz4720170198

Sillero A, Maldonado A. 2006. Isoelectric point determination of proteins and other macromolecules: Oscillating method. *Computers in Biology and Medicine* 36:157-166. doi:10.1016/j.compbimed.2004.09.006

Smeriglio A, Mandalari G, Bisignano C, Filocamo A, Barreca D, Bellocco E, Trombetta D. 2016. Polyphenolic content and biological properties of Avola almond (*Prunus dulcis* Mill. D.A. Webb) skin and its industrial byproducts. *Industrial Crops and Products* 83:283-293. doi:10.1016/j.indcrop.2015.11.089

Sun CH, Gunasekaran S. 2009. Effects of protein concentration and oil phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. *Food Hydrocolloids* 23: 165-170. doi: 10.1016/j.foodhyd.2007.12.006

Swanson RB, Perry JM. 2007. Modified oatmeal and chocolate chip cookies: evaluation of the partial replacement of sugar and/or fat to reduce calories. *International Journal of Consumer Studies* 31:265-271. doi: 10.1111/j.1470-6431.2006.00547.x

Syros T, Yupsanis T, Economou A. 2003. Fractionation and electrophoretic patterns of storage proteins of *Ebenus cretica*. A preliminary survey as a tool in taxonomy. *Biologia Plantarum* 46:435-443. doi:10.1023/A:1024350808146

Sze Tao KWC, Sathe SK. 2000. Functional properties and in vitro digestibility of almond (*Prunus dulcis* L.) protein isolate. *Food Chemistry* 69:153–160. doi: 10.1016/S0308-8146(99)00244-7

Szigety E, Viau J, Tintori Ferreira MA, Moro L. 2009. Medición del índice de refracción

del agua usando materiales sencillos. Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias 6:146-150.

Taghvaei M, Jafari SM. 2015. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. Journal Food Science Technology 55:1272-1282. doi: 10.1007/s13197-013-1080-1

Tavernier I, Wijaya W, Der Meeren PV, Dewettinck K, Patel A. 2016. Food grade particles for emulsion stabilization. Trends Food Science and Technology 50:159-174. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.01.023

Teixeira B, Marques A, Ramos C, Serrano C, Matos O, Neng NR, Nunes ML. 2013. Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. Journal of Science Food and Agriculture 93:2707-2714. doi: 10.1002/jsfa.6089

Ting X, Xiangdong Y, YanTing S, Xi C, Hui S, Bin L, Yijie C. 2018. Identification and quantification of proteins at adsorption layer of emulsion stabilized by pea protein isolates. Colloids and surfaces B: Biointerfaces 171:1-9. doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.05.068

Tirgar M, Silcock P, Carne A, Birch EJ. 2017. Effect of extraction method on functional properties of flaxseed protein concentrates. Food Chemistry 215:417-424. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.08.002

Tsuzuki T, Igarashi M, Iwata T, Yamauchi-Sato Y, Yamamoto T, Ogita K, Suzuki T, Miyazawa T. 2004. Oxidation rate of conjugated linoleic acid and conjugated linolenic acid is slowed by triacylglycerol esterification and α -tocopherol. Lipids 39:475-480. doi: 10.1007/s11745-004-1253-z

Tsuzuki T, Kawakami Y. 2008. Tumor angiogenesis suppression by α -eleostearic acid, a linolenic acid isomer with a conjugated triene system, via peroxisome proliferator-activated receptor γ . Carcinogenesis 29:797-806. doi: 10.1093/carcin/bgm298

Universidad de Sevilla. 2009. Manual del carbón activo. Sevilla [Online]. Disponible en: www.elaguapotable.com/Manual%20del%20carbón%20activo.pdf

Universidad Nacional de Quilmes. 2015. Salting-in-Salting-out-precipitacion-solventes, [Online]. <http://ufq.unq.edu.ar/Docencia-Virtual/BQblog/Salting-in-Salting-out-precipitacion-solventes>

Valente Nabais JM, Laginhas CE, Carrott PJM, Ribeiro Carrott MML. 2011. Production of activated carbons from almond Shell. *Fuel processing technology* 92:234-240. doi: 10.1016/j.fuproc.2010.03.024

Vegas Niño R, Zavaleta AI, Vegas Pérez C. 2017. Efecto del pH y cloruro de sodio sobre las propiedades funcionales de harina de semillas de lupinus mutabilis “tarwi” variedad criolla. *Agroindustrial Science* 7:49-55. doi: 10.17268/agroind.sci.2017.01.05

Vidrih R, Hribar J, Sekse L. 2009. Cherry seeds as a source of nutritionally important fatty acids. *Acta Horticulturae* 1020:165-172. doi: 10.17660/ActaHortic.2014.1020.23

Walte M, Marchesan E. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activity of rice. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 54:371-377. doi: 10.1590/S1516-89132011000200020

Wani AA, Sogi DS, Singh P, Khatkar BS. 2013. Influence of watermelon seed protein concentrates on dough handling, textural and sensory properties of cookies. *Journal of Food Science and Technology* 52:2139-2147. doi: 10.1007/s13197-013-1224-3

Wettasinghe M, Shahidi F. 2000. Scavenging of reactive-oxygen species and DPPH free radicals by extracts of borage and evening primrose meals. *Food Chemistry* 70: 17-26. doi:10.1016/S0308-8146(99)00269-1

Yesiltas B, Sorensen AM, García Moreno PJ, Anankanbil S, Guo Z, Jacobsen C. 2018. Combination of sodium caseinate and succinylated alginate improved stability of high fat fish oil-in-water emulsions. *Food Chemistry* 255:290-299. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.02.074

Yih PK, Soo PK, Kamariah L, Shariah L, Sharifah ZSA, Chin PT. 2014. A comparative study of the physicochemical properties of a virgin coconut oil emulsion and commercial food supplement emulsions. *Molecules* 19: 9187-9202. doi: 10.3390/molecules19079187

Yusuf, A.; Ayedun, H.; Sanni, L. 2008. Chemical composition and functional properties

of raw and roasted Nigerian benniseed (*Sesamum indicum*) and bambara groundnut (*Vigna subterranean*). Food Chemistry 111: 277-282.

Zhang T, Jiang B, Mu W, Wang Z. 2009. Emulsifying properties of chickpea protein isolates: Influence of pH and NaCl. Food Hydrocolloids 23: 146-152. doi: 10.1016/j.foodhyd.2007.12.005

RESUMEN BIOGRÁFICO

Analía Alejandra Lu Martínez

Candidato para el Grado de
Doctor en Ciencias con Acentuación en Alimentos

Tesis: APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE PRODUCTOS Y SUBPRODUCTOS DE LA SEMILLA DE ALMENDRA *PRUNUS SEROTINA* VAR. CAPULI (MCVAUGH, 1951)

Campo de Estudio: Ciencia de los Alimentos

Datos Personales: Nacida en Tampico, Tamaulipas el 13 de Julio de 1989, hija de Juan Ignacio Lu Rodríguez y Maribel Ivon Martínez García.

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Licenciada en Nutrición en 2012 con mención honorífica, tercer lugar en la generación.

Experiencia Profesional: Nutrióloga en empresas Cambridge Weight Plan y My Good Foods (2013-2014). Maestra de materia optativa en la licenciatura de Alimentos de la Universidad Autónoma de Nuevo León (2018).