# UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS PUEBLA

Escuela de Ingeniería

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental

Doctorado en Ciencia de Alimentos



"Las algas *Arthrospira platensis* y *Macrocystis pyrifera* como fuente de ingredientes con potencial en la formulación de alimentos funcionales"

Tesis, que en cumplimiento parcial de los requisitos para obtener el grado de Doctor en Ciencia de los Alimentos, es presentada por

Alexa Pérez Alva

Directores de tesis:

PhD. Milena M. Ramirez Rodrigues

Dr. Aurelio López Malo Vigil

Santa Catarina Mártir, San Andrés Cholula, Puebla Primavera 2023

# Carta de validación



Nombre del estudiante: Alexa Pérez Alva ID: 164852 Nombre del director de tesis: Dra. Milena María Ramírez Rodrigues/Dr. Aurelio López Malo Vidil

Título de la tesis: "Las algas Arthrospira platensis y Macrocystis pyrifera como fuente de ingredientes con potencial en la formulación de alimentos funcionales"

Integrantes del Comité Doctoral	Firma
Dra. Ana Eugenia Ortega Regules	170
Dra. Maria Teresa Jimenez Munguia	Marie .
Dr. Aurelio Lopez Malo Vigil	17/
Dra. Milena María Ramirez Rodrigues	TRump
Dra. Melissa Ramirez Rodrigues	MRamk
Dr. Ernesto Loayza Davila	Feel.

Los integrantes del Comité Doctoral expresamos que hemos leído y revisado el manuscrito de la tesis de Doctorado en Ciencia de Alimentos anteriormente descrita, por lo que estamos de acuerdo en que se proceda a generar la versión definitiva de la tesis y programar el examen de grado en la fecha, horario y lugar que se indican a continuación.

Fecha y hora de examen: lunes 19 de junio de 2023 a las 10:00 h Lugar: BI-310



San Andrés Cholula, Puebla, a 19 de mayo de 2023

Dra. Nelly Ramírez Corona

Coordinadora Académica del Doctorado en Ciencia de Alimentos

Universidad de las Américas Puebla

PRESENTE

Los que suscriben, Dra. Milena M. Ramirez Rodrigues, catedrática del Departamento de Bioingeniería del Tecnológico de Monterrey, y Dr. Aurelio López Malo Vigil, catedrático del Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, hacen constar que la tesis titulada: "Las algas *Arthrospira platensis y Macrocystis pyrifera* como fuente de ingredientes con potencial en la formulación de alimentos funcionales", presentada por Alexa Pérez Alva para obtener el grado de Doctora en Ciencia de Alimentos por la Universidad de las Américas Puebla, ha sido realizada en las instalaciones de esta institución bajo su dirección, y el documento de tesis cumple con las condiciones necesarias para ser turnado a revisión del comité doctoral.

Atentamente

Mamero

Dra. Milena M. Ramirez Rodrigues

Directora de Tesis

Dr. Aurelio López Malo Vigil

Director de Tesis

Fundación Universidad de las Américas Puebla Ex hacienda Sta. Catarina Mártir, 72810 San Andrés Cholula, Puebla, México.

www.udlap.mx

Escaneado con CamScanner

# Índice

Esquema de la tesis	11
Resumen en español y en inglés	12
Introducción	14
Referencias	16
Objetivos	19
Objetivo general:	19
Objetivos específicos:	19
Justificación	19
Artículos	20
Capítulo 1. El alga parda ( <i>Macrocystis pyrifera</i> ) como fuente potencial de compuesto bioactivos // <i>Macrocystis pyrifera</i> , a potential source of bioactive compounds	
Capítulo 2. Efecto de la adición del alga parda ( <i>Macrocystis pyrifera</i> ) sobre las características nutricionales y de calidad de tortillas de maíz amarillo, azul y rojo// Ef of brown seaweed ( <i>Macrocystis pyrifera</i> ) addition on nutritional and quality characteristics of yellow, blue, and red maize tortillas	
Capítulo 3. Compuestos bioactivos en tortillas de maíz de colores enriquecidas con Macrocystis pyrifera// Bioactive compounds in colored maize tortillas fortified with Macrocystis pyrifera	59
Capítulo 4. Caracterización fisicoquímica de pastas funcionales// Physicochemical characterization of functional pastas	77
Conclusiones y recomendaciones generales	93
Anexos	94
Productos generados durante el Doctorado, evidencias de participación en congreso publicaciones adicionales	•
Adición de espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ) en un sistema de fermentación controlad efecto sobre la velocidad de fermentación, color, compuestos volátiles y comportamiento de la levadura // Addition of spirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ) on a controlled fermentation system, effect on the fermentation's rate, color, volatile compounds, and yeast behavior.	da, 102

# Índice de figuras

Figura 1. Composición química (%) de Macrocystis pyrifera
Figura 2. Contenido mineral (mg / 100 g) de Macrocystis pyrifera. Los superíndices con
letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Los resultados se expresan
como media (n = 3) ± desviación estándar (SD)
Figura 3. Cromatograma TIC de floroglucinol en ESI- (973.0 /229)
Figura 4. Espectro de masas de los carotenoides identificados en Macrocystis pyrifera. (a)
α-tocoferol; (b) fucoxantina; (c) β-caroteno; (d) δ-tocoferol; (e) luteína/zeaxantina 29
Figura 5. Dureza de las masas preparadas con maíz amarillo, azul o rojo y diferentes
concentraciones de algas pardas (Macrocystis pyrifera). Los superíndices con letras
diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Los resultados se expresan como
media (n = 3) y desviación estándar (SD = ±). YT, BT y RT se refieren al tipo de maíz
utilizado (amarillo, azul y rojo, respectivamente), mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la
concentración de algas añadidas (%), siendo 0 el control
Figura 6. Contenido de compuestos fenólicos totales (TPC) de las masas preparadas con
maíz amarillo, azul o rojo y diferentes concentraciones de alga parda (Macrocystis
pyrifera). Los superíndices con letras diferentes indican diferencias significativas (p <
0.05). Los resultados se expresan como media (n = 3) y desviación estándar (SD = ±). YT,
BT y RT se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo, azul y rojo, respectivamente),
mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la concentración de algas añadidas (%), siendo 0 el
control
Figura 7. Contenido de compuestos fenólicos totales (CPT) de las tortillas preparadas con
maíz amarillo, azul o rojo y diferentes concentraciones de alga parda ( <i>Macrocystis</i>
pyrifera). Los superíndices con letras diferentes indican diferencias significativas (p <
0.05). Los resultados se expresan como media (n = 3) y desviación estándar (SD = ±). YT,
BT y RT se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo, azul y rojo, respectivamente),
mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la concentración de algas añadidas (%), siendo 0 el
control
Figura 8. Capacidad antioxidante (ORAC) de las masas preparadas con maíz amarillo,
azul o rojo y diferentes concentraciones de alga parda ( <i>Macrocystis pyrifera</i> ). (a) Extractos
en agua; (b) Extractos en metanol:agua. Los superíndices con letras diferentes indican
diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Los resultados se expresan como media ( $n = 3$ ) y desviación estándar (SD = $\pm$ ). YT, BT y RT se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo,
azul y rojo, respectivamente), mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la concentración de algas
añadidas (%), siendo 0 el control
Figura 9. Capacidad antioxidante (ORAC) de tortillas preparadas con maíz amarillo, azul
o rojo y diferentes concentraciones de alga parda ( <i>Macrocystis pyrifera</i> ). (a) Extractos en
agua; (b) Extractos en metanol:agua. Los superíndices con letras diferentes indican
diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Los resultados se expresan como media ( $n = 3$ ) y
desviación estándar (SD = ±). YT, BT y RT se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo,
azul y rojo, respectivamente), mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la concentración de algas
añadidas (%), siendo 0 el control
Figura 10. Heat map de los compuestos fenólicos encontrados en tortillas de maíz
coloreadas con diferentes concentraciones de alga marrón ( <i>Macrocystis pyrifera</i> ) 67
Figura 11. Suma de compuestos fenólicos encontrados en tortillas de maíz con diferentes
concentraciones de algas. Los resultados se presentan como media ± DE. Los
superíndices con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). YT, BT y RT

se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo, azul o rojo) y 0-9 es la concentración (%)	
algas utilizadas	
Figura 12. Heat map de carotenoides y tocoferoles encontrados en tortillas de maíz co	
diferentes concentraciones de alga marrón Macrocystis pyrifera	. 70
Figura 13. Suma de carotenoides y tocoferoles encontrados en tortillas de maíz con	
diferentes concentraciones del alga parda Macrocystis pyrifera. Los resultados se	
presentan como media ± DE. Los superíndices con letras diferentes indican diferencias	
significativas ( $p$ < 0.05). YT, BT y RT se refieren al tipo de maíz	
Figura 14. Distribución granulométrica del polvo	
Figura 15. Color de polvos y pastas	
Figura 16. Evaluación sensorial de pastas con distintos ingredientes funcionales	
Figura 17. Algas pardas, rojas, verdes y microalga	
Figura 18. Seaweed gatherers at Omori por Utagawa Kuniyoshi	. 96
Figura 19. Productos comerciales preparados con algas	. 98
Figura 20. Cambio de la densidad en el tiempo, muestra una representación de la	
disminución de la densidad a través de la actividad fermentativa de Saccharomyces	
pastorianus entre los diferentes tratamientos del mosto (N=3)	105
Figura 21. Cambio del pH en el tiempo muestra una representación de los cambios del	l
pH a través de la actividad fermentativa de Saccharomyces pastorianus entre los	
diferentes tratamientos del mosto (N=3)	
Figura 22. Variación del free amino nitrogen (FAN) y del recuento celular total (células/	/
mL) por la actividad fermentativa de Saccharomyces pastorianus entre los diferentes	
tratamientos del mosto (N=3)	107
Figura 23. Cambios en las células en suspensión por la actividad fermentativa de	
Saccharomyces pastorianus entre los diferentes tratamientos del mosto (N=3)	
Figura 24. Artículo de revisión publicado en la revista Algal Research. Referencia: Pére	
Alva, A., MacIntosh, A. J., Baigts-Allende, D. K., García-Torres, R., & Ramírez-Rodrigue	es,
M. M. (2022). Fermentation of algae to enhance their bioactive activity: A review. Algal	
Research, 64, 102684	109
Figura 25. Artículo de investigación publicado en Journal of Food Composition and	
Analysis. Referencia: Baigts-Allende, D. K., Perez-Alva, A., Ramirez-Rodrigues, M. A.,	
Palacios, A., & Ramirez-Rodrigues, M. M. (2021). A comparative study of polyphenolic	
amino acid profiles of commercial fruit beers. Journal of Food Composition and Analysis	
100, 103921	110
Figura 26. Artículo de investigación publicado en Sustainability. Referencia: Ramírez-	
Rodrigues, M. M., Estrada-Beristain, C., Metri-Ojeda, J., Pérez-Alva, A., & Baigts-Allend	de,
D. K. (2021). Spirulina platensis protein as sustainable ingredient for nutritional food	
products development. Sustainability, 13(12), 6849	111
Figura 27. Artículo de investigación publicado en Waste and Biomass Valorization.	
Referencia: Baigts-Allende, D. K., Pérez-Alva, A., Metri-Ojeda, J. C., Estrada-Beristain,	•
Ramírez-Rodrigues, M. A., Arroyo-Silva, A., & Ramírez-Rodrigues, M. M. (2022). Use of	)f
Hibiscus sabdariffa by-Product to Enhance the Nutritional Quality of Pasta. Waste and	
Biomass Valorization, 1-13.	112
Figura 28. Artículo de investigación en proceso de revisión en el journal Food and	
Humanity	113
Figura 29. Artículo de investigación en proceso de revisión en el journal Food and	
Humanity	113

Figura 30. Capítulo de libro. Referencia. Hernández, L. R., & Meneses, M. A. S. (2023)	3).
Technology, Science and Culture: A Global Vision, Volume IV. In Technology, Science	)
and Culture-A Global Vision, Volume IV. IntechOpen	. 114
Figura 31. Artículo de revisión publicado en la revista TSIA	. 114
Figura 32. Constancia de participación	. 115
Figura 33. Constancia de participación	. 115
Figura 34. Cartel presentado en el congreso del IFT, first 2022	. 116
Figura 35. Cartel presentado en el congreso del IFT, first 2022	. 117
Figura 36. Constancia de participación	
Figura 37. Cartel presentado en el congreso de AMECA, Latin Food 2022	. 119
Figura 38. Constancia de participación	. 120
Figura 39. Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso	
Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 1 de 8	. 121
Figura 40. Figura 39. Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to	
Congreso Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 2	de 8
	. 121
Figura 41. Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso	
Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 3 de 8	. 122
Figura 42. Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso	
Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 4 de 8	. 122
Figura 43. Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso	
Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 5 de 8	. 123
Figura 44. Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso	
Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 6 de 8	. 123
Figura 45. Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso	
Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 7 de 8	. 124
Figura 46. Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso	
Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 8 de 8	
Figura 48. Constancia de participación Error! Bookmark not defi	
Figura 48. Constancia de participación	. 125
Figura 49. Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso	
Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 1 de 10	. 126
Figura 50. Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso	
Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 2 de 10	. 126
Figura 51. Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso	
Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 3 de 10	. 127
Figura 52. Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso	407
Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 4 de 10	. 12 <i>1</i>
Figura 53. Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso	
Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 5 de 10	. 128
Figura 54. Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso	400
Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 6 de 10	. 128
Figura 55. Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso	400
Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 7 de 10	. 129
Figura 56. Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso	400
Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 8 de 10	. 129

Figura 57. Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso	
Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 9 de 10	130
Figura 58. Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso	
Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 10 de 10	130

# Índice de tablas

Tabla 1. Compuestos fenólicos identificados en Macrocystis pyrifera	27
Tabla 2. Carotenoides identificados en Macrocystis pyrifera	28
Tabla 3. Concentración del alga parda (Macrocystis pyrifera) utilizada y códigos para ca	da
tipo de masa	38
Tabla 4. Composición nutricional de tortillas con diferentes concentraciones de alga pare	da
(Macrocystis pyrifera)	41
Tabla 5. Contenido en minerales de las tortillas preparadas con maíz amarillo, azul o roj	0
y diferentes concentraciones de algas pardas (Macrocystis pyrifera)	43
<b>Tabla 6.</b> Color de las masas preparadas con maíz amarillo, azul o rojo y diferentes	
concentraciones de algas pardas (Macrocystis pyrifera)	44
<b>Tabla 7.</b> Color de las tortillas preparadas con maíz amarillo, azul o rojo y diferentes	
concentraciones de alga pardas (Macrocystis pyrifera)	46
<b>Tabla 8.</b> Análisis de la textura de tortillas preparadas con maíz amarillo, azul o rojo y	
diferentes concentraciones de alga parda (Macrocystis pyrifera)	48
Tabla 9. Tortillas preparadas con diferentes tipos de maíz (amarillo, azul o rojo) y	
diferentes concentraciones del alga parda Macrocystis pyrifera (0, 3, 6, 9 %)	62
Tabla 10. Condiciones utilizadas para la identificación de compuestos fenólicos.	64
Tabla 11. Condiciones utilizadas para la identificación de carotenoides y tocoferoles	65
<b>Tabla 12.</b> Ingredientes funcionales y proporciones utilizadas para las pastas	79
Tabla 13. Propiedades fisicoquímicas de polvos, masas y pastas preparados con	
diferentes ingredientes funcionales	85
Tabla 14. Composición química de pasta con distintos ingredientes funcionales	88

# Agradecimientos

Primero que nada quiero agradecer a mis padres, Jania y Carlos, porque ellos me enseñaron a no rendirme, y a buscar ser mejor. Sin ellos y sin su apoyo incondicional, jamás habría llegado hasta aquí. También quiero agradecerle a mi hermano, Santiago, que siempre ha estado para mí. De igual manera, quiero agradecerle a mi novio, Jorge Omar, por haberme apoyado estos cinco años, por celebrar conmigo las pequeñas victorias y por abrazarme cuando sentía que no podía más. A mis mejores amigos, Gabriela y Abraham, por creer en mí incluso en los momentos en los que yo dudaba de mi capacidad; y a mis roomies Adriana y Pamela, y Farideh y Molene.

Nunca podré terminar de agradecerle lo suficiente a la Dra. Milena Ramírez Rodrigues, porque fue la mejor asesora que pude tener, gracias por toda la ayuda, y por haberme motivado a irme de estancia. Gracias a la Dra. Melissa Ramírez Rodrigues por permitirme trabajar en su laboratorio, sin lugar a dudas, esta tesis no hubiera sido posible sin toda su ayuda. A la Dra. Diana K. Baigts Allende, por haberme permitido participar en su proyecto.

Un agradecimiento especial al Dr. Andrew J. MacIntosh por haberme recibido en su laboratorio, por tener toda la paciencia del mundo conmigo, por estar dispuesto a enseñarme hasta las cosas más sencillas, de igual manera a la Dra. Katherine Thompson-Witrick por toda su ayuda.

No podía olvidar a mis compañeros de laboratorio y amigos de la Universidad de Florida, por haberme hecho sentir como en casa, un agradecimiento especial a Santiago Cárdenas, quien en tan poco tiempo se volvió un gran amigo que no dudó en participar en mi proyecto de tesis, por más colaboraciones juntos. A mis amigos y compañeros de la UDLAP, por todos los buenos momentos, por los no tan buenos y por toda su ayuda.

Finalmente, quiero agradecer a la UDLAP y al CONACyT por el financiamiento de mis estudios, de no haber sido así, esta tesis no sería una realidad el día de hoy. Y un agradecimiento a todos mis profesores.

# Esquema de la tesis

La siguiente tesis está estructurada de la siguiente manera. Se inicia con una breve introducción para contar con el contexto de los temas que se estarán abordando, después se encuentran los objetivos, tanto general como específicos, y la justificación, sección en la que se explica por qué se realizó este proyecto. Posteriormente se encuentran 4 capítulos, cada uno correspondiente a un artículo de investigación, los cuales fueron producto del presente trabajo. Finalmente, se encuentra la sección de anexos, en la que se encuentran constancias de participación a distintos congresos, así como carátulas de un artículo de revisión y de un capítulo de un libro, y un artículo de divulgación.

El capítulo 1 se enfoca en la caracterización química del alga *Macrocystis pyrifera*, especialmente en el perfil de compuestos fenólicos, carotenoides y contenido mineral. Los capítulos 2 y 3 abordan el efecto de utilizar el alga *M. pyrifera* en la elaboración de tortillas de maíz. En estos capítulos se analizó el efecto de utilizar distintos tipos de maíz (amarillo, rojo, y azul) y distintas concentraciones del alga sobre la composición nutricional, propiedades fisicoquímicas y compuestos fenólicos y carotenoides. En el 4 capítulo se utilizaron ambas algas (*M. pyrifera* y *Arthrospira platensis*) en la elaboración de pastas. En este capítulo se analizaron las propiedades de cocción de las pastas, la composición nutricional, y otras propiedades físicas.

El estilo de referencias y citas utilizadas en todos los artículos fueron homologadas al formato de la Asociación Americana de Psicología 7ma edición (APA 7th edition). Las referencias de cada artículo se presentan a continuación.

Capítulo 1: Alexa Pérez-Alva, Melissa A. Ramírez-Rodrigues, Luz Andrea Martínez-Jiménez, Diana K. Baigts-Allende, Milena M. Ramírez-Rodrigues (2023) *Macrocystis pyrifera*, a potential source of bioactive compounds, *Current Nutrition & Food Science*. *Aceptado para su publicación* 

Capítulo 2: Pérez-Alva, A., Baigts-Allende, D. K., Ramírez-Rodrigues, M. A., & Ramírez-Rodrigues, M. M. (2022). Effect of Brown Seaweed (Macrocystis pyrifera) Addition on Nutritional and Quality Characteristics of Yellow, Blue, and Red Maize Tortillas. *Foods*, 11(17), 2627. <a href="https://doi.org/10.3390/foods11172627">https://doi.org/10.3390/foods11172627</a>

Capítulo 3: Alexa Pérez-Alva, Melissa A. Ramírez-Rodrigues, Luz A. Martínez-Jiménez, Santiago Cárdenas-Pinto, Milena M. Ramírez-Rodrigues (2023) Bioactive compounds in colored maize tortillas fortified with *Macrocystis pyrifera*. Food Sciences & Nutrition. **Enviado para su revisión** 

Capítulo 4: Alexa Pérez-Alva, Melissa A. Ramírez-Rodrigues, Ocelotl Hernandez Camargo, Milena M. Ramírez-Rodrigues (2023) Physicochemical characterization of functional pastas. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. *Enviado para su revisión* 

# Resumen en español y en inglés

#### Resumen

Las algas son un grupo muy heterogéneo, que incluye tanto organismos unicelulares como multicelulares. A pesar de las diferencias en su morfología, las algas poseen diversos compuestos de interés, como son los compuestos bioactivos, vitaminas y minerales. De igual manera, dependiendo del tipo de alga, estas pueden ser una fuente importante de proteína o de fibra dietética. En este trabajo se utilizaron dos algas, una microalga (Arthrospira platensis) y una macroalga (Macrocystis pyrifera), y el objetivo fue evaluar la aplicación de estas algas para su utilización en el desarrollo de alimentos. Primero se realizó la caracterización del alga M. pyrifera. Esta caracterización se enfocó en los perfiles de compuestos fenólicos y carotenoides, así como en el contenido mineral, actividad antioxidante y composición química. Los resultados mostraron que el compuesto fenólico más abundante fue el floroglucinol  $(4.45 \pm 0.21 \,\mu\text{g/g})$ , mientras que la fucoxantina (1,124.93)± 3.4 µg/ g) fue el carotenoide más abundante. Mientras que de los minerales analizados (Na, Ca, P, K, y Mg), el K fue el más abundante con 15,545.23 ± 23.72 mg/100 g. Posteriormente, el alga fue utilizada para elaborar tortillas de maíz. Se utilizaron diferentes concentraciones del alga (0, 3, 6 y 9 % w/w) y distintos tipos de maíz (amarillo, azul y rojo) y se evaluaron la composición nutricional, y el contenido mineral, se midió el color, la textura, los compuestos fenólicos totales (TPC) y la capacidad antioxidante de las masas y las tortillas. La adición del alga generó un aumento significativo en el contenido de proteína y fibra, además de un aumento significativo en todos los minerales analizados (Na. Ca. P. K y Mg). También, mediante cromatografía líquida acoplada a masas (LC-MS/MS) se analizó el perfil de carotenoides y compuestos fenólicos de las tortillas. Los resultados mostraron que el compuesto fenólico más abundante fue el ácido p-hidroxibenzoico (ácido 4-hidroxibenzoico) con 3.84 ± 0.01 µg/ g de muestra en tortillas de maíz azul con un 9 % de algas. La fucoxantina fue el carotenoide más abundante (408.38 ± 9.55 µg/ g) y se encontró en la tortilla de maíz roja con 9 % de algas. La incorporación de las algas a las tortillas de maíz dio lugar a diferencias significativas en el contenido fitoquímico. Finalmente, se utilizaron ambas algas (A. platensis y M. pyrifera), así como otros ingredientes (pulpa de café, flores de Hibiscus sabdariffa, proteína de hemp y amaranto) para preparar pastas. En esta parte de la investigación se analizó el tamaño de partícula, propiedades de cocción de las pastas, contenido nutricional y el perfil de amino ácidos. Se observó que las propiedades de cocción de la pasta se vieron significativamente afectadas por los ingredientes funcionales. Las pastas con hemp y A. platensis presentaron el mayor tiempo óptimo de cocción, además de presentar el mayor contenido de proteína y de amino ácidos.

#### Abstract

Multicellular. Despite the differences in their morphology, algae have several compounds of interest, such as bioactive compounds, vitamins and minerals. Similarly, depending on the type of algae, they can be an important source of protein or dietary fiber. In this work, two algae were used, a microalgae (Arthrospira platensis) and a macroalga (Macrocystis pyrifera), and the objective wasto evaluate the application of these algae for use in food development. First, the characterization of the alga M. pyrifera was performed. This characterization focused on the profiles of phenolic compounds and carotenoids, as well as mineral content, antioxidant activity and chemical composition. The results showed that the most abundant phenolic compound was phloroglucinol (4.45 ± 0.21 µg/g), while fucoxanthin (1,124.93 ± 3.4 µg/g) was the most abundant carotenoid. While of the minerals analyzed (Na, Ca, P, K, and Mg), K was the most abundant with 15,545.23 ± 23.72 mg/100 g. Later, the seaweed was used to make corn tortillas. Different concentrations of the seaweed (0, 3, 6 and 9% w/w) and different types of corn (yellow, blue and red) were used and the nutritional composition and mineral content were evaluated, the color, texture, total phenolic compounds (TPC) and antioxidant capacity of the doughs and tortillas were measured. The addition of the algae generated a significant increase in protein and fiber content, in addition to a significant increase in all minerals analyzed (Na, Ca, P, K and Mg). Also, by means of liquid chromatography coupled to masses (LC-MS / MS) the profile of carotenoids and phenolic compounds of the tortillas was analyzed. The results showed thatthe most abundant phenolic compound was p-hydroxybenzoic acid (4-hydroxybenzoic acid) with 3.84 ± 0.01 µg / g sample in blue corn tortillas with 9% algae. Fucoxanthin was the most abundant carotenoid (408.38 ± 9.55 µg/g) and was found in red corn tortilla with 9% algae. The incorporation of seaweed into corn tortillas resulted in significant differences in phytochemical content. Finally, both algae (A. platensis and M. pyrifera) as well as other ingredients (coffee pulp, Hibiscus sabdariffa flowers, hemp protein and amaranth) were used to prepare pasta. In this part of the research, the particle size, cooking properties of the pasta, nutritional content and amino acid profile were analyzed. It was observed that the cooking properties of the pasta were significantly affected by the functional ingredients. Pastas with hemp and A. platensis presented the longest optimal cooking time, in addition to presenting the highest content of protein and amino acids.

## Introducción

Las algas, un grupo heterogéneo de organismos provenientes de diversos grupos filogenéticos, son uno de los alimentos funcionales (alimentos que además de sus propiedades nutricionales, poseen un efecto benéfico para la salud como la reducción del riesgo de enfermedades crónicas (Cencic & Chingwaru, 2010; Gul et al., 2016)) más antiguos conocidos por la humanidad (Rajauria & Yuan, 2021; Syrpas & Venskutonis, 2020). En general, las algas pueden habitar océanos, aguas dulces, y hábitats terrestres (Syrpas & Venskutonis, 2020). Se desconoce el número específico de especies de algas, y se ha estimado que existen entre uno y diez millones (Ibañez & Cifuentes, 2013; Syrpas & Venskutonis, 2020). A grandes rasgos, las algas se dividen en macro y microalgas (Cai et al., 2021).

Las primeras, también conocidas como vegetales marinos, son organismos pluricelulares que comprenden al filo de las ocrofitas (*Ochrophyta*), que a su vez, incluyen a las algas pardas o marrones (*Phaeophyceae*), las algas rojas (*Rhodophyceae*) y las algas verdes (*Chlorophyceae*) (Paul et al., 2013; Rajauria & Yuan, 2021). Estas habitan el suelo marino de todos los continentes y se suelen encontrar en las zonas intermareales, donde se encuentran expuestas al aire y a la desecación cuando la marea es baja, y a fluctuaciones diarias o estacionales de temperatura y salinidad (Paul et al., 2013; Syrpas & Venskutonis, 2020). A pesar de que las macroalgas han sido consumidas por siglos en países asiáticos, y en Europa como una forma de combatir las hambrunas, únicamente 10 especies con cultivadas de manera intensiva (Fleurence, 2016; Syrpas & Venskutonis, 2020). Estas algas son cultivadas principalmente para la obtención de distintos hidrocoloides (alginato, agar y carragenina), así como para ser utilizados como aditivos alimentarios, alimento para animales, nutracéuticos, fertilizantes y biocombustibles (Buschmann et al., 2017; Fleurence, 2016).

Macrocystis pyrifera es un alga parda que crece en las costas de Australasia, islas subantárticas, Sudáfrica y la costa del Pacífico de Norte y Sudamérica, en países como Perú y Chile (Biancacci et al., 2022; Leyton et al., 2019). Puede llegar a medir hasta 45 m y es considerada como la especie más larga, y crece formando bosques marinos que fungen como hábitat y alimento a una variedad de organismos (Biancacci et al., 2022). Al ser una de las algas de mayor tamaño, y velocidad de crecimiento se le considera como una de las especies más prometedoras para la producción de biomasa (Buschmann et al., 2017; Navarrete et al., 2021). Se cultiva principalmente para la obtención de alginato y para ser utilizada como alimento para abulones (Haliotis fulgens) (Leyton et al., 2019). De igual manera, esta alga es una fuente de diversos compuestos con valor añadido, como son el floroglucinol y la fucoxantina, además de poseer un elevado contenido de minerales esenciales (K, Na, Mg, P, Ca, I) lo que la hace atractiva para la industria (Biancacci et al., 2022; Camus et al., 2019).

Por otra parte, a diferencia de las macroalgas, las microalgas son invisibles a simple vista y pueden medir entre 0.2 y 200  $\mu m$  (Cai et al., 2021; Syrpas & Venskutonis, 2020). Estos organismos se pueden encontrar tanto en agua dulce como salada y en ambientes extremos como son regiones polares, desiertos y aguas termales (Cai et al., 2021; Foo

et al., 2021). El grupo de las microalgas está conformado por los organismos unicelulares pertenecientes a Dinoflagellata (dinoflagelados fotosintéticos, marinos y de agua dulce o plancton), Cryptophyta (algas eucariotas, en su mayoría de agua dulce, pero también pueden habitar aguas marinas y salobres), Raphidophyta (algas eucariotas, marinas y de agua dulce), y Cyanophyta (algas procariotas, y algas verde-azules fotosintéticas) (Rajauria & Yuan, 2021). Se ha reportado que las microalgas eran consumidas desde la antigüedad por culturas como los Aztecas, y en países como China, Tailandia y Chad (Foo et al., 2021; Rajauria & Yuan, 2021). Y actualmente, son cultivadas para la obtención de biomasa, como alimentos funcionales, suplementos alimenticios, así como para obtener colorantes y polisacáridos para alimentos y productos cosméticos (Cai et al., 2021).

La microalga *Arthrospira platensis*, también conocida como espirulina, es una cianobacteria Gram negativa que pose filamentos helicoidales que dan origen a su nombre (ElFar et al., 2022; Papalia et al., 2019). Los Aztecas cultivaban esta alga en el lago de Texcoco y la consumían con tortillas y elotes asados (Rajauria & Yuan, 2021). Esta microalga se caracteriza por tener un elevado contenido proteico (hasta 70 % de materia seca (Böcker et al., 2021)) y ser fuente de aminoácidos esenciales, como arginina, isoleucina, fenilalanina, leucina y valina (Ricigliano & Simone-Finstrom, 2020); así como de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA's), vitaminas (B12 y provitamina A), y minerales (Fe) (ElFar et al., 2022). Se puede encontrar en el mercado, principalmente como polvo, tabletas y cápsulas, y adicionada a algunos productos de panificación (Papalia et al., 2019).

Actualmente, los consumidores se han vuelto cada vez más conscientes y muestran una preferencia por etiquetas limpias, ingredientes alimentarios simples, mínimamente procesados y sin aditivos ni conservadores (Rajauria & Yuan, 2021). De igual manera, buscan alimentos orgánicos que sean producidos de manera sustentable (Afonso et al., 2019). Las algas, al ser una fuente de compuestos con diversas actividades fisiológicas, surgen como un ingrediente novedoso para el desarrollo de alimentos funcionales. (Rajauria & Yuan, 2021). Y a pesar de que han sido utilizadas como agentes gelificantes, colorantes, y para modificar las propiedades nutricionales de diversos productos (Rajauria & Yuan, 2021; Ścieszka & Klewicka, 2018), aún quedan retos por resolver. Uno de los problemas frecuentes al añadir diversas algas a los productos es el cambio de sabor, color y aroma, muchas veces descritos como a "pescado" (Lafarga, 2019), así como cambios en las propiedades físicas de los productos (Rajauria & Yuan, 2021). Sin embargo, una ventaja de incorporarlas a alimentos ya existentes es la posibilidad de mejorar su contenido nutricional e incluso de lograr que estos alimentos sean funcionales (Rajauria & Yuan, 2021; Ścieszka & Klewicka, 2018).

Alimentos basados en cereales como son la pasta y las tortillas son altamente aceptados por gran parte de la población. Sin embargo, no contienen suficientes aminoácidos esenciales, por lo que su contenido proteico es considerado como deficiente (Salazar et al., 2020; Ścieszka & Klewicka, 2018). El contenido y calidad de la proteína se basa en cuanto nitrógeno y amino ácidos esenciales la proteína provee (Lee et al., 2016). Por ejemplo, se ha reportado que pastas elaboradas con harina de trigo puede presentar deficiencias en el contenido de valina, leucina e isoleucina (Ramírez-Rodrigues et al., 2021); mientras que tortillas elaboradas con maíz tienen un bajo contenido de lisina y triptófano (Salazar et al.,

2020). Por lo que la incorporación de algas puede mejorar el perfil de aminoácidos, incrementar el contenido de minerales, fibra, así como añadir algunos compuestos con propiedades bioactivas, como compuestos fenólicos y carotenoides (Fradinho et al., 2019; Rajauria & Yuan, 2021; Ścieszka & Klewicka, 2018). Este tipo de alimentos, que al contener compuestos bioactivos, pueden ayudar a fortalecer el sistema inmune, preservar la salud, e incluso prevenir algunas enfermedades degenerativas como el cáncer, son conocidos como nutracéuticos o alimentos funcionales (Kumar et al., 2017). Por lo tanto, el objetivo de esta tesis es utilizar las algas *Arthrospira platensis* y *Macrocystis pyrifera* para desarrollar diferentes alimentos (tortillas, pastas), y evaluar el efecto de su incorporación en el contenido nutricional, nutracéutico y en las propiedades fisicoquímicas de estos.

#### Referencias

- Afonso, N. C., Catarino, M. D., Silva, A. M. S., & Cardoso, S. M. (2019). Brown Macroalgae as Valuable Food Ingredients. *Antioxidants*, 8(9), 365. https://doi.org/10.3390/antiox8090365
- Biancacci, C., Sanderson, J. C., Evans, B., Callahan, D. L., Francis, D. S., Skrzypczyk, V. M., Cumming, E. E., & Bellgrove, A. (2022). Variation in biochemical composition of wild-harvested Macrocystis pyrifera (Ochrophyta) from sites proximal and distal to salmon farms in Tasmania, Australia. *Algal Research*, 65, 102745. https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102745
- Böcker, L., Bertsch, P., Wenner, D., Teixeira, S., Bergfreund, J., Eder, S., Fischer, P., & Mathys, A. (2021). Effect of Arthrospira platensis microalgae protein purification on emulsification mechanism and efficiency. *Journal of Colloid and Interface Science*, 584, 344-353.
  - https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.09.067
- Buschmann, A. H., Camus, C., Infante, J., Neori, A., Israel, Á., Hernández-González, M. C., Pereda, S. V., Gomez-Pinchetti, J. L., Golberg, A., Tadmor-Shalev, N., & Critchley, A. T. (2017). Seaweed production: Overview of the global state of exploitation, farming and emerging research activity. *European Journal of Phycology*, 52(4), 391-406. https://doi.org/10.1080/09670262.2017.1365175
- Cai, J., Lovatelli, A., Aguilar-Manjarrez, J., Cornish, L., Dabbadie, L., Desrochers, A., Diffey, S., Garrido Gamarro, E., Geehan, J., Hurtado, A., Lucente, D., Mair, G., Miao, W., Potin, P., Przybyla, C., Reantaso, M., Roubach, R., Tauati, M., & Yuan, X. (2021). Seaweeds and microalgae: An overview for unlocking their potential in global aquaculture development. FAO Fisheries and Aquaculture Circular, (1229) 49.
  - https://doi.org/10.4060/cb5670en
- Camus, C., Infante, J., & Buschmann, A. H. (2019). Revisiting the economic profitability of giant kelp Macrocystis pyrifera (Ochrophyta) cultivation in Chile. *Aquaculture*, *502*, 80-86.
  - https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.030
- Cencic, A., & Chingwaru, W. (2010). The Role of Functional Foods, Nutraceuticals, and Food Supplements in Intestinal Health. *Nutrients*, *2*(6), 611-625. https://doi.org/10.3390/nu2060611

- ElFar, O. A., Billa, N., Lim, H. R., Chew, K. W., Cheah, W. Y., Munawaroh, H. S. H., Balakrishnan, D., & Show, P. L. (2022). Advances in delivery methods of Arthrospira platensis (spirulina) for enhanced therapeutic outcomes. *Bioengineered*, *13*(6), 14681-14718. https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2100863
- Fleurence, J. (2016). Seaweeds as Food. En J. Flreurence & I.Levine (Eds.), Seaweed in Health and Disease Prevention (pp. 149-167). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802772-1.00005-1
- Foo, S. C., Khoo, K. S., Ooi, C. W., Show, P. L., Khong, N. M. H., & Yusoff, F. M. (2021). Meeting Sustainable Development Goals: Alternative Extraction Processes for Fucoxanthin in Algae. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *8*, 546067. https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.546067
- Fradinho, P., Raymundo, A., Sousa, I., Domínguez, H., & Torres, M. D. (2019). Edible Brown Seaweed in Gluten-Free Pasta: Technological and Nutritional Evaluation. *Foods*, *8*(12),622. https://doi.org/10.3390/foods8120622
- Gul, K., Singh, A. K., & Jabeen, R. (2016). Nutraceuticals and Functional Foods: The Foods for the Future World. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *56*(16), 2617-2627. https://doi.org/10.1080/10408398.2014.903384
- Ibañez, E., & Cifuentes, A. (2013). Benefits of using algae as natural sources of functional ingredients. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *93*(4), 703-709. https://doi.org/10.1002/jsfa.6023
- Kumar, K., Yadav, A. N., Kumar, V., Vyas, P., & Dhaliwal, H. S. (2017). Food waste: A potential bioresource for extraction of nutraceuticals and bioactive compounds. *Bioresources and Bioprocessing*, 4(1), 18. https://doi.org/10.1186/s40643-017-0148-6
- Lafarga, T. (2019). Effect of microalgal biomass incorporation into foods: Nutritional and sensorial attributes of the end products. *Algal Research*, *41*, 101566. https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101566
- Lee, W. T., Weisell, R., Albert, J., Tomé, D., Kurpad, A. V., & Uauy, R. (2016). Research Approaches and Methods for Evaluating the Protein Quality of Human Foods Proposed by an FAO Expert Working Group in 2014. *The Journal of Nutrition*, 146(5), 929-932. https://doi.org/10.3945/jn.115.222109
- Leyton, A., Lienqueo, M. E., & Shene, C. (2019). Macrocystis pyrifera: Substrate for the production of bioactive compounds. *Journal of Applied Phycology*, *32*(4), 2335-2341.
  - https://doi.org/10.1007/s10811-019-02018-x
- Navarrete, I. A., Kim, D. Y., Wilcox, C., Reed, D. C., Ginsburg, D. W., Dutton, J. M., Heidelberg, J., Raut, Y., & Wilcox, B. H. (2021). Effects of depth-cycling on nutrient uptake and biomass production in the giant kelp Macrocystis pyrifera. *Renewable* and Sustainable Energy Reviews, 141, 110747. https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.110747

- Papalia, T., Sidari, R., & Panuccio, M. R. (2019). Impact of Different Storage Methods on Bioactive Compounds in Arthrospira platensis Biomass. *Molecules*, *24*(15), 2810. https://doi.org/10.3390/molecules24152810
- Paul, S. N. A., Tseng, C. K., & Borowitzka, M. M. (2013). Seaweed and Microalgae. En J. S. Lucas & P. C. Southgate (Eds.), *Aquaculture* (pp. 268-293). John Wiley & Sons, Ltd. https://doi.org/10.1002/9781118687932.ch13
- Rajauria, G., & Yuan, Y. V. (2021). Algae: A Functional Food with a Rich History and Future Superfood. En G. Rajauria & Y. V. Yuan (Eds.), *Recent Advances in Micro and Macroalgal Processing* (pp. 1-13). John Wiley & Sons, Ltd. https://doi.org/10.1002/9781119542650.ch1
- Ramírez-Rodrigues, M. M., Estrada-Beristain, C., Metri-Ojeda, J., Pérez-Alva, A., & Baigts-Allende, D. K. (2021). Spirulina platensis Protein as Sustainable Ingredient for Nutritional Food Products Development. *Sustainability*, *13*(12), 6849. https://doi.org/10.3390/su13126849
- Ricigliano, V. A., & Simone-Finstrom, M. (2020). Nutritional and prebiotic efficacy of the microalga Arthrospira platensis (spirulina) in honey bees. *Apidologie*, *51*(5), 898-910.
  - https://doi.org/10.1007/s13592-020-00770-5
- Salazar, D., Rodas, M., & Arancibia, M. (2020). Production of tortillas from nixtamalized corn flour enriched with Andean crops flours: Faba-bean (Vicia faba) and white-bean (Phaseolus vulgaris). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 731-738. https://doi.org/10.9755/ejfa.2020.v32.i10.2179
- Ścieszka, S., & Klewicka, E. (2018). Algae in food: A general review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *59*(21), 3538-3547. https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1496319
- Syrpas, M., & Venskutonis, P. R. (2020). Algae for the production of bio-based products. En C. M. Galanakis (Ed.), *Biobased Products and Industries* (pp. 203-243). Elsevier.
  - https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818493-6.00006-3

# **Objetivos**

### Objetivo general:

Evaluar la aplicación de las algas *Arthrospira platensis* y *Macrocystis pyrifera* para su utilización en el desarrollo de alimentos

### Objetivos específicos:

- Realizar una revisión bibliográfica sobre las características, y potencial uso de algas en alimentos
- Realizar una caracterización del alga mexicana Macrocystis pyrifera en cuanto a compuestos fenólicos y carotenoides, contenido mineral, actividad antioxidante y composición química
- Analizar el efecto de incorporar el alga parda Macrocystis pyrifera en tortillas de maíz y masa preparada con diferentes genotipos de maíz (amarillo, azul y rojo), centrándose en la composición nutricional, color, textura, contenido mineral, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante
- Identificar las diferencias en el contenido de compuestos fenólicos y carotenoides al utilizar diferentes concentraciones del alga *Macrocystis pyrifera* y diferentes tipos de maíz (amarillo, azul y rojo) en la preparación de tortillas
- Determinar los cambios fisicoquímicos y nutricionales al sustituir parcialmente harina de trigo con las algas Arthrospira platensis y Macrocystis pyrifera para elaborar pasta

## Justificación

Las algas han sido consumidas desde la antigüedad; sin embargo, en años recientes su incorporación en distintos alimentos a generado interés por parte de la industria alimentaria, científicos y consumidores. Esto se relaciona con los cambios en las preferencias de los consumidores. Las algas surgen como una fuente de compuestos con propiedades bioactivas, como lo son los compuestos fenólicos y carotenoides, además de vitaminas y minerales. Además, las macromoléculas provenientes de las algas pueden modificar las características finales del alimento, ya que pueden actuar como agentes espesantes, gomas y sustancias estabilizadoras.

Por lo que la incorporación de algas a distintas matrices alimentarias puede modificar las características fisicoquímicas del alimento, además puede generar variaciones en el contenido nutricional de estos. Incluso el contenido de compuestos con propiedades bioactivas se puede ver mejorado. Debido a esto, se estudia el efecto de la incorporación de las algas *M. pyrifera* y *A. platensis* a distintas matrices alimentarias (tortillas y pastas).

## **Artículos**

Capítulo 1. El alga parda (*Macrocystis pyrifera*) como fuente potencial de compuestos bioactivos // *Macrocystis pyrifera*, a potential source of bioactive compounds

Alexa Pérez-Alva<sup>a</sup>, Melissa A. Ramírez-Rodrigues<sup>b</sup>, Luz Andrea Martínez-Jiménez<sup>b</sup>, Diana K. Baigts-Allende<sup>c</sup>, Milena M. Ramírez-Rodrigues<sup>d,\*</sup>

- <sup>a</sup> Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla, Ex Hacienda Sta. Catarina Mártir. 72810. Cholula, Puebla, México
- <sup>b</sup> Laboratorio de Análisis de Alimentos, Intema S.A. de C.V., 31 Sur 2901, Col. Santa Cruz Los Ángeles, Puebla, Puebla, 72400, México
- <sup>c</sup> Czech University of Life Sciences Prague. Faculty of Agrobiology, Food and Natural Resources. Kamýcká 129, Prague, Czech Republic
- <sup>d</sup> Tecnológico de Monterrey, Department of Bioengineering, Vía Atlixcáyotl 5718, Reserva Territorial Atlixcáyotl, 72453, Puebla, Puebla, México
- \* milena.ramirez@tec.mx

#### Resumen

Antecedentes: El alga parda mexicana *Macrocystis pyrifera* se encuentra actualmente sin explotar. Aunque esta alga cosechada en otras regiones ha sido caracterizada, se observan cambios en su composición, por lo que es relevante tener un mejor conocimiento de la variedad mexicana.

Objetivo: El objetivo de este estudio fue realizar una caracterización del alga mexicana *M. pyrifera* en términos de perfiles fenólicos y carotenoides, contenido mineral, actividad antioxidante y composición química.

Métodos: Se determinó la composición química, el contenido mineral, el contenido fenólico total (TPC) y la actividad antioxidante (ORAC). Asimismo, se cuantificaron los compuestos fenólicos y los carotenoides mediante un HPLC acoplado a un detector de espectrometría de masas de triple cuadrupolo.

Resultados: Los carbohidratos (48.81  $\pm$  0.05 %) fueron el macronutriente más abundante, mientras que los lípidos representaron sólo el 0.23  $\pm$  0.01 % del total. De los minerales analizados (Na, Ca, P, K, y Mg), el K fue el más abundante con 15,545.23  $\pm$  23.72 mg/100 g. Para cuantificar los compuestos fenólicos, TPC, y ORAC, se utilizaron dos extractos (agua, y metanol: agua (90:10 v/v)), para el perfil de carotenoides únicamente se utilizó el último. El compuesto fenólico más abundante fue el floroglucinol (4.45  $\pm$  0.21 µg/ g). Se identificaron diez carotenoides, siendo la fucoxantina el más abundante (1,124.93  $\pm$  3.4 µg/ g). Finalmente, a pesar de no haber diferencias significativas (p > 0.05) en el TPC, con

valores entre 16.07 y 17.01 mg GAE/ g, el extracto metanol: agua (90:10 (v/v)) presentó una actividad antioxidante significativamente superior (p < 0.05).

Conclusiones: La caracterización de esta alga puede ayudar a determinar su potencial para diversas aplicaciones.

**Palabras clave:** *Macrocystis pyrifera*, alga parda, compuestos fenólicos, carotenoides, minerales, actividad antioxidante

#### Introducción

Las algas marinas, también conocidas como macroalgas, han sido durante mucho tiempo un alimento básico en la dieta de varios países del Lejano Oriente, como Japón y Corea. Son conocidas por su contenido de polisacáridos, minerales, proteínas, vitaminas y diversos compuestos fitoquímicos (Afonso et al., 2015). Las algas se dividen en tres grupos taxonómicos en función de la pigmentación de su talo: algas rojas, verdes y pardas, también conocidas como Rhodophyta, Chlorophyta y Ochrophyta (Gunathilake et al., 2022).

El alga más grande del mundo, *Macrocystis pyrifera*, también conocida como alga gigante, alga *iodine*, "huiro" o "sargazo gigante", tiene la tasa de crecimiento más rápida registrada por cualquier autótrofo terrestre o marino (Astorga-España et al., 2017; Camus et al., 2019; Vázquez-Delfín et al., 2019). Suele recolectarse para la producción de alginato, que se utiliza como agente espesante en la industria alimentaria y de bebidas (Vázquez-Delfín et al., 2019). Esta alga puede crecer hasta 35 cm al día (Navarrete et al., 2021), y es originaria de las costas de Nueva Zelanda, Chile y México (Purcell-Meyerink et al., 2021). Se encuentra en ecosistemas marinos submareales templados (Navarrete et al., 2021).

A pesar de ser el alga más abundante en la costa occidental de la península de Baja California, sólo se cosecha una pequeña fracción. Esta alga recolectada en territorio mexicano representaba ~30% de la producción mundial en 1999, pero actualmente sólo representa 1%. Esta disminución de la producción se debe principalmente a la incapacidad del alga para cumplir los parámetros de calidad deseados para la producción de alginato (rica en ácido gulurónico, con una proporción de ácido mannurónico respecto al gulurónico inferior al 1% (Vázquez-Delfín et al., 2019)). En la actualidad, se utiliza principalmente para fabricar productos cosméticos, fertilizantes, piensos, y sobre todo para la alimentación del abalón (Haliotis fulgens), además de ser utilizada para la obtención de alginato (Leyton et al., 2019; Vázquez-Delfín et al., 2019). Sin embargo, es una fuente prometedora de compuestos bioactivos como carotenoides y compuestos fenólicos (Biancacci et al., 2022; Camus et al., 2019). Comprender la composición bioquímica de esta alga parda puede ayudar a determinar su potencial para la explotación comercial (Biancacci et al., 2022). Aunque existen varios estudios sobre esta alga, la mayoría de ellos utilizan algas cultivadas en Chile (Landeta-Salgado et al., 2021; Leyton et al., 2016; Ortiz et al., 2009). Se ha reportado que el alga Macrocystis pyrifera puede presentar un contenido de hasta 10 % de equivalentes de floroglucinol (PGE) (b.s.) (Magnusson et al., 2017). Es importante caracterizar el contenido de compuestos fenólicos de las algas cosechadas en las costas mexicanas, ya que estas pueden producir diferentes cantidades de compuestos fenólicos dependiendo de los factores bióticos y abióticos, así como de las características

individuales (especie o etapa de vida, por ejemplo) (Cotas et al., 2020; Magnusson et al., 2017). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue caracterizar el alga mexicana *M. pyrifera* en términos de perfil de compuestos fenólicos y carotenoides, contenido mineral, actividad antioxidante y composición química.

## Materiales y métodos

#### 1. Materiales de ensayo, estándares y productos químicos

El alga parda, *Macrocystis pyrifera*, se adquirió a ALGAS PACIFIC (Ensenada, BC, México). Los reactivos utilizados para determinar la composición química, el contenido fenólico y la capacidad antioxidante eran de calidad analítica y se adquirieron en Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, EE.UU.). Los estándares utilizados para los perfiles fenólicos y carotenoides eran de grado cromatográfico y eran kaempferol, resveratrol, genisteína, ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido vanílico, ácido gálico, rutina, floroglucinol, cloruro de delfinidina, fucoxantina, α-tocoferol, β-caroteno. Todos los estándares se obtuvieron de Sigma-Aldrich Co.; siendo la rutina la única excepción, que se adquirió de Phytolab GmbH & Co. (Vestenbergsgreuth, Alemania).

#### 2. Preparación de las muestras

Las algas fueron secadas a 60 °C utilizando un deshidratador EXC10EL Excalibur (The Legacy Co., Weston, FL, EE.UU.) hasta que el contenido de humedad alcanzó el 12.00 % (b.h.). A continuación, las algas secas se trituraron en un NutriBullet NB606DG (Capital Brands Distribution LLC., Los Angeles, CA, EE.UU.) y se tamizaron con una malla de 270 µm. Además, el tamaño de partícula se evaluó con un Microtrac SDC (Verder Scientific GmbH & Co. KG, Haan, Alemania).

#### 3. Composición química

La composición química de las algas se evaluó utilizando los métodos oficiales de la AOAC para determinar el contenido de proteínas (954.01), lípidos (920.39), fibra dietética total (962.09), cenizas (923.03), azúcares (945.66) y humedad (925.09) (AOAC, 1997). El contenido de hidratos de carbono se determinó por diferencia. El contenido en proteínas se determinó utilizando un factor de conversión de 6.25.

#### 4. Perfil mineral

El perfil mineral (Na, Ca, P, K y Mg) se analizó mediante espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) siguiendo el método 2011.4 de la AOAC, tal y como se describe en un artículo anterior (Pérez-Alva et al., 2022). Brevemente, las muestras fueron digeridas usando un sistema de microondas CEM Mars6 (Charlotte, NC, USA), enfriadas y diluidas a 50 mL con agua triplemente destilada. Para el análisis se utilizó un instrumento ICP-OES Agilent 5110 (Santa Clara, CA, EE.UU.), con el software ICP Expert 7.5.1. Para determinar la concentración de cada mineral se utilizó una curva de calibración de 5 puntos. Esta curva se preparó utilizando una solución estándar multielemento (10 – 50 mg/L Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). Las longitudes de onda

utilizadas para cuantificar cada elemento fueron: 589.592, 315.886, 214.914, 766.491 y 280.27 para Na, Ca, P, K y Mg, respectivamente.

#### 5. Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos y carotenoides

Los compuestos fenólicos y los carotenoides se identificaron y cuantificaron utilizando un HPLC (Agilent Technologies 1290 Infinity II) acoplado a un detector de espectrometría de masas de triple cuadrupolo (Agilent Technologies Ultivo). Para preparar los extractos, se suspendió 1 g de polvo en 10 mL de agua (para compuestos fenólicos) o metanol: agua (90:10 v/v)) (para compuestos fenólicos, y carotenoides), se mezcló durante 1 minuto utilizando un vórtex y se sonicó durante 60 minutos. Tras centrifugar las muestras en una centrifugadora Sorvall Legend (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.) a 5000 rpm durante 10 minutos a 20 °C y filtrarlas con un filtro de nailon de 0.45 µm (Agilent Technologies), estaban listas para el análisis.

Para los compuestos fenólicos, se utilizó una columna Zorbax eclipse SB-C18 (Agilent Technologies) (4.6 x 150 mm, 3.5 µm) y para los carotenoides, una columna Zorbax eclipse plus C18 (Agilent Technologies) (3.10 x 150 mm, 1.8 µm). Las fases móviles utilizadas para los compuestos fenólicos fueron ácido fórmico al 0.1 % (v/v) en agua (A) y ácido fórmico al 0.1 % (v/v) en acetonitrilo (B); mientras que para los carotenoides, las fases móviles fueron cloruro de metileno (A), ácido fórmico al 0.1 % (v/v) en agua (B) y ácido fórmico al 0.1 % (v/v) en metanol (C). La columna se mantuvo a 30 °C, con un flujo de 0.9 mL/min y se utilizó un volumen de inyección de 5 µL. El tiempo total de ejecución para los compuestos fenólicos fue de 30 min, y para los carotenoides, de 6 min. El gradiente utilizado fue: 0 min, 100 % A; 3.5 min, 95 % A, y 5 % B; 7.10 min 85 % A, y 15 % B; 25 – 26 min 60 % A, y 40 % B; 27 – 29 min 100 % B, 30 min 100 % A. Mientras que el gradiente lineal programado para los carotenoides fue: 0 – 3 min, 15 % A, 15 % B, y 70 % C; 3 – 5 min, 50 % A, 50 % C; 6 min 15 % A, 15 % B, y 70 % C.

El espectrómetro de masas de triple cuadrupolo equipado con ionización por electrospray (ESI) se utilizó en modo positivo para el kaempferol, la rutina, el floroglucinol, la genisteína, el cloruro de delfinidina, el ácido vanílico, el resveratrol, el ácido clorogénico, la fucoxantina, el α-tocoferol y el β-caroteno; mientras que el modo negativo se utilizó para el ácido cafeico y el ácido gálico. La optimización del espectrómetro de masas se llevó a cabo mediante infusión directa de soluciones patrón madre de 50 mg/L para seleccionar el modo de ionización y los iones precursores y productos. Para la cuantificación se utilizaron las curvas de calibración de los citados compuestos fenólicos (0.1 – 10 μg/ mL), y patrones de carotenoides (0.005 – 25 μg/ mL). Los compuestos se identificaron por su tiempo de retención, patrones de fragmentación de MS y comparación con los estándares. Los parámetros de MS se ajustaron como sigue: voltaje capilar: 3500 V, temperatura del gas (nitrógeno): 350 °C, flujo de gas: 10 L/h, nebulizador: 55 psi. Los espectros MS/MS se adquirieron utilizando una energía de colisión de 5 – 40 V (compuestos fenólicos) y 6 – 40 V (carotenoides).

#### 6. Compuestos fenólicos totales (TPC) y actividad antioxidante

Los extractos utilizados para determinar el contenido de compuestos fenólicos totales (TPC) y la actividad antioxidante fueron los mismos que los empleados para identificar y cuantificar los compuestos fenólicos y los carotenoides. El TPC se midió mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu, siguiendo el método descrito por Xiang et al. (2014). El espectrofotómetro UV-Vis empleado fue un Multiskan Sky Microplate (Thermo Fischer Scientific). Para determinar la concentración de compuestos fenólicos totales se creó una curva de calibración de ácido gálico (0 – 1000 mg/L). Los resultados obtenidos se expresaron como equivalentes de ácido gálico (mg GAE/100 g). Para determinar la actividad antioxidante se utilizó un lector multimodo Synergy HTX (Bio Tek, Winooski, VT, EE.UU.). Se utilizó ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) para determinar la actividad antioxidante según el método detallado por Huang et al. (2002). La fluorescencia se monitorizó cinéticamente con datos recogidos cada minuto durante 6 horas, y los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox (μmol TE/100 g).

#### 7. Análisis estadístico

Los resultados presentados son el valor medio ± desviación estándar (SD) de tres mediciones. Todos los resultados tuvieron un coeficiente de variación (CV) inferior al 5 %. El análisis estadístico se realizó con el programa estadístico Minitab 19 (Minitab, LLC, State College, PA, EE.UU.) y consistió en un ANOVA unidireccional y una prueba de Tukey para identificar cualquier diferencia entre las muestras. El nivel de significancia utilizado fue de 0.05. Los gráficos se crearon con GraphPad Prism 9 (Dotmatics Inc, Bishop's Stortford, Reino Unido).

#### Resultados y discusión

#### 1. Composición química y contenido mineral

La Figura 1 ilustra la composición química de las algas. El macronutriente más abundante fueron los carbohidratos, que representaron el 48.81 ± 0.05 % de la composición del alga. Este hallazgo es consistente con estudios previos sobre *Macrocystis pyrifera*, en los que se reportaron niveles de carbohidratos de ~ 50 % en algas cosechadas en diferentes años cerca de Puerto Montt, Chile (Landeta-Salgado et al., 2021; Leyton et al., 2016). Se sabe que las algas marinas son ricas en polisacáridos no amiláceos, lo que las convierte en una buena fuente de fibra dietética (Miyashita et al., 2013). En este estudio, se encontró que el 38.95 ± 0.7 % del contenido total de carbohidratos era fibra dietética total, mientras que el 1.21 ± 0.01 % estaba compuesto por azúcares. El alginato y la celulosa fueron los principales carbohidratos identificados en *M. pyrifera* (Landeta-Salgado et al., 2021), mientras que los extractos hidrosolubles contenían varios monosacáridos como ramnosa, fucosa, arabinosa, xilosa, manosa, galactosa, ácido glucurónico, ácido galacturónico y glucosa (Díaz et al., 2017; Jia et al., 2022). Se ha demostrado que estos extractos regulan eficazmente el peso corporal, la glucemia en ayunas y los niveles de insulina, y mejoran la tolerancia a la glucosa y la resistencia a la insulina en ratas diabéticas (Jia et al., 2022).

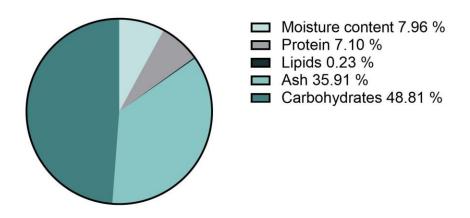
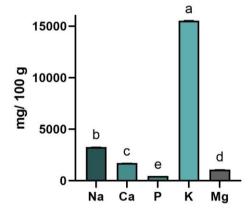


Figura 1. Composición química (%) de Macrocystis pyrifera

En este estudio, el contenido proteico de las algas (7.1 ± 0.11 %) fue similar al reportado por Biancacci et al. (2022) (~ 7.40 %), pero inferior al de otros estudios en los que el contenido proteico osciló entre el 10 y el 13 % (Landeta-Salgado et al., 2021; Leyton et al., 2016). El contenido proteico de las algas marinas puede verse influido por diversas condiciones de cultivo. Por ejemplo, cuando las algas se cultivan cerca de jaulas de salmón, el contenido de proteína puede aumentar debido al aumento de nutrientes derivados de las piscifactorías (Biancacci et al., 2022). Asimismo, las algas cultivadas mediante ciclos en profundidad pueden presentar un mayor contenido proteico que las cultivadas sin este proceso, ya que el ciclado reduce una posible restricción de nitrógeno (Navarrete et al., 2021). Esta restricción de nitrógeno se ha observado particularmente en algas cultivadas en el sur de California (Navarrete et al., 2021). Finalmente, el contenido de lípidos en este estudio (0.23 ± 0.01 %) fue el más bajo entre los macronutrientes analizados, mientras que otros autores han reportado un contenido de lípidos más alto, que va desde 0.48 % (Landeta-Salgado et al., 2021) hasta ~ 1.4 % (Biancacci et al., 2022). Se ha demostrado que las algas cultivadas más cerca de las jaulas de salmón tienen un mayor contenido en lípidos y cambios en la composición de ácidos grasos (Biancacci et al., 2022). Factores ambientales como la temperatura del agua y el nivel de radiación UV también pueden afectar a la composición química de M. pyrifera (Leyton et al., 2016), así como la salinidad, la altura de las olas, el aporte de nutrientes a través del afloramiento y la escorrentía, el pH y la concentración de dióxido de carbono (Harley et al., 2012), los periodos y lugares de recolección y la edad del alga (Olivares-Molina & Fernández, 2016). Estos factores pueden causar variaciones en la composición de una misma alga, por lo que es necesario caracterizar algas de diferentes lugares.

El contenido de cenizas del alga analizada fue de  $35.91 \pm 0.44$  %, lo que es comparable con los resultados reportados por Leyton et al. (2016) para *M. pyrifera* cosechada en noviembre de 2011 en Puerto Montt, Chile (36.16 %). Sin embargo, el contenido de cenizas de *M. pyrifera* cosechada durante marzo y junio de 2013 en la misma región fue menor (21.50 – 25.16 %) (Leyton et al., 2016). Las concentraciones de componentes inorgánicos

varían en función de la profundidad del océano, con concentraciones más bajas en la superficie y más altas en ambientes abisales (Navarrete et al., 2021). La fermentación puede modificar el contenido en cenizas, ya que el micelio de algunos hongos puede absorber elementos minerales y aumentar los niveles de calcio y magnesio. Sin embargo, este aumento está asociado a una disminución de otros nutrientes como los carbohidratos (Landeta-Salgado et al., 2021). La Figura 2 muestra el contenido mineral de las algas analizadas. Los polisacáridos como el alginato, el ácido algínico y la sal del ácido algínico presentes en M. pyrifera y otras algas pardas tienen afinidad por las sales de Na, Ca, K y Mg, dando lugar a mayores tasas de absorción de minerales en comparación con otras algas (Lozano Muñoz & Díaz, 2020). Hubo una diferencia significativa (p < 0.05) en la concentración de todos los minerales analizados, siendo el K el más abundante (15,545.23  $\pm$  23.72 mg/100 g), y el P el menos abundante (463.8  $\pm$  0.43 mg/100 g), con una diferencia de 34 veces entre ellos. Las algas cultivadas a diferentes distancias de las jaulas de salmón también mostraron altas concentraciones de K (10,200 – 15,600 mg/100g), similares a los resultados de este estudio (Biancacci et al., 2022). Aunque la concentración de Na reportada por Biancacci et al. (2022) fue ligeramente superior (4,430 – 5,790 mg/ 100 g), la concentración de Ca, y Mg en este estudio (1,731.5 ± 9.49, y 1,082.11 ± 8.51 mg/ 100 g, respectivamente) fue superior a los valores obtenidos por estos autores (271 - 305, 869 -1,030 mg/ 100 g) (Biancacci et al., 2022). Sin embargo, el P fue similar en ambos estudios.



**Figura 2.** Contenido mineral (mg / 100 g) de *Macrocystis pyrifera*. Los superíndices con letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05). Los resultados se expresan como media (n = 3)  $\pm$  desviación estándar (SD)

El Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA), a través de las Guías Alimentarias para los Estadounidenses, determina la concentración en que deben consumirse los distintos minerales para preservar la salud. Para el Na, se establece un máximo de 2,300 mg al día como Nivel de Reducción del Riesgo de Enfermedades Crónicas (CDRR), para el K la Ingesta Adecuada (AI) es de 2,300 – 3,400 mg al día; mientras que la Ingesta Dietética Recomendada (RDA) de Ca, Mg y P para hombres y mujeres a partir de 14 años es de 1,000 – 1,300 mg, 360 – 420 mg y 700 – 1250 mg, respectivamente (U.S. Department of Agriculture and U.S. Department of Health and Human Services, 2020). Las algas marinas son una fuente potencial de minerales en la dieta, ya que contienen mayores concentraciones de minerales en comparación con los vegetales terrestres. El consumo de algas marinas podría ayudar a cumplir la ingesta diaria recomendada de minerales

esenciales y oligoelementos (Biancacci et al., 2022). Por ejemplo, 10 g de las algas de este estudio podrían aportar entre el 13 % y el 17 % de la CDR de Ca, entre el 25 % y el 30 % de la CDR de Mg y entre el 3 % y el 7 % de la CDR de P. Además, el consumo de esta cantidad de algas podría cubrir entre el 45 % y el 67 % de la Al de K y el 14 % de la CDR de Na.

#### 2. Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos y carotenoides

En este estudio se identificaron 25 compuestos fenólicos en al menos uno de los extractos. Del total, seis compuestos se encontraron dentro de los límites de detección, mientras que la concentración de los restantes fue inferior a 0.1 μmol/ mL. La Tabla 1 muestra los seis compuestos, mientras que los restantes compuestos que se identificaron pero no se cuantificaron fueron 2,7"-floroglucinol 6,60-bieckol, 2-cloroeckol, ácido neoclorogénico, bifuhalol, ácido cafeico, hexósido de ácido cafeico, ácido clorogénico, dieckol, delfinidina, eckol, ácido ferúlico, ácido gálico, genisteína, kaempferol, procianidina B1, resveratrol, rutina, escopoletina y ácido vanílico. Al comparar ambos extractos, se observó que el metanol:agua es más eficaz que el agua, ya que la suma de los compuestos fenólicos identificados fue mayor. Cuando se probaron diferentes disolventes, los resultados mostraron que el agua fue el solvente menos eficaz, mientras que la mayor tasa de extracción se obtuvo con acetona:agua (70:30 v/v) (Agregán et al., 2017). Esto podría explicarse ya que los florotaninos se extraen por afinidad al solvente (Olivares-Molina & Fernández, 2016), destacando la importancia de estudiar la extracción de compuestos fenólicos en diferentes solventes.

Tabla 1. Compuestos fenólicos identificados en Macrocystis pyrifera

	Concentración (µg/ g)	
Compuesto	Agua	Metanol:Agua (90:10 v/v)
Ácido p-hydroxibenzoico (Ácido 4- Hydroxibenzoico)	$2.37 \pm 0.09^{a}$	1.48 ± 0.02 <sup>b</sup>
Apigenina	<1 <sup>b</sup>	$1.97 \pm 0.02^{a}$
Cianidina-3-glucósido	$0.11 \pm 0.00^{a}$	nd <sup>b</sup>
Floroglucinol*	1.06 ± 0.01 <sup>b</sup>	$4.45 \pm 0.21^{a}$
Proantocianidina B2	nd <sup>b</sup>	$1.86 \pm 0.03^{a}$
Quercetina	$2.5 \pm 0.07^{a}$	$1.13 \pm 0.03^{b}$

<sup>\*</sup> Identificado y cuantificado con estándares auténticos. No detectado (nd). Los superíndices con letras diferentes en la misma fila indican una diferencia significativa (p < 0.05). Los resultados se expresan como media (n = 3)  $\pm$  desviación estándar (DE).

Los florotaninos, oligómeros del floroglucinol, son los compuestos fenólicos más abundantes que se encuentran en las algas pardas, y son exclusivos de este tipo de algas (Agregán et al., 2017; Cotas et al., 2020). Los florotaninos pueden encontrarse como fucoles, floretoles o fucofloretoles, dependiendo del enlace intermolecular de las unidades de floroglucinol (Agregán et al., 2017). En este estudio, el floroglucinol fue el compuesto

fenólico más abundante, observándose una mayor concentración en el extracto metanol:agua (4.45 ± 0.21 μg/ g). El cromatograma TIC en ESI- de este compuesto se muestra en la Figura 3. Leyton et al. (2016) identificaron diferentes isómeros de floroglucinol (difucofloroetol, fucodifloroetol, tetrafucol y tetrafloroetol) en *M. pyrifera*. También se han cuantificado trímeros y tetrámeros de floroglucinol en *Sargassum carpophyllum* obtenido en las zonas costeras de Japón (Taniguchi et al., 2022). Otros autores han identificado diversos florotaninos, flavonoides, ácidos fenólicos y varios derivados del floroglucinol en *Ascophyllum nodosum, Bifurcaria bifurcata* y *Fucus vesiculosus*. Se observó que los compuestos fenólicos más abundantes en las tres algas eran los florotaninos (Agregán et al., 2017).

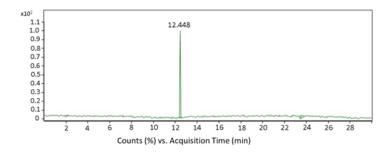


Figura 3. Cromatograma TIC de floroglucinol en ESI- (973.0 /229)

Se identificaron un total de 10 carotenoides en la muestra analizada, que se enumeran en la Tabla 2. En la Figura 4 puede verse el espectro de masas (EM) de los carotenoides identificados. La fucoxantina resultó ser el carotenoide más abundante (1,124.93 ± 3.4 µg/g). Este carotenoide es también el pigmento mayoritario en el alga parda *Sargassum polycystum*, (Balasubramaniam et al., 2020), y se ha asociado con el característico color amarillento o parduzco de las algas pardas (Agregán et al., 2017). Se ha descrito que el contenido de fucoxantina en *M. pyrifera* varía en función de la estación del año, observándose valores más bajos en las muestras recogidas durante el invierno. Sin embargo, a diferencia de la clorofila (a, y c), el contenido de fucoxantina no difiere entre los distintos tipos de fronda (apical, media o basal) (Marambio et al., 2017).

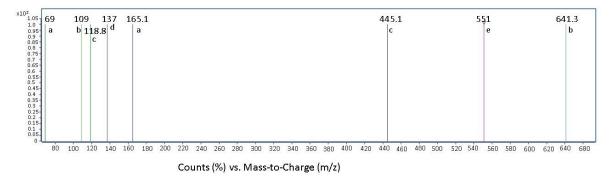
Tabla 2. Carotenoides identificados en Macrocystis pyrifera

	Compuesto	Concentración (µg/ g)
Caratanas	α-caroteno	nd
Carotenos	β-caroteno*	$58.33 \pm 0.81$
Xantofilas	Astaxantina	<5
	β-criptoxantina	<5
	Dioxantina	<0.025
	Fucoxantina*	$1,124.93 \pm 3.40$

	Luteina/Zeaxantina	$6.56 \pm 0.06$
	Violaxantina	<5
	α-tocoferol*	$1.30 \pm 0.09$
	δ-tocoferol	$0.37 \pm 0.01$
Vitaminas liposolubles	γ-tocoferol	<0.025
	γ-tocotrienol	nd
	Colecalciferol*	nd

<sup>\*</sup> Identificado y cuantificado con estándares auténticos. No detectado (nd). Los resultados se expresan como media (n = 3) ± desviación estándar (DE).

De acuerdo a estudios realizados previamente, el alga M. pyrifera tiene un contenido de tocoles similar al del aceite de palma, el aceite de arachis, el aceite de soya y el aceite de semillas de girasol (Ortiz et al., 2009). Se encontró que el α-tocoferol es el tocol más abundante (1,327.7 ± 4.4 µg/ g lípidos) en M. pyrifera de las costas del norte de Chile (Ortiz et al., 2009), junto con  $\beta$ -tocoferol (7.7  $\pm$  0.5  $\mu$ g/ g lípidos),  $\gamma$ -tocoferol (88.9  $\pm$  4.0  $\mu$ g/ g lípidos), y-tocotrienol (25.2 ± 1.4 μg/ g lípidos), δ-tocoferol (7.7 ± 1.1 μg/ g lípidos), luteína  $(0.3 \pm 0.0 \,\mu\text{g}/\,\text{g})$  alga seca) y  $\beta$ -caroteno (17.4  $\pm$  0.0  $\mu$ g/ g alga seca) (Ortiz et al., 2009). Sin embargo, en este estudio no se identificó y-tocotrienol, pero se encontraron concentraciones más altas de luteína y β-caroteno (6.56 ± 0.06, y 58.33 ± 0.1 μg/ g, respectivamente) en comparación con los hallazgos de Ortiz et al. (2009). Estas diferencias podrían atribuirse a variaciones en la disponibilidad de luz y nutrientes en cada lugar de cultivo (Navarrete et al., 2021). Otra posible causa podría ser la diferencia en el tamaño de partícula. Para este estudio, el tamaño de partícula fue de 153.9 µm de diámetro. Se ha reportado que el tamaño de partícula puede influir en la tasa de extracción, ya que las partículas más pequeñas requieren una menor energía para la extracción, aumentando así la eficiencia de la extracción (Teramukai et al., 2020). También se han identificado luteína y zeaxantina en el alga roja Eucheuma denticulatum; y β-caroteno y cantaxantina en el alga verde Caulerpa lentillifera (Balasubramaniam et al., 2020).



**Figura 4.** Espectro de masas de los carotenoides identificados en *Macrocystis pyrifera*. (a) α-tocoferol; (b) fucoxantina; (c) β-caroteno; (d) δ-tocoferol; (e) luteína/zeaxantina

#### 3. Contenido de compuestos fenólicos totales (TPC) y actividad antioxidante

Los extractos de agua y metanol:agua mostraron un contenido de compuestos fenólicos totales (TPC) de  $16.07 \pm 0.55$ , y  $17.01 \pm 0.54$  mg GAE/ g, respectivamente. Los extractos metanol:agua mostraron una actividad antioxidante significativamente mayor, evaluada como ORAC, con un valor de  $719.84 \pm 4.08 \ \mu mol/$  g, en comparación con los extractos de agua, que tuvieron un valor de  $40.87 \pm 1.91 \ \mu mol/$  g. Aunque no hubo diferencias significativas en el TPC entre los dos extractos (p > 0.05), la diferencia en la actividad antioxidante podría atribuirse a la mayor solubilidad de los compuestos fenólicos en metanol:agua, así como a la presencia de otros antioxidantes solubles en agua en los extractos.

Los valores obtenidos en este estudio fueron inferiores a los reportados por Landeta-Salgado et al. (2021), quienes reportaron un valor de TPC de 47.90 ± 2.92 mg GAE/ g para *M. pyrifera* recolectada en las costas de Chile. Los mismos autores también reportaron que el TPC del alga aumentó después de la fermentación con el hongo marino *Paradendryphiella salina*, que puede romper los complejos formados entre los carbohidratos de la pared celular y los compuestos fenólicos de las algas pardas (Landeta-Salgado et al., 2021).

El procesamiento de las algas, así como la forma en que se realiza la extracción pueden tener un gran efecto en los resultados. Las algas congeladas y frescas suelen tener un TPC y una actividad antioxidante mayores que las algas secadas en horno debido a la degradación de los compuestos fenólicos durante el proceso de secado (Le Lann et al., 2008). Además, la elección del solvente utilizado para la extracción puede afectar en gran medida a los resultados. Mientras que en el presente estudio no se observaron diferencias en el TPC; otros autores han informado que el agua proporciona el TPC más alto, mientras que el hexano:etanol (88:12) produce los valores más bajos (Leyton et al., 2016). Del mismo modo, Leyton et al. (2016) reportaron que los extractos de acetona:agua (80:20) produjeron una mayor actividad antioxidante en los extractos de metanol:agua (90:10 (v/v)) tuvieron una actividad antioxidante significativamente mayor (p < 0.05) que los extractos realizados en agua. La diferencia en la actividad antioxidante puede atribuirse a la polaridad de los solventes, ya que solventes menos polares pueden extraer otras moléculas que contribuyen a la actividad antioxidante global (Leyton et al., 2016).

#### Conclusión

Aunque puede haber algunas diferencias en la composición química del alga en función del lugar donde crezca, el alga parda *Macrocystis pyrifera* está compuesta principalmente por carbohidratos. Además, un alto porcentaje de la composición química de esta alga parda son cenizas, a partir de las cuales pueden identificarse varios micronutrientes esenciales (Na, Ca, P, K y Mg). El K fue el mineral más abundante. El contenido mineral de *M. pyrifera* abre la posibilidad de utilizar esta alga como suplemento. La fucoxantina mostró ser el carotenoide más abundante, mientras que el floroglucinol fue el compuesto fenólico más abundante encontrado en este estudio. Los carotenoides y los compuestos fenólicos contenidos en las algas también podrían utilizarse como compuestos bioactivos. Por último,

cabe destacar que el alga parda *M. pyrifera* utilizada en este estudio se recolectó en la costa del Pacífico mexicano (Baja California), mientras que la mayoría de los estudios utilizan *M. pyrifera* de Chile. Esto sugiere el potencial de uso de esta alga en diversas aplicaciones tecnológicas.

#### Lista de abreviaturas

No aplica

### Aprobación ética y consentimiento para participar

No aplica

#### **Derechos humanos y animales**

No se utilizaron animales/humanos en los estudios en los que se basa esta investigación.

#### Consentimiento para la publicación

No aplica

### Disponibilidad de datos y materiales

Los autores confirman que los datos que apoyan las conclusiones de este estudio están disponibles en el artículo

#### **Financiación**

No aplica

#### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses, financiero o de otro tipo.

#### Agradecimientos

La autora Alexa Pérez-Alva agradece el apoyo financiero para sus estudios de doctorado de la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) de México, así como al Laboratorio de Análisis de Alimentos, Intema S.A. de C.V. por su contribución en los análisis realizados.

#### Referencias

Afonso, C., Costa, S., Cardoso, C., Bandarra, N. M., Batista, I., Coelho, I., Castanheira, I., & Nunes, M. L. (2015). Evaluation of the risk/benefit associated to the consumption of raw and cooked farmed meagre based on the bioaccessibility of selenium, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid, total mercury, and methylmercury determined by an in vitro digestion model. *Food Chemistry*, *170*, 249-256. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.044

Agregán, R., Munekata, P. E. S., Franco, D., Dominguez, R., Carballo, J., & Lorenzo, J. M. (2017). Phenolic compounds from three brown seaweed species using LC-DAD—

- ESI-MS/MS. Food Research International, 99, 979-985. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.043
- AOAC. (1997). Official Methods of Analysis (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists.
- Astorga-España, Ma. S., Mansilla, A., Ojeda, J., Marambio, J., Rosenfeld, S., Mendez, F., Rodriguez, J. P., & Ocaranza, P. (2017). Nutritional properties of dishes prepared with sub-Antarctic macroalgae—An opportunity for healthy eating. *Journal of Applied Phycology*, 29(5), 2399-2406. https://doi.org/10.1007/s10811-017-1131-5
- Balasubramaniam, V., June Chelyn, L., Vimala, S., Mohd Fairulnizal, M. N., Brownlee, I. A., & Amin, I. (2020). Carotenoid composition and antioxidant potential of Eucheuma denticulatum, Sargassum polycystum and Caulerpa lentillifera. *Heliyon*, 6(8), e04654. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04654
- Biancacci, C., Sanderson, J. C., Evans, B., Callahan, D. L., Francis, D. S., Skrzypczyk, V. M., Cumming, E. E., & Bellgrove, A. (2022). Variation in biochemical composition of wild-harvested Macrocystis pyrifera (Ochrophyta) from sites proximal and distal to salmon farms in Tasmania, Australia. *Algal Research*, 65, 102745. https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102745
- Camus, C., Infante, J., & Buschmann, A. H. (2019). Revisiting the economic profitability of giant kelp Macrocystis pyrifera (Ochrophyta) cultivation in Chile. *Aquaculture*, *502*, 80-86. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.030
- Cotas, J., Leandro, A., Monteiro, P., Pacheco, D., Figueirinha, A., Gonçalves, A. M. M., da Silva, G. J., & Pereira, L. (2020). Seaweed Phenolics: From Extraction to Applications. *Marine Drugs*, *18*(8), Article 8. https://doi.org/10.3390/md18080384
- Díaz, A. C., Espino, M. L., Arzoz, N. S., Velurtas, S. M., Ponce, N. M. A., Stortz, C. A., & Fenucci, J. L. (2017). Free radical scavenging activity of extracts from seaweeds Macrocystis pyrifera and Undaria pinnatifida: Applications as functional food in the diet of prawn Artemesia longinaris. *Latin american journal of aquatic research*, 45(1), 104-112. https://doi.org/10.3856/vol45-issue1-fulltext-10
- Gunathilake, T., Akanbi, T. O., Suleria, H. A. R., Nalder, T. D., Francis, D. S., & Barrow, C. J. (2022). Seaweed Phenolics as Natural Antioxidants, Aquafeed Additives, Veterinary Treatments and Cross-Linkers for Microencapsulation. *Marine Drugs*, 20(7), Article 7. https://doi.org/10.3390/md20070445
- Harley, C. D., Anderson, K. M., Demes, K. W., Jorve, J. P., Kordas, R. L., Coyle, T. A., & Graham, M. H. (2012). Effects of climate change on global seaweed communities. Journal of Phycology, 48(5), 1064-1078.
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Prior, R. L. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(16), 4437-4444. https://doi.org/10.1021/jf0201529
- Jia, R.-B., Li, Z.-R., Lin, L., Luo, D., Chen, C., & Zhao, M. (2022). The potential mechanisms of Macrocystis pyrifera polysaccharides mitigating type 2 diabetes in rats. *Food & Function*, *13*(14), 7918-7929. https://doi.org/10.1039/D2FO01083F

- Landeta-Salgado, C., Cicatiello, P., & Lienqueo, M. E. (2021). Mycoprotein and hydrophobin like protein produced from marine fungi Paradendryphiella salina in submerged fermentation with green seaweed Ulva spp. *Algal Research*, *56*, 102314. https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102314
- Le Lann, K., Jégou, C., & Stiger-Pouvreau, V. (2008). Effect of different conditioning treatments on total phenolic content and antioxidant activities in two Sargassacean species: Comparison of the frondose Sargassum muticum (Yendo) Fensholt and the cylindrical Bifurcaria bifurcata R. Ross. *Phycological Research*, *56*(4), 238-245. https://doi.org/10.1111/j.1440-1835.2008.00505.x
- Leyton, A., Lienqueo, M. E., & Shene, C. (2019). Macrocystis pyrifera: Substrate for the production of bioactive compounds. *Journal of Applied Phycology*. https://doi.org/10.1007/s10811-019-02018-x
- Leyton, A., Pezoa-Conte, R., Barriga, A., Buschmann, A. H., Mäki-Arvela, P., Mikkola, J.-P., & Lienqueo, M. E. (2016). Identification and efficient extraction method of phlorotannins from the brown seaweed Macrocystis pyrifera using an orthogonal experimental design. *Algal Research*, *16*, 201-208. https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.019
- Lozano Muñoz, I., & Díaz, N. F. (2020). Minerals in edible seaweed: Health benefits and food safety issues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-16. https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1844637
- Magnusson, M., Yuen, A. K. L., Zhang, R., Wright, J. T., Taylor, R. B., Maschmeyer, T., & de Nys, R. (2017). A comparative assessment of microwave assisted (MAE) and conventional solid-liquid (SLE) techniques for the extraction of phloroglucinol from brown seaweed. *Algal Research*, 23, 28-36. https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.01.002
- Marambio, J., Rodriguez, J. P., Mendez, F., Ocaranza, P., Rosenfeld, S., Ojeda, J., Rautenberger, R., Bischof, K., Terrados, J., & Mansilla, A. (2017). Photosynthetic performance and pigment composition of Macrocystis pyrifera (Laminariales, Phaeophyceae) along a gradient of depth and seasonality in the ecoregion of Magellan, Chile. *Journal of Applied Phycology*, 29(5), 2575-2585. https://doi.org/10.1007/s10811-017-1136-0
- Miyashita, K., Mikami, N., & Hosokawa, M. (2013). Chemical and nutritional characteristics of brown seaweed lipids: A review. *Journal of Functional Foods*, *5*(4), 1507-1517. https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.09.019
- Navarrete, I. A., Kim, D. Y., Wilcox, C., Reed, D. C., Ginsburg, D. W., Dutton, J. M., Heidelberg, J., Raut, Y., & Wilcox, B. H. (2021). Effects of depth-cycling on nutrient uptake and biomass production in the giant kelp Macrocystis pyrifera. *Renewable* and Sustainable Energy Reviews, 141, 110747. https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.110747
- Olivares-Molina, A., & Fernández, K. (2016). Comparison of different extraction techniques for obtaining extracts from brown seaweeds and their potential effects as angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitors. *Journal of Applied Phycology*, 28(2), 1295-1302. https://doi.org/10.1007/s10811-015-0665-7

- Ortiz, J., Uquiche, E., Robert, P., Romero, N., Quitral, V., & Llantén, C. (2009). Functional and nutritional value of the Chilean seaweeds Codium fragile, Gracilaria chilensis and Macrocystis pyrifera. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111(4), 320-327. https://doi.org/10.1002/ejlt.200800140
- Pérez-Alva, A., Baigts-Allende, D. K., Ramírez-Rodrigues, M. A., & Ramírez-Rodrigues, M. M. (2022). Effect of Brown Seaweed (Macrocystis pyrifera) Addition on Nutritional and Quality Characteristics of Yellow, Blue, and Red Maize Tortillas. *Foods*, 11(17), Article 17. https://doi.org/10.3390/foods11172627
- Purcell-Meyerink, D., Packer, M. A., Wheeler, T. T., & Hayes, M. (2021). Aquaculture Production of the Brown Seaweeds Laminaria digitata and Macrocystis pyrifera: Applications in Food and Pharmaceuticals. *Molecules*, *26*(5), Article 5. https://doi.org/10.3390/molecules26051306
- Taniguchi, R., Ito, C., Keitoku, S., Miyake, Y., Itoigawa, M., Matsui, T., & Shibata, T. (2022). Analysis on the Structure of Phlorethols Isolated From the Warm-Temperate Brown Seaweed Sargassum carpophyllum and Their Antioxidant Properties. *Natural Product Communications*, 17(6), 1-7. https://doi.org/10.1177/1934578X221109406
- Teramukai, K., Kakui, S., Beppu, F., Hosokawa, M., & Miyashita, K. (2020). Effective extraction of carotenoids from brown seaweeds and vegetable leaves with edible oils. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *60*, 102302. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102302
- U.S. Department of Agriculture and U.S. Department of Health and Human Services. (2020). *Dietary Guidelines for Americans, 2020-2025* (9th Edition). Available at DietaryGuidelines.gov.
- Vásquez, V., Martínez, R., & Bernal, C. (2019). Enzyme-assisted extraction of proteins from the seaweeds Macrocystis pyrifera and Chondracanthus chamissoi: Characterization of the extracts and their bioactive potential. *Journal of Applied Phycology*, 31(3), 1999-2010. https://doi.org/10.1007/s10811-018-1712-y
- Vázquez-Delfín, E., Freile-Pelegrín, Y., Pliego-Cortés, H., & Robledo, D. (2019). Seaweed resources of Mexico: Current knowledge and future perspectives. *Botanica Marina*, 62(3), 275-289. https://doi.org/10.1515/bot-2018-0070
- Xiang, L., Xiao, L., Wang, Y., Li, H., Huang, Z., & He, X. (2014). Health benefits of wine: Don't expect resveratrol too much. *Food Chemistry*, *156*, 258-263. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.006

Capítulo 2. Efecto de la adición del alga parda (*Macrocystis pyrifera*) sobre las características nutricionales y de calidad de tortillas de maíz amarillo, azul y rojo// Effect of brown seaweed (*Macrocystis pyrifera*) addition on nutritional and quality characteristics of yellow, blue, and red maize tortillas

Alexa Pérez-Alva<sup>a</sup>, Diana K. Baigts-Allende<sup>b</sup>, Melissa A. Ramírez-Rodrigues<sup>c</sup> and Milena M. Ramírez-Rodrigues<sup>d,\*</sup>

<sup>a</sup>Department of Chemical, Food and Environmental Engineering, Universidad de las Américas Puebla, Ex Hacienda Sta. Catarina Mártir, Cholula 72810, Puebla, México

<sup>b</sup>Faculty of Agrobiology, Czech University of Life Sciences Prague, Food and Natural Resources, Kamýck á 129, 16500 Prague, Czech Republic

<sup>c</sup>Food Analysis Laboratory, Intema S.A. de C.V., 31 Sur 2901, Col. Santa Cruz Los Ángeles, Puebla 72400, Puebla, México

<sup>d</sup>Tecnológico de Monterrey, Department of Bioengineering, Vía Atlixcáyotl 5718, Reserva Territorial Atlixcáyotl, Puebla 72453, Puebla, México

#### Resumen

El objetivo de este estudio fue analizar el efecto de la incorporación de Macrocystis pyrifera en masa y tortillas de maíz amarillo, azul y rojo. Se determinó la composición nutricional y el contenido mineral de las tortillas, y se midió el color, la textura, los compuestos fenólicos totales (TPC) y la capacidad antioxidante de las masas y las tortillas. La adición del alga provocó una disminución significativa de la humedad y un aumento significativo de las cenizas, proteínas y fibra, mientras que no se observaron diferencias en el contenido de lípidos y carbohidratos. Hubo un aumento significativo en todos los minerales analizados (Na, Ca, P, K y Mg). Las tortillas pesaron 24.54 ± 1.02 g, tuvieron un diámetro de 11.00 ± 0.79 cm y un grosor de 0.32 ± 0.09 cm. Todos los parámetros de color se vieron significativamente afectados por la concentración de algas. La dureza de las masas fue de 2.18 – 22.32 N, y los valores de la prueba de perforación de las tortillas fueron de 1.40 – 4.55 N. El TPC de las masas y las tortillas se midió en extractos de agua y metanol:agua. Los resultados fueron mayores en los extractos acuosos (1141.59 – 23,323.48 mg GAE / 100 g de masa y 838.06 – 2142.34 mg GAE / 100 g de tortilla). La capacidad antioxidante (ORAC) fue mayor para los extractos metanol:aqua (14,051.96 – 44,928.75 µmol TE/100 q de masa y 14,631.47 – 47,327.69 µmol TE / 100 g de tortilla).

**Palabras clave**: alga parda; *Macrocystis pyrifera*; maíz; tortillas; compuestos fenólicos; capacidad antioxidante

#### Introducción

Los cereales y las leguminosas son los principales alimentos básicos y componentes clave de la alimentación humana (Oghbaei & Prakash, 2016; Yaqoob et al., 2019). En concreto, los cereales son la fuente de alimentación más importante y los alimentos a base de estos proporcionan una gran parte de la energía, proteína, vitaminas del grupo B y minerales de

<sup>\*</sup> milena.ramirez@tec.mx

gran parte de la población (Oghbaei & Prakash, 2016). Entre ellos, el maíz (*Zea mays* L.), un cultivo anual de la familia de las gramíneas, tuvo la mayor producción mundial en 2019 con 1,148,487,291 toneladas (FAO, s. f.; Rouf Shah et al., 2016). Durante el mismo año, la producción mundial de trigo y arroz fue de 765,769.635 y 755,473.800 toneladas, respectivamente (FAO, s. f.).

En México, el maíz es considerado el principal alimento básico (Alvarez-Poblano et al., 2020), con una producción de 27,228.242 toneladas en 2019 (SIAP, s. f.-a), lo que lo ubica como el octavo productor de maíz en el mundo (SIAP, s. f.-b). Adicionalmente, México posee la mayor diversidad de recursos genéticos de maíz en el mundo con alrededor de 59 variedades locales diferentes. Existen muchos tipos diferentes de maíz, como el maíz para harina, maíz flint, maíz dentado, maíz dulce, maíz palomero, maíz ceroso y amilomaíz (Singh et al., 2019). Existen varios tipos de genotipos pigmentados. Los colores varían de blanco o amarillo a violeta, rojo, negro y azul (Aguayo-Rojas et al., 2012), siendo el azul y el rojo los genotipos pigmentados más comunes (Mora-Rochin et al., 2010). Las tortillas son el producto a base de maíz más consumido en México, y han sido parte fundamental de la dieta diaria durante siglos (Alvarez-Poblano et al., 2020; Cornejo-Villegas et al., 2010). El origen de las tortillas de maíz se remonta a la sociedad prehispánica de México y, en algunas zonas rurales del país, su método de preparación sigue siendo el mismo hasta nuestros días (Arnés et al., 2021). Otros países en los que se consumen tortillas de maíz son de maíz son Guatemala y Estados Unidos (Topete-Betancourt et al., 2020).

El valor nutricional del maíz puede verse afectado por la variedad, el entorno y las condiciones de siembra (Salazar et al., 2020). El maíz suele someterse a la nixtamalización, que consiste en la cocción de los granos en una solución alcalina (Alvarez-Poblano et al., 2020). Este proceso aumenta la biodisponibilidad del calcio y la niacina (B3), reduciendo la presencia de micotoxinas (Cornejo-Villegas et al., 2010; de la Parra et al., 2007). En general, se considera una fuente de vitaminas, especialmente de las vitaminas C, E, K, y el complejo B (B1, B2, B3, B5, B6, B9), así como como \(\mathcal{G}\)-caroteno, selenio y potasio (Rouf Shah et al., 2016; Yaqoob et al., 2019). Sin embargo, su contenido en proteínas se considera de baja calidad nutricional debido a la baja concentración de lisina y triptófano (Salazar et al., 2020).

Las tortillas son un excelente vehículo para mejorar las opciones nutricionales de los consumidores de maíz (León-Murillo et al., 2021). Sin embargo, algunos estudios han reportado diferencias nutricionales debidas tanto a los genotipos pigmentados (Mora-Rochin et al., 2010) como a la incorporación de diferentes ingredientes como el chapulín (*Sphenarium purpuracens*) (Contreras Jiménez et al., 2020), el nopal (Cornejo-Villegas et al., 2010), el haba (*Vicia faba*), el frijol blanco (*Phaseolus vulgaris*) (Salazar et al., 2020) y el muicle (*Justicia spicigera* Schechtendal) (Alvarez-Poblano et al., 2020), entre otros. Como resultado, hay modificaciones en el contenido de minerales (Contreras Jiménez et al., 2020; Cornejo-Villegas et al., 2010), proteínas (Contreras Jiménez et al., 2020; Salazar et al., 2020) y fibra dietética (Cornejo-Villegas et al., 2010; Salazar et al., 2020), así como en la capacidad antioxidante (Alvarez-Poblano et al., 2020).

En las últimas décadas, las algas marinas han ganado atención como fuentes potenciales para la elaboración de productos alimenticios y piensos (Astorga-España et al., 2017; Leyton et al., 2019). Las algas marinas son organismos fotosintéticos que son prolíficos en todos los océanos. Se dividen en tres clases principales, o filos: Phaeophyta (algas pardas), Rhodophyta (algas rojas) y Chlorophyta (algas verdes) (Shannon & Abu-Ghannam, 2019). Dependiendo del filo, la composición química de las algas puede variar. En general, pueden presentar un contenido de proteínas entre el 5 y el 47 % (masa seca), mientras que los carbohidratos pueden constituir del 4 al 76 % (masa seca), y el contenido en lípidos del 0.60 al 4.14 % (masa seca). Además, son una fuente importante de vitaminas y minerales, y algunas especies tienen hasta 100 veces más minerales y vitaminas por unidad de masa seca que las plantas terrestres o los alimentos de origen animal (Shannon & Abu-Ghannam, 2019). Las algas pardas son ricas en ácidos grasos insaturados, biopolímeros como el alginato y fluorotaninos (estructuras poliméricas de floroglucinol) (Ford et al., 2019). Macrocystis pyrifera es un alga parda que se encuentra en el Océano Pacífico y se utiliza principalmente como alimento para abalones y para la producción de hidrocoloides (Leyton et al., 2019). Se ha reportado que M. pyrifera contiene ~ 60 % de carbohidratos, ~ 10 % de proteínas y ~ 1.50 % de lípidos, y el ~ 30 % restante corresponde a cenizas (Leyton et al., 2019). Esta alga se ha utilizado para preparar buñuelos y palitos de pan, resultando en una mejora en el contenido de ácidos grasos (Astorga-España et al., 2017).

Por ello, en este estudio se analizó el efecto de la incorporación del alga parda *Macrocystis pyrifera* a las tortillas de maíz. El alga se utilizó en cuatro concentraciones diferentes (incluyendo un control), y se probaron tres genotipos de maíz diferentes (amarillo, azul y rojo). Como parte del análisis, se determinaron la composición nutricional, el color, la textura, el contenido de minerales, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante.

## Materiales y métodos

1. Materiales de prueba, productos químicos y estándares

Se compraron tres variedades diferentes (amarilla, azul y roja) de masa nixtamalizada (*Zea mays*) en una tienda local de Puebla, México. El alga *Macrocystis pyrifera* se compró en ALGAS PACIFIC (Ensenada, Baja California, México). Los reactivos utilizados para la composición nutricional, contenido fenólico total y capacidad antioxidante fueron de grado analítico y se compraron en Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA).

# 2. Elaboración de la tortilla

Para preparar las tortillas, primero se secaron las algas a 60 °C durante 4 h, luego se molieron y se tamizaron con un tamiz de 270 µm. A continuación, el polvo de algas se incorporó a las masas nixtamalizadas. El alga se añadió en cuatro concentraciones diferentes (0, 3, 6, y 9 % (p/p)) en las tres variedades diferentes de masa (amarilla, azul y roja) (Tabla 4).

La concentración de algas se determinó a partir de experimentos preliminares. Para incorporar el polvo, la mezcla se amasó exhaustivamente. Tras obtener una mezcla homogénea (llamada masa), cada masa se dividió en porciones esféricas de 30 g, que se

prensaron en discos planos y se calentaron en una plancha caliente a 350 °C durante 1 minuto, se les dio la vuelta y se calentaron durante 30 s por el otro lado, y se volvieron a calentar durante 15 s por el lado inicial, como reportaron Alvarez-Poblano et al. (2020). Los mismos códigos utilizados para las muestras de masa se utilizaron para la identificación del tipo de tortilla, cambiando la M por la T. La textura se analizó en tortillas calientes y a temperatura ambiente (RT, 25 °C). Al mismo tiempo, se determinó el color sólo a RT. Después de estas determinaciones, las tortillas restantes se molieron para obtener un producto homogéneo, que se congeló (-20 °C) hasta su posterior análisis.

Tabla 3. Concentración del alga parda (Macrocystis pyrifera) utilizada y códigos para cada tipo de masa.

Tipo de masa nixtamalizada								
	Maíz ar	marillo	Maíz	azul	Maíz	rojo		
Concentración del alga (%)	YM0	0	BM0	0	RM0	0		
	YM3	3	BM3	3	RM3	3		
	YM6	6	BM6	6	RM6	6		
	YM9	9	BM9	9	RM9	9		

YM, BM, y RM representan la masa amarilla, azul y roja, respectivamente. 0-9 son los porcentajes de alga incorporada (p/p).

# 3. Composición nutricional

La composición química de las tortillas se determinó según los métodos oficiales de la AOAC para las proteínas (954.01), los lípidos (920.39), la fibra dietética total (962.09), las cenizas (923.03) y la humedad (925.09) (AOAC, 1997); los hidratos de carbono se calcularon por diferencia. El factor de conversión utilizado para determinar el contenido de proteínas fue de 6.25.

# 4. Perfil mineral

El perfil mineral (Na, Ca, P, K y Mg) de las tortillas se determinó por Espectrometría de Emisión Óptica de Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES), según el método AOAC 2011.4, tal como lo reportan Kumaravel & Alagusundaram (2014). En primer lugar, se digirieron 0.5 g de la muestra con 10 mL de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) mediante digestión por microondas en un sistema de microondas CEM Mars6 (Charlotte, NC, USA). La mezcla se colocó en un recipiente polimérico inerte para microondas que se cerró herméticamente y se calentó durante 60 minutos. Después de la digestión, las soluciones fueron enfriadas y diluidas a 50 mL con agua triplemente destilada. La determinación del contenido mineral en esta solución incolora se realizó por triplicado utilizando un ICP-OES Agilent 5110 (Santa Clara, Ca, USA). Las mediciones analíticas se realizaron con un software ICP Expert 7.5.1 equipado con una bomba peristáltica, un nebulizador de flujo cruzado (acoplado a una cámara de pulverización de doble paso de ryton), y un inyector de tubo de antorcha central de cerámica con un diámetro interno de 2 mm. Las longitudes de onda utilizadas fueron 589.592, 315.886, 214.914, 766.491 y 280.27 para el Na, Ca, P, K y Mg, respectivamente.

Se realizó una curva de calibración de cinco puntos preparada con una solución estándar multielemento (10 – 50 mg/L Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).

# 5. Características de calidad

El color de la superficie de las masas y tortillas se midió por triplicado en puntos seleccionados al azar utilizando un colorímetro Konica Minolta CR-400 (Konica Minolta Holdings Inc., Tokio, Japón). Para garantizar la uniformidad de las condiciones de medición, las mediciones se realizaron en una cabina fotográfica portátil (PULUZ Technology Ltd., Shenzhen, China) con luz blanca y sobre un fondo blanco. El colorímetro se colocó con una geometría de ángulo de visión de 0°. El color se expresó como coordenadas colorimétricas L\*, a\* y b\* en la escala CIELab tal y como lo indican Méndez-Lagunas et al. (2020). El ángulo de matiz (h), el croma (C\*) y  $\Delta$ E se calcularon según las ecuaciones 1 – 3 respectivamente (Wrolstad & Smith, 2017).

Ecuación 1 
$$h=tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$
 Ecuación 2 
$$C^*=\sqrt{(a^*)^2+(b^*)^2}$$
 Ecuación 3 
$$\Delta E=\sqrt{(\Delta L^{*2}+\Delta a^{*2}+\Delta b^{*2})}$$

Como parte de la caracterización de las tortillas, se analizó su diámetro y grosor. La cuantificación consistió en una media de dos medidas diagonales de tres tortillas diferentes, mientras que el grosor se determinó midiendo cinco tortillas apiladas y dividiendo el resultado entre cinco (Montemayor-Mora et al., 2018). Para evaluar su "rollability", las tortillas calientes y a RT se cortaron en tiras de 2 cm de ancho. A continuación, cada tira se enrolló alrededor de un cilindro de madera de 2 cm de diámetro y se observó el grado de rotura. La "rollability" se determinó utilizando una escala de 1 a 5, donde 1 = sin rotura, 2, 3, 4 y 5 = 25 %, 50 %, 75 % y 100 % de rotura, respectivamente (Argüello-García et al., 2017; Platt-Lucero et al., 2010). La textura de las tortillas a RT se midió mediante una prueba de perforación, que consistió en aplicar la fuerza necesaria para provocar la rotura de la tortilla, tal y como reportan Argüello-García et al. (2017). La dureza de las masas, descrita como fuerza máxima de la primera compresión (N) (Contreras Jiménez et al., 2020), se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Montemayor-Mora et al. (2018). Los análisis de textura de la textura de las masas y las tortillas se realizaron con un texturómetro Shimadzu EZ-SX (Shimadzu Co., Kyoto, Japón) y el software utilizado para el análisis de datos fue Trapezium X (Shimadzu Co.).

# 6. Contenido fenólico total y capacidad antioxidante

Los extractos utilizados para cuantificar el contenido de compuestos fenólicos totales (CPT) y la capacidad antioxidante se realizaron diluyendo 1 g de masa o tortilla molida en 10 mL de agua destilada o en 10 mL de la solución metanol:agua (90:10 (v/v)). Después de 12 h,

las muestras se centrifugaron a 1325  $\times$  g durante 10 minutos. El TPC se midió con un espectrofotómetro UV-Vis modelo Multiskan Sky Microplate (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA). El TPC se midió utilizando el ensayo Folin-Ciocalteu de acuerdo con el método descrito por Xiang et al. (2014). Primero, se mezcló 1 mL de agua destilada con 0.20 mL de la muestra, el estándar o agua (blanco) y 0.25 mL de reactivo Folin-Ciocalteu. Después de seis minutos, se mezclaron 2 mL de agua y 2.5 mL de una solución de Na $_2$ CO $_3$  al 7 %. Los tubos permanecieron en la oscuridad durante 90 min, y su absorbancia se leyó espectrofotométricamente a 760 nm. El TPC se calculó con una curva de calibración de ácido gálico (0 – 1000 mg/L) y se expresó como equivalentes de ácido gálico (mg GAE / 100 g).

La capacidad antioxidante se midió como capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) utilizando un lector multimodal Synergy HTX (Bio Tek, Winooski, VT, USA). Los resultados de ORAC se determinaron siguiendo el método descrito por Huang et al. (2002). Se utilizó una solución madre de fluoresceína (4  $\mu$ M) que se preparó en una solución de fosfato 75 mM (pH 7.4) y se almacenó envuelta en papel de aluminio a 4 °C. Antes del ensayo, la solución madre se diluyó (1:500 v/v) utilizando una solución de fosfato 75 mM (pH 7.4); la solución de fosfato 75 mM (pH 7.4) se utilizó también para disolver 2,2 0-Azobis(2-metilpropionamidina) dihidrocloruro (AAPH). El ensayo se realizó utilizando una placa de 96 pocillos. En cada pozo se añadieron 150  $\mu$ L de la solución de trabajo de fluoresceína sódica seguido de 25  $\mu$ L de tampón fosfato (blanco), Trolox (curva) o muestra. Tras la incubación a 37 °C durante 30 minutos, se añadieron 25  $\mu$ L de solución de AAPH a cada pocillo. La fluorescencia se monitorizó cinéticamente con datos tomados cada minuto durante 6 h y los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox ( $\mu$ mol TE/100 g).

# 7. Análisis estadístico

Cada medición se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como media  $\pm$  DE. Los análisis estadísticos se realizaron con el software estadístico Minitab 19 (Minitab, LLC, State College, PA, USA) y consistieron en un análisis de varianza de dos vías (ANOVA) para identificar el efecto de la adición de algas, el tipo de maíz y su interacción; mientras que un ANOVA de una vía y una prueba de Tukey se utilizaron para determinar las diferencias entre las muestras. Todas las pruebas se realizaron utilizando  $\alpha$  = 0.05. Todos los resultados mostraron un CV inferior al 5%.

# Resultados y discusión

# 1. Composición nutricional de las tortillas

Se observaron diferencias significativas entre el color de maíz y las diferentes concentraciones del alga (Tabla 5). Para la humedad, las cenizas, las proteínas, los lípidos y la fibra, tanto el tipo de maíz y la concentración de algas utilizadas mostraron un efecto significativo (p < 0.05). Sin embargo, la interacción entre ambos factores no fue significativa (p > 0.05). La concentración de alga utilizada y la interacción entre ésta y el tipo de maíz no fueron significativas (p > 0.05) para el contenido de carbohidratos, y sólo el tipo de maíz fue significativo (p < 0.05). El contenido de humedad de las tortillas osciló entre el 40 y el 46 %. Se puede observar que todas las tortillas control mostraron valores de humedad más altos

que las tortillas con diferentes concentraciones de alga pero con el mismo tipo de maíz, siendo la tortilla con maíz azul (BT0) mostró el mayor valor de humedad (46.7 %). También se puede observar que el valor de humedad disminuye con el aumento de la concentración de alga. En general, las tortillas con maíz azul (BT0-BT9) mostraron los valores más altos, mientras que los valores más bajos se registraron en las tortillas con maíz amarillo (YT0-YT9). Se ha reportado que la humedad de las tortillas está entre 40 y 50 % (Acevedo-Martinez & Gonzalez de Mejia, 2021). Mientras que Alvarez-Poblano et al. (2020) reportaron valores que oscilan entre 48 y 60 % para tortillas con diferentes concentraciones de muicle, Argüello-García et al. (2017) reportaron valores entre el 44 y el 47 % para tortillas fortificadas con harina de Jatropha curcas no tóxica. Ambos grupos informaron un aumento de la humedad cuando se incrementó el muicle o la harina de J. curcas lo que es contrario a los resultados de este estudio. El contenido de cenizas estuvo entre 1.12 y 4.42 %, siendo la BT9 la que mostró el valor más alto (4.42 %). El aumento de la concentración del alga condujo a un incremento significativo del contenido de cenizas. Aunque no hubo diferencias entre las tortillas de maíz amarillas y rojas, todas las muestras azules presentaron valores más altos. El contenido de cenizas del alga Macrocystis pyrifera seca suele estar entre el 22 y el 36 % (Biancacci et al., 2022), lo que podría explicar por qué la adición de un 9 % de alga supuso un aumento de casi cuatro veces el contenido mineral de las muestras de control. Otros autores también han reportado un aumento en el contenido mineral cuando se enriquecen las tortillas (Argüello-García et al., 2017).

**Tabla 4.** Composición nutricional de tortillas con diferentes concentraciones de alga parda (*Macrocystis pyrifera*)

	Contenido de humedad (%)	Cenizas (%)	Proteína (%)	Lípidos (%)	Carbohidratos (%)	Fibra total* (%)
YT0	$44.1 \pm 0.17^{c, d}$	$1.16 \pm 0.02^{h}$	$4.49 \pm 0.02^{h}$	$0.36 \pm 0.01^{d}$	$49.9 \pm 0.23^a$	$7.01 \pm 0.48^{i, j}$
YT3	$43.0 \pm 0.17^{e, f}$	$2.20 \pm 0.02^{f}$	4.56 ± 0.02 <sup>g, h</sup>	$0.36 \pm 0.01^{d}$	$49.8 \pm 0.22^{a}$	$7.96 \pm 0.47^{g, h}$
YT6	$41.9 \pm 0.16^{9}$	$3.24 \pm 0.03^{d}$	$4.64 \pm 0.02^{f, g}$	$0.35 \pm 0.1^{d}$	49.8 ± 0.21 <sup>a</sup>	$8.92 \pm 0.45^{d, e, f}$
YT9	$40.9 \pm 0.16^{h}$	$4.28 \pm 0.04^{b}$	$4.72 \pm 0.02^{e, f}$	$0.35 \pm 0.01^{d}$	$49.8 \pm 0.20^{a}$	$9.88 \pm 0.44^{b, c}$
ВТ0	$46.7 \pm 0.65^{a}$	$1.31 \pm 0.02^{g}$	4.65 ± 0.01 <sup>f, g</sup>	0.55 ± 0.01 <sup>b, c</sup>	46.8 ± 0.61 <sup>d</sup>	$6.72 \pm 0.39^{j}$
ВТ3	$45.5 \pm 0.63^{b}$	$2.35 \pm 0.02^{e}$	$4.72 \pm 0.01^{e, f}$	0.54 ± 0.01°	$46.9 \pm 0.59^{d}$	$7.68 \pm 0.38^{h, i}$
ВТ6	44.4 ± 0.61°	$3.39 \pm 0.03^{\circ}$	$4.80 \pm 0.01^{d, e}$	0.53 ± 0.1°	$46.9 \pm 0.57^{d}$	$8.65 \pm 0.37^{e, f, g}$
ВТ9	$43.2 \pm 0.59^{e}$	$4.42 \pm 0.04^{a}$	$4.87 \pm 0.01^{c, d}$	0.52 ± 0.01°	$46.9 \pm 0.55^{c, d}$	$9.62 \pm 0.36^{b, c, d}$
RT0	$45.5 \pm 0.05^{b}$	1.12 ± 0.01 <sup>h</sup>	$4.88 \pm 0.06^{c, d}$	$0.62 \pm 0.03^{a}$	47.8 ± 0.15 <sup>b, c</sup>	$8.24 \pm 0.02^{f, g, h}$
RT3	$44.4 \pm 0.05^{\circ}$	$2.16 \pm 0.02^{f}$	4.95 ± 0.06 <sup>b, c</sup>	$0.60 \pm 0.03^{a}$	47.9 ± 0.15 <sup>b, c</sup>	$9.16 \pm 0.02^{c, d,e}$
RT6	$43.3 \pm 0.05^{d, e}$	$3.21 \pm 0.02^d$	5.01 ± 0.05 <sup>a, b</sup>	$0.59 \pm 0.03^{a}$	47.9 ± 0.14 <sup>b</sup>	10.1 ± 0.04 <sup>b</sup>
RT9	$42.1 \pm 0.05^{f, g}$	$4.25 \pm 0.03^{b}$	$5.08 \pm 0.05^{a}$	0.58 ± 0.03 <sup>a, b</sup>	$47.9 \pm 0.14^{b}$	$11.0 \pm 0.05^{a}$

Los superíndices con letras diferentes en la misma columna indican una diferencia significativa (p < 0.05). Los resultados se expresan como media (n = 3) y desviación estándar (SD =  $\pm$ ). YT, BT y RT se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo, azul y rojo, respectivamente), mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la concentración de algas añadidas (%), siendo 0 el control. \*Determinado como fibra dietética total.

También se produjo un aumento significativo del contenido de proteínas relacionado con el aumento de la concentración de alga. Los valores oscilaron entre 4.49 % (YT0) y 5.08 % (RT9). Las tortillas preparadas con maíz rojo presentaron el mayor contenido de proteínas, seguidas de las azules y, posteriormente, el maíz amarillo. El contenido de lípidos osciló entre 0.36 y 0.62 %, presentando RT0 el valor más alto. La incorporación de algas no representó una diferencia significativa entre cada tipo de maíz. Además, al igual que lo observado para el contenido en proteínas el maíz rojo presentó mayores valores de lípidos, seguido del maíz azul y, finalmente el maíz amarillo. El contenido de proteínas y lípidos en las tortillas de este estudio fue inferior que el reportado para tortillas con diferentes niveles de fortificación con harina de *J. curcas* (6.52 – 10.85 y 3.35 – 3.95 %, respectivamente) (Argüello-García et al., 2017). El contenido de carbohidratos no se vio afectado por la incorporación de algas (46.9 - 49.9 %). Sin embargo, las tortillas preparadas con maíz amarillo presentaron valores significativamente más altos, seguidos del rojo y, posteriormente, del azul. A pesar de que el contenido en hidratos de carbono no se modificó, la incorporación de algas aumentó significativamente el contenido de fibra total. Los valores se situaron entre el 6.72 y el 11 %, siendo RT9 la muestra con el resultado más alto. Las tortillas de maíz rojo presentaron valores más altos seguidas de las tortillas de maíz amarillo y las de maíz azul. Los resultados obtenidos en este estudio fueron casi diez veces superiores a los de las tortillas con diferentes niveles de fortificación con harina de J. curcas (0.8 – 1.98 %) (Argüello-García et al., 2017). La incorporación de Laminaria ochroleuca en pasta también dio lugar a un aumento de la fracción insoluble de la fibra dietética, lo que demuestra que las algas marinas pueden utilizarse como agentes de textura y de volumen en diferentes productos alimentarios (Fradinho et al., 2019). Según las Guías Alimentarias para los Estadounidenses (U.S. Department of Agriculture and U.S. Department of Health and Human Services, 2020), la recomendación de ingesta de fibra está entre 20 - 30 g al día, que podría obtenerse con tres tortillas (el peso promedio de las tortillas fue 24.54 ± 1.02 g) .

## 2. Perfil mineral de las tortillas

El contenido mineral de las tortillas se muestra en la Tabla 6. La incorporación del alga produjo diferencias significativas en todos los minerales analizados (Na, Ca, P, K y Mg). El tipo de maíz, la concentración de alga y la interacción de ambos factores fue significativa (p < 0.05) en todos los minerales analizados, excepto en Ca, donde la interacción entre los factores no fue significativa (p > 0.05). La concentración de Na osciló entre 3.67 mg / 100 g (RT0) y 303.07 mg / 100 g (YT9), el Ca fue de 100.14 – 612.26 mg / 100 g (RT0 y BT9, respectivamente), el contenido de P osciló entre 78.39 mg / 100 g (RT0) y 329.07 mg / 100 g (YT9), el contenido de K osciló entre 53.35 y 1700.62 mg / 100 g (RT0 e YT9, respectivamente), y el contenido de Mg fue entre 20.56 mg / 100 g (RT0) y 174.44 mg / 100 g (YT9). Al comparar los diferentes tipos de maíz, el maíz rojo presentó valores más bajos, seguido por el maíz azul y el amarillo, excepto en Ca, donde las tortillas de maíz azul presentaron valores más altos. Al comparar las diferentes concentraciones de alga, las mayores concentraciones de M. pyrifera condujeron a una concentración significativamente mayor de todos los minerales.

**Tabla 5.** Contenido en minerales de las tortillas preparadas con maíz amarillo, azul o rojo y diferentes concentraciones de algas pardas (*Macrocystis pyrifera*)

	Na (mg/100 g)	Ca (mg/100 g)	P (mg/100 g)	K (mg/100 g)	Mg (mg/100 g)
YT0	$10.37 \pm 0.26^{j}$	362.79 ± 3.11 <sup>h</sup>	$314.65 \pm 3.60^{\circ}$	$331.38 \pm 0.11^{j}$	84.67 ± 0.01 <sup>g</sup>
YT3	$107.94 \pm 0.28^{g}$	$403.85 \pm 3.03^{g}$	$319.12 \pm 3.49^{b,c}$	$787.79 \pm 0.59^{g}$	114.60 ± 0.21 <sup>e</sup>
YT6	$205.50 \pm 0.37^{d}$	$444.92 \pm 2.96^{f}$	$323.60 \pm 3.39^{a,b}$	1244.21 ± 1.17 <sup>d</sup>	144.52 ± 0.42°
YT9	$303.07 \pm 0.48^a$	$485.98 \pm 2.92^{e}$	$328.07 \pm 3.28^a$	1700.62 ± 1.75 <sup>a</sup>	$174.44 \pm 0.63^{a}$
BT0	$6.85 \pm 0.01^{k}$	$501.57 \pm 1.03^{d}$	$196.76 \pm 3.57^{\circ}$	$154.35 \pm 4.87^{k}$	$58.38 \pm 1.53^{h}$
ВТ3	104.52 ± 0.14 <sup>h</sup>	538.46 ± 1.03°	$204.77 \pm 3.47^{f}$	$616.08 \pm 4.76^{h}$	89.09 ± 1.49 <sup>f</sup>
BT6	$202.19 \pm 0.28^{e}$	$575.36 \pm 1.08^{b}$	212.78 ± 3.36e	$1077.80 \pm 4.72^{e}$	119.80 ± 1.49 <sup>d</sup>
ВТ9	299.86 ± 0.41 <sup>b</sup>	612.26 ± 1.17 <sup>a</sup>	$220.79 \pm 3.25^{d}$	1539.53 ± 4.76 <sup>b</sup>	150.51 ± 1.52 <sup>b</sup>
RT0	$3.67 \pm 0.18^{1}$	$100.14 \pm 0.78^{1}$	$66.48 \pm 1.13^{k}$	$53.35 \pm 0.12^{1}$	$20.56 \pm 0.38^{j}$
RT3	$101.46 \pm 0.22^{i}$	$149.08 \pm 0.80^{k}$	$78.39 \pm 1.09^{j}$	$518.11 \pm 0.59^{i}$	$52.40 \pm 0.43^{i}$
RT6	$199.22 \pm 0.32^{f}$	$198.02 \pm 0.87^{j}$	$90.31 \pm 1.06^{i}$	982.87 ± 1.17 <sup>f</sup>	$84.25 \pm 0.55^{g}$
RT9	$296.99 \pm 0.44^{\circ}$	$246.96 \pm 1.00^{i}$	102.23 ± 1.02 <sup>h</sup>	1447.62 ± 1.75°	116.10 ± 0.72 <sup>e</sup>

Los superíndices con letras diferentes en la misma columna indican una diferencia significativa (p < 0.05). Los resultados se expresan como media (n = 3) y desviación estándar ( $SD = \pm$ ). YT, BT y RT se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo, azul y rojo, respectivamente), mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la concentración de algas añadidas (%), siendo 0 el control.

La presencia de alginato, ácido algínico y sal de ácido algínico en las algas pardas como M. pyrifera promueve mayores tasas de absorción de minerales que otras algas porque estos polisacáridos tienen afinidad con las sales de Na, Ca, K y Mg (Lozano Muñoz & Díaz, 2020). La adición de Laminaria ochroleuca a la pasta produjo un aumento de minerales como Ca, P, K y Mg (Fradinho et al., 2019). Sin embargo, la pasta mostró valores más bajos de Ca, P, K y Mg (15.3, 37.9, 160.4 y 16.8 mg / 100 g, respectivamente) que todas las tortillas analizadas. En comparación con el contenido de Ca de las tortillas de maíz blanco y azul (155 y 136 mg / 100 g, respectivamente) (Colín-Chávez et al., 2020), sólo la RT0 presentó un valor ligeramente inferior. La adición de Sphenarium purpuracens (Contreras Jiménez et al., 2020) y de polvo de nopal (Cornejo-Villegas et al., 2010) también provocó un aumento del contenido mineral. Según las Guías Alimentarias para estadounidenses (U.S. Department of Agriculture and U.S. Department of Health and Human Services, 2020), los Aportes Dietéticos Recomendados (RDA) de Ca, P y Mg para hombres y mujeres a partir de los 14 años es de 1000-1300 mg, 700 - 1250 mg, y 360 - 420 mg respectivamente, mientras que la Ingesta Adecuada (IA) de K es de 2300 - 3400 y el Nivel de Reducción del Riesgo de Enfermedades Crónicas (CDRR) de Na es de un máximo de 2,300 mg. Cien gramos (aproximadamente cuatro tortillas) de BT9 cubrirían entre el 47 y el 60 % de la CDR de Ca. Cien gramos de RT9 cubrirían entre el 26 - 47 % y el 41 - 48 % de la CDR de P y Mg, respectivamente, así como entre el 50 y el 73 % de la dosis diaria recomendada de K. La ingesta de Na sería del 13 % de la CDRR.

**Tabla 6.** Color de las masas preparadas con maíz amarillo, azul o rojo y diferentes concentraciones de algas pardas (*Macrocystis pyrifera*)

	L*	a*	b*	Tonalidad	Croma	ΔΕ*	
YM0	85.72 ± 0.96 <sup>a</sup>	0.14 ± 0.01 <sup>a</sup>	16.91 ± 0.44°	89.51 ± 0.01 <sup>b</sup>	16.91 ± 0.44°	DNA**	
YM3	74.37 ± 0.52 <sup>b</sup>	-2.44 ± 0.11 <sup>b,c</sup>	21.48 ± 0.42 <sup>a</sup>	96.48 ± 0.35 <sup>a</sup>	21.62 ± 0.42 <sup>a</sup>	12.48 ± 0.58°	
YM6	68.76 ± 0.69°	-2.65 ± 0.12°	21.65 ± 0.32 <sup>a</sup>	96.98 ± 0.38 <sup>a</sup>	21.81 ± 0.31 <sup>a</sup>	17.80 ± 0.63 <sup>b</sup>	
YM9	65.53 ± 0.42 <sup>d</sup>	-2.35 ± 0.12 <sup>b</sup>	18.71 ± 0.42 <sup>b</sup>	97.15 ± 0.28 <sup>a</sup>	18.86 ± 0.42 <sup>b</sup>	20.40 ± 0.37 <sup>a</sup>	
ВМ0	66.69 ± 0.39 <sup>a</sup>	-1.48 ± 0.03 <sup>b</sup>	17.35 ± 0.43 <sup>a</sup>	94.88 ± 0.11 <sup>b</sup>	17.42 ± 0.43 <sup>a</sup>	DNA**	
ВМ3	63.08 ± 0.09 <sup>b</sup>	-1.1 ± 0.01 <sup>a</sup>	16.52 ± 0.06 <sup>a,b</sup>	93.81 ± 0.02°	16.55 ± 0.06 <sup>a,b</sup>	3.44 ± 0.07°	
ВМ6	57.02 ± 0.33°	-1.15 ± 0.05 <sup>a</sup>	16.98 ± 0.67 <sup>a,b</sup>	93.87 ± 0.06°	17.02 ± 0.67 <sup>a,b</sup>	9.33 ± 0.30 <sup>b</sup>	
ВМ9	54.56 ± 0.58 <sup>d</sup>	-1.79 ± 0.07°	16.06 ± 0.41 <sup>b</sup>	96.38 ± 0.41 <sup>a</sup>	16.17 ± 0.40 <sup>b</sup>	11.85 ± 0.59 <sup>a</sup>	
RM0	67.52 ± 1.25 <sup>a</sup>	5.09 ± 0.24 <sup>a</sup>	12.43 ± 0.35°	67.73 ± 1.46 <sup>d</sup>	13.44 ± 0.25°	DNA**	
RM3	68.67 ± 1.15 <sup>a</sup>	1.87 ± 0.09 <sup>b</sup>	15.18 ± 0.28 <sup>b</sup>	82.97 ± 0.19°	15.30 ± 0.29 <sup>b</sup>	4.76 ± 0.17 <sup>b</sup>	
RM6	67.27 ± 0.30 <sup>a</sup>	0.81 ± 0.03°	12.81 ± 0.25°	86.37 ± 0.06 <sup>b</sup>	12.84 ± 0.25°	$4.90 \pm 0.10^{b}$	
RM9	61.42 ± 0.23 <sup>b</sup>	$0.39 \pm 0.02^d$	16.33 ± 0.44 <sup>a</sup>	88.64 ± 0.07 <sup>a</sup>	16.33 ± 0.44 <sup>a</sup>	9.95 ± 0.36 <sup>a</sup>	

Los superíndices con letras diferentes en la misma columna indican una diferencia significativa (p < 0.05). Los resultados se expresan como media (n = 3) y desviación estándar (SD = ±). YM, BM y RM se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo, azul y rojo, respectivamente), mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la concentración de algas añadidas (%), siendo 0 el control. DNA\*\*, no se aplica. El análisis estadístico se realizó únicamente entre muestras del mismo tipo de maíz.

# 3. Características de calidad de las masas y las tortillas

En promedio, las tortillas cocidas pesaron  $24.54 \pm 1.02$  g, tuvieron un diámetro de  $11.00 \pm 0.79$  cm y un grosor de  $0.32 \pm 0.09$  cm. El color de las masas se muestra en la Tabla 7. Todos los parámetros analizados se vieron significativamente afectados por la concentración del alga utilizada. El análisis estadístico del color se realizó comparando las

diferentes concentraciones de alga para cada tipo de maíz ; sin embargo, no se compararon los diferentes tipos de maíz entre sí. El valor L\*, que representa la luminosidad (0-negro, 100-blanco) en las masas amarilla y azul, disminuyó significativamente con el aumento de algas. En la masa roja la incorporación de un 9 % de algas fue la única cantidad que provocó una disminución significativa. El valor a\* (enrojecimiento (+) o verdor (-) en la masa roja disminuyó significativamente con la incorporación de algas; asimismo, YM0 presentó el mayor valor de a\*. En la masa azul, el control (BM0) presentó un valor significativamente menor que BM3 y BM6, pero un valor mayor que BM9. Tanto YM0 como RM0 presentaron los valores más bajos de b\*, que denota amarillez (+) o azulado (-), mientras que BM0, BM3 y BM6 no presentaron diferencias significativas. Mientras que el tono de todas las muestras de control era significativamente inferior al de las muestras con alga el croma de YM0 v RM0 también fue significativamente menor y BM0 no presentó diferencias significativas con BM3 y BM6. Por último, la diferencia ( $\Delta E^*$ ) entre la muestra control y las muestras con alga fue significativamente mayor al aumentar la concentración de algas. De forma similar, Alvarez-Poblano et al. (2020) informaron de una disminución significativa de L\* cuando se incrementaba la concentración de muicle. Sin embargo, a diferencia de este estudio, observaron un mayor enrojecimiento (valores a\* más altos) y azulado (valores b\* más bajos).

Los resultados del análisis colorimétrico de las tortillas se muestran en la Tabla 8. Al igual que en el caso de las masas, hubo una disminución significativa de L\* y b\* cuando se incrementó la concentración de alga, lo que puede interpretarse como que las muestras se oscurecen y aumentan sus tonalidades azules. La incorporación del alga también provocó un aumento de las tonalidades verdes (valores a\* más bajos). A diferencia de las masas, la tonalidad de YT0 y RT0 fue significativamente mayor que la de las muestras restantes, mientras que BT3 presentó un valor de tonalidad (h) más alto que BT0. El croma de todas las muestras control (YT0, BT0 y RT0) fue superior al de las tortillas con diferentes concentraciones de algas, lo que no se observó en las masas. Sin embargo, la diferencia ( $\Delta$ E\*) entre las muestras control (YT0, BT0 y RT0) y las muestras con algas presentaron el mismo comportamiento que las masas, en las que mayores concentraciones de algas condujeron a una diferencia significativamente mayor. Se ha reportado que la adición de diferentes ingredientes a las tortillas, como soya y amaranto, puede modificar el color y dar lugar a tortillas más oscuras (Argüello-García et al., 2017), lo que se observó en este estudio.

Además, cuando se compararon las masas y las tortillas, los valores de L\* disminuyeron después del proceso de cocción, los valores de L\* disminuyeron y los de a\* aumentaron, tal y como reportaron Alvarez-Poblano et al. (2020). Sin embargo, también observaron una disminución de b\*, que no se observó en todas las muestras de en este estudio. Se ha reportado que el color de las tortillas depende del tipo de maíz y de las interacciones entre los componentes químicos y el pH alcalino presente durante la nixtamalización (Hernández-Martínez et al., 2016).

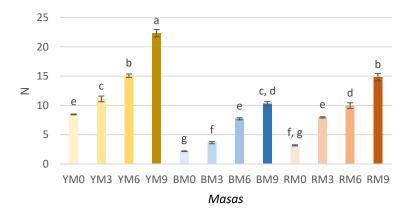
**Tabla 7.** Color de las tortillas preparadas con maíz amarillo, azul o rojo y diferentes concentraciones de alga pardas (*Macrocystis pyrifera*)

	L*	a*	b*	Tonalidad	Croma	ΔE*	
YT0	66.28 ± 0.86 <sup>a</sup>	$0.79 \pm 0.03^{d}$	23.33 ± 0.39 <sup>a</sup>	88.05 ± 0.05 <sup>a</sup>	23.34 ± 0.39 <sup>a</sup>	DNA**	
YT3	44.40 ± 0.68°	$4.38 \pm 0.12^{a}$	19.99 ± 0.71 <sup>b</sup>	77.63 ± 0.74 <sup>d</sup>	20.46 ± 0.67 <sup>b</sup>	21.53 ± 0.75°	
YT6	49.98 ± 0.41 <sup>b</sup>	1.44 ± 0.05°	21.25 ± 0.73 <sup>b</sup>	86.12 ± 0.19 <sup>b</sup>	21.30 ± 0.73 <sup>b</sup>	15.54 ± 0.50 <sup>b</sup>	
YT9	40.90 ± 1.29 <sup>d</sup>	$3.42 \pm 0.05^{b}$	17.17 ± 0.45°	78.74 ± 0.20°	17.51 ± 0.45°	25.36 ± 1.26 <sup>a</sup>	
ВТ0	49.40 ± 1.19 <sup>a</sup>	6.70 ± 0.19 <sup>a</sup>	18.55 ± 0.41 <sup>a</sup>	70.13 ± 0.44 <sup>b</sup>	19.72 ± 0.43 <sup>a</sup>	DNA**	
ВТ3	44.34 ± 0.19 <sup>b</sup>	$4.30 \pm 0.04^{b}$	15.71 ± 0.21 <sup>b</sup>	74.69 ± 0.23 <sup>a</sup>	16.29 ± 0.21 <sup>b</sup>	5.77 ± 0.14°	
ВТ6	40.88 ± 0.27°	$3.75 \pm 0.05^{\circ}$	12.71 ± 0.30°	73.55 ± 0.44 <sup>a</sup>	13.25 ± 0.29°	10.22 ± 0.38 <sup>b</sup>	
ВТ9	35.82 ± 0.73 <sup>d</sup>	3.03 ± 0.14 <sup>d</sup>	6.42 ± 0.17 <sup>d</sup>	64.70 ± 1.34°	7.10 ± 0.14 <sup>d</sup>	18.05 ± 0.59 <sup>a</sup>	
RT0	52.39 ± 1.73 <sup>a</sup>	$6.35 \pm 0.31^a$	16.53 ± 0.26 <sup>a</sup>	68.98 ± 1.12 <sup>a</sup>	17.71 ± 0.20 <sup>a</sup>	DNA**	
RT3	44.48 ± 0.14 <sup>b</sup>	5.07 ± 0.11°	14.76 ± 0.09 <sup>b</sup>	71.03 ± 0.42 <sup>a</sup>	15.61 ± 0.08 <sup>b</sup>	7.28 ± 0.14°	
RT6	40.04 ± 0.44°	$5.47 \pm 0.19^{b,c}$	12.53 ± 0.29°	66.41 ± 0.61 <sup>b</sup>	13.67 ± 0.31°	12.13 ± 0.32 <sup>b</sup>	
RT9	37.30 ± 0.29 <sup>d</sup>	$6.00 \pm 0.18^{a,b}$	10.52 ± 0.26 <sup>d</sup>	60.29 ± 1.33°	12.12 ± 0.14 <sup>d</sup>	15.49 ± 0.35 <sup>a</sup>	

Los superíndices con letras diferentes en la misma columna indican una diferencia significativa (p < 0.05). Los resultados se expresan como media (n = 3) y desviación estándar ( $SD = \pm$ ). YM, BM y RM se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo, azul y rojo, respectivamente), mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la concentración de algas añadidas (%), siendo 0 el control. DNA\*\*, no se aplica. El análisis estadístico se realizó únicamente entre muestras del mismo tipo de maíz.

La textura de las masas (dureza) se muestra en la Figura 5. La dureza osciló entre 2.18 y 22.32 N, siendo YM9 la muestra con el valor significativamente más alto. Hay que señalar que la dureza de las masas aumentó significativamente (p < 0.05) con la adición del alga. El tipo de maíz, así como la interacción entre la concentración de algas y el tipo de maíz, fue significativa (p < 0.05). En general, las masas preparadas con maíz amarillo presentaron una mayor dureza. Al comparar los valores de dureza de las muestras con diferentes

colores de maíz pero con las mismas concentraciones de algas, el maíz amarillo presentó valores significativamente más altos, seguido por el maíz rojo, y posteriormente por el azul.



**Figura 5.** Dureza de las masas preparadas con maíz amarillo, azul o rojo y diferentes concentraciones de algas pardas (*Macrocystis pyrifera*). Los superíndices con letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05). Los resultados se expresan como media (n = 3) y desviación estándar ( $SD = \pm$ ). YT, BT y RT se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo, azul y rojo, respectivamente), mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la concentración de algas añadidas (%), siendo 0 el control.

Contrario a los resultados encontrados en este estudio, (Argüello-García et al., 2017) observaron que el aumento del contenido de harina de *J. curcas* L. condujo a una disminución de la dureza, lo que se atribuyó a un mayor contenido de proteínas. Las masas preparadas con harina de maíz y harina de *J. curcas* L. presentaron valores más bajos de dureza (2.30 – 3.13 N (Argüello-García et al., 2017), similares a la masa de maíz nixtamalizada con harina de *Sphenarium purpurascens* (0.59 – 0.81 N) (Contreras Jiménez et al., 2020). Las masas de maíz nixtamalizadas obtenidas utilizando varios procesos de nixtamalización presentaron valores similares (4 – 15 N) (Topete-Betancourt et al., 2020).

Los resultados de la perforación y la "rollability" de las tortillas se muestran en la Tabla 9. La prueba de perforación permite medir la dureza de las tortillas, que se asocia con la retrogradación del almidón y comienza cuando las tortillas empiezan a enfriarse (Argüello-García et al., 2017). La dureza fue significativamente afectada (p < 0.05) por el tipo de maíz y la concentración de alga, así como la interacción entre ambos factores. Los valores oscilaron entre 1.40 N para BT3 y 4.55 N para YT9. Ni la prueba de perforación ni la "rollability" mostraron una tendencia lineal en función de la concentración de alga ni en función del tipo de maíz. Sin embargo, hubo una clara mejora en los resultados de "rollability" cuando las tortillas se calentaron. Cuando las tortillas se enrollaban a temperatura ambiente, 7 de las 12 muestras presentaban al menos un 50 % de rotura; después de calentarlas, sólo 2 muestras presentaron una rotura del 50 % y la mayoría de las muestras no presentaron ninguna rotura. La textura de las tortillas de maíz puede estar relacionada con las diferencias entre los granos, ya que los distintos tipos de maíz proporcionan diferentes propiedades reológicas al producto final (Acevedo-Martinez & Gonzalez de Mejia, 2021). La textura puede también puede modificarse dependiendo del proceso de nixtamalización y de las condiciones de cocción (Martínez-Bustos et al., 2001).

La interacción entre los compuestos fenólicos y las proteínas también puede influir en la capacidad de retención de agua y las interacciones proteína-proteína, que afectan a la textura (Acevedo-Martinez & Gonzalez de Mejia, 2021).

**Tabla 8.** Análisis de la textura de tortillas preparadas con maíz amarillo, azul o rojo y diferentes concentraciones de alga parda (*Macrocystis pyrifera*)

		Rollability*				
	Perforación (N)	Tortillas a temperatura ambiente (RT)	Tortillas calentadas			
YT0	2.61 ± 0.11 <sup>e, f</sup>	5 ± 0.00 <sup>a</sup>	3 ± 0.00 <sup>a</sup>			
YT3	$3.43 \pm 0.13^{b}$	$4 \pm 0.00^{b}$	$2 \pm 0.00^{b}$			
YT6	$2.30 \pm 0.08^{g}$	$2 \pm 0.00^{d}$	1 ± 0.00°			
YT9	$4.55 \pm 0.09^{a}$	$5 \pm 0.00^{a}$	$2 \pm 0.00^{b}$			
BT0	$3.30 \pm 0.12^{b, c}$	1 ± 0.00 <sup>e</sup>	$1 \pm 0.00^{\circ}$			
BT3	$1.40 \pm 0.05^{h}$	$3 \pm 0.00^{d}$	1 ± 0.00°			
BT6	$1.62 \pm 0.04^{h}$	$5 \pm 0.00^{a}$	1 ± 0.00°			
ВТ9	$1.49 \pm 0.03^{h}$	$5 \pm 0.00^{b}$	$1 \pm 0.00^{a}$			
RT0	3.10 ± 0.11 <sup>c, d</sup>	1 ± 0.00 <sup>e</sup>	1 ± 0.00°			
RT3	$2.50 \pm 0.09^{f, g}$	$2 \pm 0.00^{\circ}$	1 ± 0.00°			
RT6	$2.27 \pm 0.09^{g}$	$5 \pm 0.00^{a}$	1 ± 0.00°			
RT9	$2.83 \pm 0.03^{d, e}$	$4 \pm 0.00^{a}$	$3 \pm 0.00^{\circ}$			

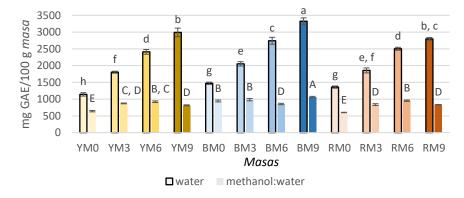
Los superíndices con letras diferentes en la misma columna indican una diferencia significativa (p < 0.05). Los resultados se expresan como media (n = 3) y desviación estándar ( $SD = \pm$ ). YT, BT y RT se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo, azul y rojo, respectivamente), mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la concentración de algas añadidas (%), siendo 0 el control. \* Escala subjetiva donde 1 = 0 %, 2 = 25 %, 3 = 50 %, 4 = 75 % y 5 = 100 % de rotura.

Los resultados de varios estudios muestran resultados mixtos; algunos informan de una mejora en la dureza, mientras que otros mencionan que la incorporación de diferentes ingredientes condujo a valores más bajos. Por ejemplo, el enriquecimiento de las tortillas de maíz blanco con un 10 – 15 % de hidrolizados de garbanzo dio lugar a valores de dureza superiores a los del control. En comparación, la fortificación de las tortillas de maíz azul con un 15 % de hidrolizados de garbanzo dio lugar a una dureza inferior a la del control (Acevedo-Martinez & Gonzalez de Mejia, 2021). Argüello-García et al. (2017) informaron que la adición de un 15 % de harina de *J. curcas* condujo a una reducción de la dureza a más de la mitad en comparación con el control, y Contreras Jiménez et al. (2020) también observaron valores de dureza más altos en las tortillas de control que en las tortillas con *S. purpuracens*.

A excepción de Lecuona-Villanueva et al. (2012), que no observaron ninguna diferencia entre el control y las tortillas suplementadas con lisina, triptófano y concentrado de proteína de *P. lunatus*, la mayoría de los autores informaron que el enriquecimiento de las tortillas conducía a una mejora de la "rollability", mientras que la incorporación de un 15 % de harina de *J. curcas* disminuyó la dureza y duplicó la "rollability" al aumentar la retención de agua (Argüello-García et al., 2017). La adición de diferentes gomas también puede contribuir a aumentar, o al menos a mantener, la "rollability" durante el almacenamiento (Platt-Lucero et al., 2010), un efecto que también se ha atribuido a la mayor capacidad de retención de agua (Singh et al., 2019).

# 4. Contenido fenólico total y capacidad antioxidante de las masas y las tortillas

El TPC de los extractos de masa, agua y metanol: agua se muestra en la Figura 6, mientras que los resultados del TPC de los extractos de tortilla en agua y metanol:agua se presentan en la Figura 7. Las masas y las tortillas en los extractos de agua y metanol:agua fueron afectadas significativamente (p < 0.05) por el tipo de maíz, la concentración de algas y la interacción entre ambos factores. El TPC de las masas en aqua osciló entre 1141.59 y 3323.48 mg GAE / 100 g masa, mientras que los valores en metanol:aqua, que fueron inferiores, fueron de 641.89 – 1061.12 mg GAE / 100 g de masa. En ambos extractos, BM9 mostró el mayor contenido fenólico, mientras que RM0 e YM0 presentaron los valores más bajos en metanol:agua y este último también tuvo el valor más bajo en agua. Se puede observar que, en los extractos de agua, el TPC aumentó con la incorporación del alga, tendencia que no se observó en los extractos metanol:aqua. En comparación con los resultados de las masas, los valores obtenidos para las tortillas fueron menores. Esto contrasta con otros estudios que han reportado que no hay diferencias significativas entre las masas y las tortillas. Al mismo tiempo, se observan pérdidas de hasta ~ 50 % del TPC después de la cocción con cal y el remojo (de la Parra et al., 2007). Para la tortilla (extractos de agua), los resultados fueron 838.06 - 2142.34 mg GAE / 100 g; para los extractos metanol:agua, los valores oscilaron entre 330.97 y 1018.99 mg GAE / 100 g. A diferencia de las masas, YT9 presentó los valores más altos y más bajos en agua y metanol:agua, respectivamente, RT0 y BT6 tuvieron el TPC más bajo en agua y no presentaron diferencias entre ellas, y BT9 mostró el valor más alto en metanol:aqua; la incorporación del alga no mostró una tendencia en el TPC para ninguno de los dos extractos. Esto se opone a lo reportado por Alvarez-Poblano et al. (2020), quienes observaron un aumento del TPC con mayores concentraciones de extracto de muicle. Otros estudios han encontrado resultados contrastantes ya que algunos autores han informado que el maíz amarillo contiene valores más bajos de TPC que otras variedades de maíz (Aguayo-Rojas et al., 2012) ya que el color puede estar relacionado con el contenido fenólico, especialmente en la acumulación de antocianinas (Žilić et al., 2012), lo que está acorde con los resultados obtenidos en este estudio. Por el contrario, otros autores han informado que no hay diferencias significativas entre los granos de maíz amarillos, azules y rojos (Mora-Rochin et al., 2010).



**Figura 6.** Contenido de compuestos fenólicos totales (TPC) de las masas preparadas con maíz amarillo, azul o rojo y diferentes concentraciones de alga parda (*Macrocystis pyrifera*). Los superíndices con letras diferentes indican diferencias significativas (*p* < 0.05). Los resultados se expresan como media (n = 3) y desviación estándar (SD = ±). YT, BT y RT se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo, azul y rojo,

respectivamente), mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la concentración de algas añadidas (%), siendo 0 el control.

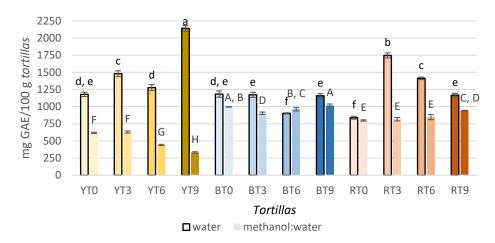
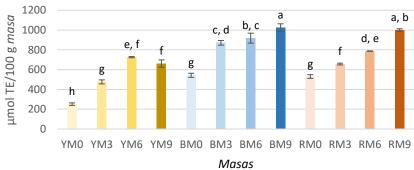


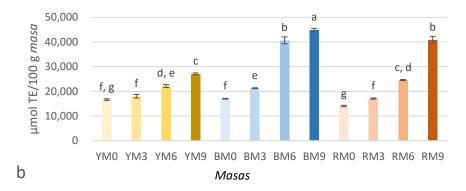
Figura 7. Contenido de compuestos fenólicos totales (CPT) de las tortillas preparadas con maíz amarillo, azul o rojo y diferentes concentraciones de alga parda (*Macrocystis pyrifera*). Los superíndices con letras diferentes indican diferencias significativas (*p* < 0.05). Los resultados se expresan como media (n = 3) y desviación estándar (SD = ±). YT, BT y RT se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo, azul y rojo, respectivamente), mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la concentración de algas añadidas (%), siendo 0 el control.

Los resultados de la capacidad antioxidante (ORAC) de la masa en ambos extractos se muestran en la Figura 8a, y b, y la capacidad antioxidante de las tortillas se presenta en la Figura 9a, y b. Al igual que el TPC, las masas y las tortillas en ambos extractos, agua y metanol: agua, se vieron significativamente afectados (p < 0.05) por el tipo de maíz, la concentración de algas y la interacción entre ambos factores. Los valores de los extractos acuosos de masa fueron 251.40 - 1023.60 µmol TE / 100 g masa, mientras que los resultados de la masa en el extracto de metanol:aqua oscilaron entre 14,051.96 y 44,928.75 µmol TE/100 g de masa. A diferencia del TPC, los valores de los extractos acuosos fueron inferiores a los de los extractos en metanol:agua. En ambos extractos, BM9 mostró la mayor capacidad antioxidante, mientras que YM0 presentó la menor capacidad antioxidante en aqua. En los extractos de metanol: aqua, YM0 y RM0 presentaron los valores más bajos y no mostraron diferencias significativas. Al igual que el TPC, la capacidad antioxidante de los extractos en aqua aumentó (excepto en YM6 e YM9) con la incorporación de alga, lo que también se observó para los extractos de metanol: aqua. La capacidad antioxidante, cuantificada como ORAC del maíz amarillo también se ha reportado que es menor, mientras que no se observaron diferencias entre el maíz rojo y el azul (Aguayo-Rojas et al., 2012). El maíz de color más oscuro también puede presentar mayores valores antioxidantes (Žilić et al., 2012) porque las antocianinas son antioxidantes más potentes que los ácidos fenólicos que se encuentran en el maíz más claro (Hernández-Martínez et al., 2016). Sin embargo, otros autores no han observado diferencias en la capacidad antioxidante entre las tortillas elaboradas con maíz amarillo o azul (Colín-Chávez et al., 2020). Los resultados de las tortilla en agua (Figura 5a) fueron de 435.47 - 1738.61 µmol TE / 100 g de tortilla y los resultados de los extractos metanol:agua de la tortilla (Figura 5b) fueron de 14,631.47 – 47,327.69 µmol TE / 100 g tortillas. En ambos extractos, BT9 y RT9 no mostraron diferencias significativas entre ellos. Al igual que la capacidad antioxidante de las masas,

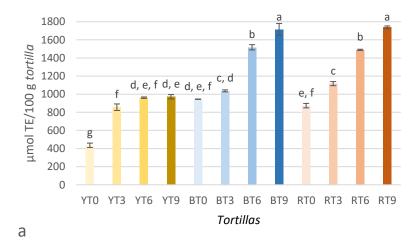
los resultados de los extractos metanol:agua fueron considerablemente superiores a los del agua. También se pudo observar que la incorporación del alga aumentó la capacidad antioxidante en casi todas las muestras, lo que coincide con los resultados de (Alvarez-Poblano et al., 2020), quienes reportaron un aumento de la actividad antioxidante con el aumento de la concentración de muicle. La transformación de la masa en tortillas puede aumentar la capacidad antioxidante porque puede ayudar a aumentar los fenoles solubles de los fitoquímicos ligados (de la Parra et al., 2007). Las diferencias en el TPC y las capacidades antioxidantes observadas en ambos extractos de masas y tortillas podrían estar relacionadas con la afinidad de los compuestos extraídos. Se ha investigado previamente cómo afectan los diferentes solventes al TPC. Por ejemplo, se ha demostrado que el aqua caliente es más eficaz que los solventes orgánicos, especialmente si los ácidos fenólicos son los compuestos fenólicos más abundantes (Bhebhe et al., 2016). Sin embargo, no siempre existe una correlación entre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante (Bhebhe et al., 2016; Chen et al., 2021), situación que se observó en este estudio. La capacidad antioxidante puede verse influida por el mecanismo de acción del ensayo, ya que los ensayos basados en la transferencia de electrones (ET) y los basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT), como el ORAC, se comportan de forma diferente dependiendo del solvente utilizado. Los solventes polares, como el agua, pueden tener valores más bajos debido al enlace de hidrógeno, que puede causar cambios en las actividades de los antioxidantes fenólicos como donantes de átomos de H (Yalcin & Sogut, 2014). Otra posibilidad podría ser que el extracto de metanol:agua promoviera la extracción de carotenoides mientras que el extracto acuoso no lo hizo, porque la mayoría de los carotenoides son insolubles en aqua pero solubles en solventes orgánicos (Rivera et al., 2014).

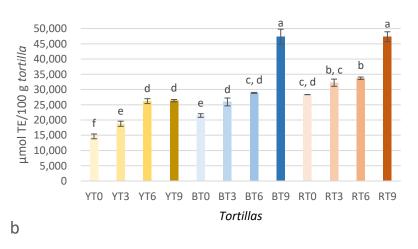


a



**Figura 8.** Capacidad antioxidante (ORAC) de las masas preparadas con maíz amarillo, azul o rojo y diferentes concentraciones de alga parda (*Macrocystis pyrifera*). (a) Extractos en agua; (b) Extractos en metanol:agua. Los superíndices con letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05). Los resultados se expresan como media (n = 3) y desviación estándar (SD = ±). YT, BT y RT se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo, azul y rojo, respectivamente), mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la concentración de algas añadidas (%), siendo 0 el control.





**Figura 9.** Capacidad antioxidante (ORAC) de tortillas preparadas con maíz amarillo, azul o rojo y diferentes concentraciones de alga parda (*Macrocystis pyrifera*). (a) Extractos en agua; (b) Extractos en metanol:agua.

Los superíndices con letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05). Los resultados se expresan como media (n = 3) y desviación estándar (SD = ±). YT, BT y RT se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo, azul y rojo, respectivamente), mientras que 0, 3, 6 y 9 denotan la concentración de algas añadidas (%), siendo 0 el control.

#### Conclusiones

La incorporación de Macrocystis pyrifera en masas de maíz amarillo, azul y rojo y tortillas afectó significativamente a todas las variables analizadas. Mientras que no hubo cambios significativos en los contenidos de carbohidratos y lípidos, hubo una disminución de la humedad y un aumento en los contenidos de cenizas, proteínas y fibra dietética en relación con la incorporación de algas. Todos los minerales analizados aumentaron. Las tortillas preparadas con maíz rojo mostraron las mayores concentraciones de minerales con excepción del Ca, que fue mayor en las tortillas de maíz azul. M. pyrifera también afectó a todos los parámetros de color analizados tanto de las masas como de las tortillas, lo que aumentó la diferencia con respecto a las muestras control cuando se utilizaron mayores concentraciones de alga. La dureza tanto de las masas como de las tortillas aumentó con la incorporación del alga. Las masas preparadas con maíz amarillo también presentaron valores más altos que las de maíz azul y rojo, lo que no se observó en las tortillas. El TPC y la capacidad antioxidante también aumentaron, pero hubo una disminución del TPC cuando se compararon las masas y las tortillas. Por último, el solvente utilizado para los ensayos de TPC y capacidad antioxidante también influyó en los resultados, ya que los extractos realizados en aqua dieron lugar a un mayor TPC, mientras que el metanol:aqua presentó mejores resultados en los ensayos de capacidad antioxidante (ORAC) lo que se atribuye a la posible extracción de diferentes compuestos fenólicos y carotenoides. Los resultados de este estudio muestran que M. pyrifera puede tener un gran potencial en el desarrollo de alimentos funcionales.

**Contribuciones de los autores:** Conceptualización, M.M.R.-R. y A.P.-A.; metodología, M.A.R.-R., M.M.R.-R. y A.P.-A.; análisis formal, M.M.R.-R. y A.P.-A.; redacción-preparación del borrador original, A.P.-A.; redacción-revisión y edición, D.K.B.-A., M.A.R.-R., M.M.R.-R. y A.P.-A.; obtención de fondos, D.K.B.-A. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

**Financiación:** El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT) financió esta investigación bajo la subvención del proyecto FOINS 4950.

Declaración de la Junta de Revisión Institucional: No aplicable.

Declaración de consentimiento informado: No se aplica.

**Declaración de disponibilidad de datos:** Los datos presentados en este estudio están disponibles en este artículo.

**Agradecimientos:** La autora Alexa Pérez-Alva agradece el apoyo financiero para sus estudios de doctorado de la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) de México, así como al Laboratorio de Análisis de Alimentos, Intema S.A. de C.V. por su contribución en los análisis realizados.

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

## Referencias

- Acevedo-Martinez, K. A., & Gonzalez de Mejia, E. (2021). Fortification of Maize Tortilla with an Optimized Chickpea Hydrolysate and Its Effect on DPPIV Inhibition Capacity and Physicochemical Characteristics. *Foods*, *10*(8), 1835. https://doi.org/10.3390/foods10081835
- Aguayo-Rojas, J., Mora-Rochín, S., Cuevas-Rodríguez, E. O., Serna-Saldivar, S. O., Gutierrez-Uribe, J. A., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2012). Phytochemicals and Antioxidant Capacity of Tortillas Obtained after Lime-Cooking Extrusion Process of Whole Pigmented Mexican Maize. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(2), 178-185. https://doi.org/10.1007/s11130-012-0288-y
- Alvarez-Poblano, L., Roman-Guerrero, A., Vernon-Carter, E. J., & Alvarez-Ramirez, J. (2020). Exogenous addition of muicle (Justicia spicigera Schechtendal) extract to white maize tortillas affects the antioxidant activity, texture, color, and in vitro starch digestibility. *LWT*, 133, 110120. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110120
- Argüello-García, E., Martínez-Herrera, J., Córdova-Téllez, L., Sánchez-Sánchez, O., & Corona-Torres, T. (2017). Textural, chemical and sensorial properties of maize tortillas fortified with nontoxic Jatropha curcas L. flour. *CyTA Journal of Food*, 15(2), 301-306.
  - https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1255915
- Arnés, E., Severiano-Pérez, P., & Astier, M. (2021). Sensory profile and acceptance of maize tortillas by rural and urban consumers in Mexico. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(6), 2300-2308. https://doi.org/10.1002/jsfa.11568
- Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*, 17th ed.; AOAC: Washington, DC, USA, 1997.
- Astorga-España, Ma. S., Mansilla, A., Ojeda, J., Marambio, J., Rosenfeld, S., Mendez, F., Rodriguez, J. P., & Ocaranza, P. (2017). Nutritional properties of dishes prepared with sub-Antarctic macroalgae—An opportunity for healthy eating. *Journal of Applied Phycology*, *29*(5), 2399-2406. https://doi.org/10.1007/s10811-017-1131-5
- Bhebhe, M., Füller, T. N., Chipurura, B., & Muchuweti, M. (2016). Effect of Solvent Type on Total Phenolic Content and Free Radical Scavenging Activity of Black Tea and Herbal Infusions. *Food Analytical Methods*, *9*(4), 1060-1067. https://doi.org/10.1007/s12161-015-0270-z
- Biancacci, C., Sanderson, J. C., Evans, B., Callahan, D. L., Francis, D. S., Skrzypczyk, V. M., Cumming, E. E., & Bellgrove, A. (2022). Variation in biochemical composition of wild-harvested Macrocystis pyrifera (Ochrophyta) from sites proximal and distal to salmon farms in Tasmania, Australia. *Algal Research*, 65, 102745. https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102745

- Chen, L., Guo, Y., Li, X., Gong, K., & Liu, K. (2021). Phenolics and related in vitro functional activities of different varieties of fresh waxy corn: A whole grain. *BMC Chemistry*, 15(1), 1-9. https://doi.org/10.1186/s13065-021-00740-7
- Colín-Chávez, C., Virgen-Ortiz, J. J., Serrano-Rubio, L. E., Martínez-Téllez, M. A., & Astier, M. (2020). Comparison of nutritional properties and bioactive compounds between industrial and artisan fresh tortillas from maize landraces. *Current Research in Food Science*, *3*, 189-194. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2020.05.004
- Contreras Jiménez, B., Oseguera Toledo, M. E., Garcia Mier, L., Martínez Bravo, R., González Gutiérrez, C. A., Curiel Ayala, F., & Rodriguez-Garcia, M. E. (2020). Physicochemical study of nixtamalized corn masa and tortillas fortified with "chapulin" (grasshopper, Sphenarium purpurascens) flour. *CyTA Journal of Food*, 18(1), 527-534. https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1794980
- Cornejo-Villegas, M. A., Acosta-Osorio, A. A., Rojas-Molina, I., Gutiérrez-Cortéz, E., Quiroga, M. A., Gaytán, M., Herrera, G., & Rodríguez-García, M. E. (2010). Study of the physicochemical and pasting properties of instant corn flour added with calcium and fibers from nopal powder. *Journal of Food Engineering*, *96*(3), 401-409.
- de la Parra, C., Saldivar, S. O. S., & Liu, R. H. (2007). Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(10), 4177-4183. https://doi.org/10.1021/jf063487p

https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.08.014

- FAO. (s. f.). Crops and livestock products. https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL
- Ford, L., Theodoridou, K., Sheldrake, G. N., & Walsh, P. J. (2019). A critical review of analytical methods used for the chemical characterisation and quantification of phlorotannin compounds in brown seaweeds. *Phytochemical Analysis*, *30*(6), 587-599.
  - https://doi.org/10.1002/pca.2851
- Fradinho, P., Raymundo, A., Sousa, I., Domínguez, H., & Torres, M. D. (2019). Edible Brown Seaweed in Gluten-Free Pasta: Technological and Nutritional Evaluation. *Foods*, *8*(12), 622. https://doi.org/10.3390/foods8120622
- Hernández-Martínez, V., Salinas-Moreno, Y., Ramírez-Díaz, J. L., Vázquez-Carrillo, G., Domínguez-López, A., & Ramírez-Romero, A. G. (2016). Color, phenolic composition and antioxidant activity of blue tortillas from Mexican maize races. *CyTA Journal of Food*, *14*(3), 473-481. https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1136842
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Prior, R. L. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader

- in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(16), 4437-4444. https://doi.org/10.1021/jf0201529
- Lecuona-Villanueva, A., Betancur-Ancona, D. A., Chel-Guerrero, L. A., & Castellanos-Ruelas, A. F. (2012). Protein Fortification of Corn Tortillas: Effects on Physicochemical Characteristics, Nutritional Value and Acceptance. *Food and Nutrition Sciences*, *3*(12), 25286. https://doi.org/10.4236/fns.2012.312217
- León-Murillo, J. R., Gutiérrez-Dorado, R., Reynoso-Camacho, R., Milán-Carrillo, J., Perales-Sánchez, J. X. K., Cuevas-Rodríguez, E. O., & Reyes-Moreno, C. (2021). Tortillas Made with Extruded Flours of Blue Maize and Chía Seeds as an Nutritious and Nutraceutical Food Option: Tortillas Preparadas Con Harinas Extruidas De Maíz Azul Y Semillas De Chía Como Una Opción De Alimento Nutritivo Y Nutracéutico. Agrociencia, 55(6), 487-506. https://doi.org/10.47163/agrociencia.v55i6.2555
- Leyton, A., Flores, L., Mäki-Arvela, P., Lienqueo, M. E., & Shene, C. (2019). Macrocystis pyrifera source of nutrients for the production of carotenoids by a marine yeast Rhodotorula mucilaginosa. *Journal of Applied Microbiology*, *127*(4), 1069-1079. https://doi.org/10.1111/jam.14362
- Lozano Muñoz, I., & Díaz, N. F. (2020). Minerals in edible seaweed: Health benefits and food safety issues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-16. https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1844637
- Martínez-Bustos, F., Martínez-Flores, H. E., Sanmartín-Martínez, E., Sánchez-Sinencio, F., Chang, Y. K., Barrera-Arellano, D., & Rios, E. (2001). Effect of the components of maize on the quality of masa and tortillas during the traditional nixtamalisation process. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *81*(15), 1455-1462. https://doi.org/10.1002/jsfa.963
- Méndez-Lagunas, L. L., Cruz-Gracida, M., Barriada-Bernal, L. G., & Rodríguez-Méndez, L. I. (2020). Profile of phenolic acids, antioxidant activity and total phenolic compounds during blue corn tortilla processing and its bioaccessibility. *Journal of Food Science and Technology*, 57(12), 4688-4696. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04505-3
- Montemayor-Mora, G., Hernández-Reyes, K. E., Heredia-Olea, E., Pérez-Carrillo, E., Chew-Guevara, A. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2018). Rheology, acceptability and texture of wheat flour tortillas supplemented with soybean residue. *Journal of Food Science and Technology*, *55*(12), 4964-4972. https://doi.org/10.1007/s13197-018-3432-3
- Mora-Rochin, S., Gutiérrez-Uribe, J. A., Serna-Saldivar, S. O., Sánchez-Peña, P., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented maize processed by conventional nixtamalization or extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*, *52*(3), 502-508. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.08.010
- Oghbaei, M., & Prakash, J. (2016). Effect of primary processing of cereals and legumes on its nutritional quality: A comprehensive review. *Cogent Food & Agriculture*, *2*(1), 1136015.

- https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1136015
- Platt-Lucero, L. C., Ramirez-Wong, B., Torres-Chávez, P. I., López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo, J., & Morales-Rosas, I. (2010). Improving Textural Characteristics of Tortillas by Adding Gums During Extrusion to Obtain Nixtamalized Corn Flour. *Journal of Texture Studies*, *41*(5), 736-755. https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2010.00252.x
- Rivera, S. M., Christou, P., & Canela-Garayoa, R. (2014). Identification of carotenoids using mass spectrometry: Identification of Carotenoids. *Mass Spectrometry Reviews*, *33*(5), 353-372. https://doi.org/10.1002/mas.21390
- Rouf Shah, T., Prasad, K., & Kumar, P. (2016). Maize—A potential source of human nutrition and health: A review. *Cogent Food & Agriculture*, *2*(1), 1166995. https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1166995
- Salazar, D., Rodas, M., & Arancibia, M. (2020). Production of tortillas from nixtamalized corn flour enriched with Andean crops flours: Faba-bean (Vicia faba) and white-bean (Phaseolus vulgaris). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 731-738. https://doi.org/10.9755/ejfa.2020.v32.i10.2179
- Shannon, E., & Abu-Ghannam, N. (2019). Seaweeds as nutraceuticals for health and nutrition. *Phycologia*, *58*(5), 563-577. https://doi.org/10.1080/00318884.2019.1640533
- SIAP. (s. f.-a). *Anuario Estadístico de la Producción Agrícola*. https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/
- SIAP. (s. f.-b). *Panorama Agroalimentario 2020*. https://nube.siap.gob.mx/gobmx\_publicaciones\_siap/pag/2020/Atlas-Agroalimentario-2020
- Singh, N., Singh, S., & Shevkani, K. (2019). Maize: Composition, Bioactive Constituents, and Unleavened Bread. En V. R. Preedy & R. R. (Eds.), Watson *Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention* (pp. 111-121). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00009-5
- S.Kumaravel, & Alagusundaram, K. (2014). Determination of Mineral Content in Indian Spices by ICP-OES. *Oriental Journal of Chemistry*, *30*(2), 631-636.
- Topete-Betancourt, A., Santiago-Ramos, D., & Figueroa-Cárdenas, J. de D. (2020). Relaxation tests and textural properties of nixtamalized corn masa and their relationships with tortilla texture. *Food Bioscience*, *33*, 100500. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100500
- U.S. Department of Agriculture and U.S. Department of Health and Human Services. (2020). *Dietary Guidelines for Americans, 2020-2025* (9th Edition). Available at DietaryGuidelines.gov.
- Wrolstad, R. E., & Smith, D. E. (2017). Color Analysis. En S. S. Nielsen (Ed.), *Food Analysis* (pp. 545-555). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5\_31

- Xiang, L., Xiao, L., Wang, Y., Li, H., Huang, Z., & He, X. (2014). Health benefits of wine: Don't expect resveratrol too much. *Food Chemistry*, *156*, 258-263. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.006
- Yalcin, G., & Sogut, O. (2014). Influence of extraction solvent on antioxidant capacity value of oleaster measured by ORAC method. *Natural Product Research*, *28*(18), 1513-1517.
  - https://doi.org/10.1080/14786419.2014.913243
- Yaqoob, S., Cai, D., Liu, M., Zheng, M., Zhao, C.-B., & Liu, J.-S. (2019). Characterization of microstructure, physicochemical and functional properties of corn varieties using different analytical techniques. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 572-582.
  - https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1596124
- Žilić, S., Serpen, A., Akıllıoğlu, G., Gökmen, V., & Vančetović, J. (2012). Phenolic Compounds, Carotenoids, Anthocyanins, and Antioxidant Capacity of Colored Maize (Zea mays L.) Kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(5), 1224-1231.
  - https://doi.org/10.1021/jf204367z

# Capítulo 3. Compuestos bioactivos en tortillas de maíz de colores enriquecidas con *Macrocystis pyrifera// Bioactive compounds in colored maize tortillas fortified with Macrocystis pyrifera*

Alexa Pérez-Alva<sup>a</sup>, Melissa A. Ramírez-Rodrigues<sup>b</sup>, Luz A. Martínez-Jiménez<sup>b</sup>, Santiago Cárdenas-Pinto<sup>c</sup> and Milena M. Ramírez-Rodrigues<sup>d\*</sup>

<sup>a</sup>Department of Chemical, Food and Environmental Engineering, Universidad de las Américas Puebla, Cholula, Mexico

<sup>b</sup>Food Analysis Laboratory, Intema S.A. de C.V., Puebla, Mexico

Department of Food Science and Human Nutrition, University of Florida, Gainesville, USA

<sup>d</sup>Tecnologico de Monterrey, Department of Bioengineering, Puebla, Mexico

\* milena.ramirez@tec.mx

#### Resumen

El objetivo de este estudio fue identificar las diferencias en el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides y tocoferoles al utilizar diferentes concentraciones del alga *Macrocystis pyrifera* y diferentes tipos de maíz (amarillo, azul y rojo) en la elaboración de tortillas. Mediante LC-MS/MS se cuantificaron quince compuestos fenólicos y nueve carotenoides, y tocoferoles por encima del umbral (0.005 µg/ mL). El compuesto fenólico más abundante fue el ácido p-hidroxibenzoico (ácido 4-hidroxibenzoico) con 3.84 ± 0.01 µg/ g de muestra en tortillas de maíz azul con un 9 % de algas. La fucoxantina fue el carotenoide más abundante (408.38 ± 9.55 µg/ g) y se encontró en la tortilla de maíz roja con 9 % de algas. Estos compuestos, así como el floroglucinol y la violaxantina aumentaron con mayores concentraciones de algas. Mientras que el  $\gamma$ -tocoferol (5.86 ± 0.21 µg/ g), así como los demás compuestos fenólicos, carotenoides y tocoferoles disminuyeron. La incorporación de las algas a las tortillas de maíz dio lugar a diferencias significativas en el contenido fitoquímico.

**Palabras clave:** Carotenoides, cromatografía, *Macrocystis pyrifera*, tortillas de maíz, compuestos fenólicos

## Introducción

El maíz (*Zea mays* L.) es originario de México, país que cuenta con la mayor diversidad de recursos genéticos en el mundo con ~ 59 variedades criollas diferentes (Aguayo-Rojas et al., 2012; Colín-Chávez et al., 2020). Además del impacto económico que tiene el maíz no sólo en México, sino en varios países de América Latina, tiene una importante relevancia social, cultural e histórica desde la época prehispánica (Acevedo-Martinez & Gonzalez de Mejia, 2021; Colín-Chávez et al., 2020). Se utiliza principalmente para la elaboración de tortillas, botanas y productos relacionados obtenidos de la masa (Buitimea-Cantúa et al., 2018). Mientras que en Estados Unidos, el consumo de tortillas, y otros *snacks* a base de maíz ha aumentado a medida que la popularidad de la comida mexicana ha aumentado,

junto con la conciencia de sus beneficios para la salud (Aguayo-Rojas et al., 2012; Buitimea-Cantúa et al., 2018).

El maíz contiene diferentes compuestos bioactivos como compuestos fenólicos, antocianinas y carotenoides. Diferentes compuestos fenólicos como los ácidos protocatecúico, vanílico, siríngico, p-hidroxibenzoico, caffeico, p-coumárico, ferúlico e isoferúlico, cianidina-3-O-glucosido, kaempferol, y quercetina se han reportado en diversos tipos de maíz (Singh et al., 2019). El maíz azul y rojo tiene antocianinas como cianidina, malvidina y pelargonidina (Singh et al., 2019). Los carotenoides son tetraterpenoides con un sistema de doble enlace conjugado largo y simetría casi bilateral alrededor del doble enlace central (Corrales-Bañuelos et al., 2016). Estos compuestos, especialmente las xantofilas, son responsables de los colores amarillo, naranja y rojo del maíz, así como de varias frutas y verduras (Corrales-Bañuelos et al., 2016; Singh et al., 2019). La luteína y la zeaxantina son los principales carotenoides del maíz, la α-criptoxantina, la β-criptoxantina, el α-caroteno y el β-caroteno también están presentes en menor concentración. Mientras que el maíz azul y el blanco tienen un bajo contenido de luteína y zeaxantina, las variedades de maíz amarillo v roio con alto contenido de carotenoides tienen un mayor contenido de estos compuestos (Singh et al., 2019). Los tocoferoles y tocotrienoles son compuestos liposolubles que poseen un anillo cromanol y una cadena lateral hidrocarbonada. Pueden estar presentes como cuatro homólogos ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ ) y suelen denominarse vitamina E (Koch et al., 2016; Szewczyk et al., 2021; Wang et al., 2018).

Las algas marinas, que son organismos fotosintéticos (Shannon & Abu-Ghannam, 2019), son una fuente de diferentes compuestos valiosos como minerales, vitaminas y pigmentos como carotenoides y compuestos fenólicos (Fradinho et al., 2019). Dada la diversidad de compuestos que poseen, las algas marinas han sido utilizadas como alimentos, fertilizantes, agrícolas, biocombustibles, cosmecéuticos, nutracéuticos y productos farmacéuticos (Lamont & McSweeney, 2021). En Perú, la mayor parte de las algas comercializadas son cosechadas de lechos naturales (Avila-Peltroche & Padilla-Vallejos, 2020), de manera similar a Chile, país que comercializa el 10% de la producción mundial de algas pardas (Buschmann et al., 2014). Entre las diferentes algas pardas presentes en el Océano Pacífico, se encuentra Macrocystis pyrifera. Esta alga es muy abundante en las zonas costeras de Chile y Perú: y en la península de Baja California, México (Leyton et al., 2020; Vázquez-Delfín et al., 2019). En México la producción de M. pyrifera sufrió un declive después de 1999, pero actualmente debido a que esta alga se incorpora a diferentes productos como fertilizantes, la producción anual se ha incrementado a 4600 toneladas (Vázquez-Delfín et al., 2019). Esta alga se utiliza principalmente como alimento para abulón y producción de hidrocoloides (Leyton et al., 2020). Se ha reportado que contiene varios florotaninos, como el floroeckol (Leyton et al., 2016).

Las tortillas han sido fortificadas con diferentes ingredientes como chapulín (*Sphenarium purpuracens*) (Contreras Jiménez et al., 2020), nopal (Cornejo-Villegas et al., 2010), haba (*Vicia faba*), frijol blanco (*Phaseolus vulgaris*) (Salazar et al., 2020) y muicle (*Justicia spicigera Schechtendal*) (Alvarez-Poblano et al., 2020). Sin embargo, aunque se han reportado las propiedades fisicoquímicas y la caracterización química de tortillas amarillas, azules y rojas fortificadas con *M. pyrifera* (Pérez-Alva et al., 2022), no se ha investigado el

perfil de compuestos fenólicos, carotenoides y tocoferoles de las tortillas. El objetivo de este estudio fue identificar las diferencias en el contenido de compuestos fenólicos y carotenoides al utilizar diferentes concentraciones del alga *Macrocystis pyrifera* y diferentes tipos de maíz (amarillo, azul o rojo) en la elaboración de tortillas.

# Materiales y métodos

# 1. Materiales de ensayo, productos químicos y normas

Se prepararon tortillas utilizando tres variedades diferentes de maíz (*Zea mays*). El maíz (amarillo, azul y rojo) comprado como masa nixtamalizada, fue adquirido en una tienda local en Puebla, México. El alga *Macrocystis pyrifera* fue comprada a ALGAS PACIFIC (Ensenada, BC, México). Los reactivos utilizados para la extracción de los compuestos bioactivos fueron de grado analítico y se adquirieron en Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA), mientras que los reactivos utilizados para las técnicas instrumentales fueron de grado cromatográfico. Los estándares utilizados para los perfiles de compuestos fenólicos y carotenoides fueron ácido cafeico, ácido vanílico, ácido gálico, rutina, floroglucinol, ácido pcumárico, miricetina, fucoxantina, α-tocoferol y β-caroteno. Excepto la rutina, que se adquirió a Phytolab GmbH and Co. (Vestenbergsgreuth, Alemania), todos los patrones fueron (comprados o donados) a Sigma-Aldrich Co.

## 2. Formulación de las tortillas

El alga se adicionó en forma de polvo, que se obtuvo secando las algas a 60 °C en un deshidratador EXC10EL Excalibur (The Legacy Co., Weston, FL, EE.UU.) hasta que el contenido de humedad fue del 12 % (p/p), seguido de molienda en un NutriBullet NB606DG (Capital Brands Distribution LLC, Los Angeles, CA, EE.UU.) y tamizado con una malla de 270 μm. A continuación, el polvo de algas se incorporó a las tres masas nixtamalizadas (amarilla, azul y roja) en cuatro niveles diferentes (0, 3, 6 y 9 % (p/p)). Las muestras se identificaron como YT, BT, o, RT, dependiendo del tipo de masa, seguido de 0, 3, 6, o 9, dependiendo de la concentración de algas (% p/p). Por ejemplo, YT0 corresponde a las tortillas preparadas con masa amarilla y sin algas.

La masa y el polvo de algas se amasaron a mano hasta conseguir una incorporación homogénea. A continuación, cada masa se dividió en porciones esféricas de 30 g cada una, que se prensaron utilizando una prensa para tortillas (Tortitlax, Monterrey, NL, México) en discos planos (tortillas) y se calentaron. El proceso de cocción consistió en colocar las tortillas en una plancha caliente a 350 °C durante 1 min, darles la vuelta y calentarlas durante 30 s por el lado opuesto, y calentarlas de nuevo durante 15 s por el lado inicial; tal y como reportan Alvarez-Poblano et al. (2020). En la Tabla 9 se pueden observar los productos finales.

**Tabla 9**. Tortillas preparadas con diferentes tipos de maíz (amarillo, azul o rojo) y diferentes concentraciones del alga parda *Macrocystis pyrifera* (0, 3, 6, 9 %)



# 3. Preparación de las muestras

Una vez enfriadas las tortillas, se molieron utilizando un NutriBullet NB606DG (Capital Brands Distribution LLC., Los Ángeles, CA, EE.UU.) para obtener un polvo homogéneo, que se congeló a -20 °C hasta que se realizaron los análisis. Para identificar y cuantificar los compuestos fenólicos, los extractos se prepararon disolviendo 1 g de tortilla molida en 10 mL de agua destilada (DI), se mezclaron durante 1 minuto utilizando un vórtex y se sonicaron durante 60 minutos en un baño ultrasónico 2800 Branson Bransonic (Emerson Electric Co., St. Louis, MO, EE.UU.). A continuación, las muestras se centrifugaron (centrifugadora Sorvall Legend, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.) a 5000 rpm durante 10 minutos a 20 °C y se filtraron con un filtro de nailon de 0.45 µm (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE.UU.). Los extractos utilizados para la identificación y cuantificación de carotenoides se prepararon disolviendo 1 g de tortilla molida en 10 mL de metanol:agua (90:10 v/v)), se mezclaron, sonicaron y centrifugaron utilizando las mismas condiciones descritas para la extracción de compuestos fenólicos.

# 4. Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos

El análisis del perfil de compuestos fenólicos de las tortillas se llevó a cabo en un HPLC (Agilent 1290 Infinity II, Agilent Technologies) equipado con un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (Agilent Ultivo, Agilent Technologies). La columna utilizada para los compuestos fenólicos fue una Zorbax eclipse SB-C18 (4.6 x 150 mm, 3.5 µm) (Agilent Technologies). Las fases móviles utilizadas fueron ácido fórmico al 0.1 % (v/v) en agua (A) y ácido fórmico al 0.1 % (v/v) en acetonitrilo (B). Las condiciones utilizadas para la columna fueron 30 °C, con un caudal de 0.9 mL/ min y se utilizó un volumen de inyección de 5 μL. El tiempo total de ejecución fue de 30 min. El programa de gradiente lineal fue: 0 min, 100 % A; 3.5 min, 95 % A, y 5 % B; 7.10 min 85 % A, y 15 % B; 25 – 26 min 60 % A, y 40 % B; 27 – 29 min 100 % B, 30 min 100 % A. El espectrómetro de masas de triple cuadrupolo equipado con ionización por electrospray (ESI) se utilizó en modo positivo para rutina, floroglucinol, ácido vanílico y ácido clorogénico; mientras que el modo negativo se utilizó para ácido cafeico, ácido p-cumárico, miricetina y ácido gálico. La optimización del espectrómetro de masas se llevó a cabo mediante infusión directa de soluciones madre de 50 mg/L para seleccionar el modo de ionización y los iones precursores y productos. Para la cuantificación se utilizaron las curvas de calibración (0.1 – 10 μg/ mL) de los estándares de compuestos fenólicos mencionados. Los compuestos se identificaron por su tiempo de retención, patrones de fragmentación de MS y comparación con los estándares. Los parámetros de MS se ajustaron como sigue: voltaje capilar: 3500 V, temperatura del gas (nitrógeno): 350 °C, flujo de gas: 10 L/ h, nebulizador: 55 psi. Los espectros MS/MS se adquirieron utilizando una energía de colisión de 5-40 V (compuestos fenólicos). En la Tabla 10 se pueden observar las condiciones utilizadas para el espectrómetro de masas de triple cuadrupolo.

Tabla 10. Condiciones utilizadas para la identificación de compuestos fenólicos.

Compuesto	Dwell (ms)	Fragmentor (V)	CE (V)	Polaridad	Modo de ionización			
	Fenoles	simples						
Ácido <i>p</i> -hydroxibenzoico (ácido 4-hidroxibenzoico)	50	88	30	+	ESI			
Floroglucinol	50	98	19	+	ESI			
Áci	dos Hidr	oxibenzoicos						
Ácido gálico	50	88	23	-	ESI			
Ácido siríngico	50	72	20	-	ESI			
Ácido vanílico	50	72	23	+	ESI			
Áci	Ácidos Hidroxicinamicos							
Ácido caféico	50	82	27	-	ESI			
Hexósido de ácido cafeico	50	82	30	-	ESI			
Ácido ferúlico	50	82	20	-	ESI			
Ácido <i>p</i> -coumárico	50	62	39	-	ESI			
	Proanto	cianidinas						
Proantocianidina B2	50	150	40	+	ESI			
Procianidina B1	50	150	30	-	ESI			
Flavonoides								
Apigenina	50	130	30	+	ESI			
Miricetina	50	140	27	-	ESI			
Quercetina	50	140	30	+	ESI			
Rutina	50	88	19	+	ESI			

# 5. Identificación y cuantificación de carotenoides y tocoferoles

El análisis de perfil de carotenoides y tocoferoles de las tortillas se realizó utilizando el equipo mencionado anteriormente, pero la columna empleada fue una Zorbax eclipse plus C18 (3.10 x 150 mm, 1.8 µm) (Agilent Technologies). Las fases móviles fueron cloruro de metileno (A), ácido fórmico al 0.1 % (v/v) en agua (B) y ácido fórmico al 0.1 % (v/v) en metanol (C). Las condiciones utilizadas fueron 30 °C, un flujo de 0.9 mL/ min y un volumen de inyección de 5 µL. El tiempo total de ejecución fue de 6 min. El gradiente lineal programado fue: 0 – 3 min, 15 % A, 15 % B y 70 % C; 3 – 5 min, 50 % A, 50 % C; 6 min 15 % A. 15 % B v 70 % C. Se utilizó el espectrómetro de masas de triple cuadrupolo equipado con ionización por electrospray (ESI) en modo positivo. La optimización del espectrómetro de masas se realizó mediante infusión directa de soluciones madre de 50 mg/ L para seleccionar el modo de ionización y los iones precursores y productos. Para la cuantificación se utilizaron las curvas de calibración de los estándares de carotenoides (0.005 – 25 µg/ mL). Los compuestos se identificaron por su tiempo de retención, patrones de fragmentación de MS y comparación con los estándares. Los parámetros de MS se ajustaron como sigue: voltaje capilar: 3500 V, temperatura del gas (nitrógeno): 350 °C, flujo de gas: 10 L/h, nebulizador: 55 Psi. Los espectros MS/MS se adquirieron utilizando una energía de colisión de 6 - 40 V (carotenoides). En la Tabla 12 se pueden observar las condiciones utilizadas para el espectrómetro de masas de triple cuadrupolo.

Tabla 11. Condiciones utilizadas para la identificación de carotenoides y tocoferoles.

Compuesto	Dwell (ms)	Fragmentor (V)	CE (V)	Polaridad	Modo de ionización				
Xantofilas									
ß-criptoxantina	100	106	10	+	ESI				
Fucoxantina	100	106	30	+	ESI				
Luteína/ Zeaxantina	100	106	30	+	ESI				
Violaxantina	100	106	30	+	ESI				
	Ca	rotenos							
ß-caroteno	100	160	30	+	ESI				
	Toc	oferoles							
α-tocoferol	100	96	30	+	ESI				
δ-tocoferol	100	96	40	+	ESI				
γ-tocotrienol	100	96	30	+	ESI				
γ-tocoferol	100	96	30	+	ESI				

## 6. Análisis estadístico

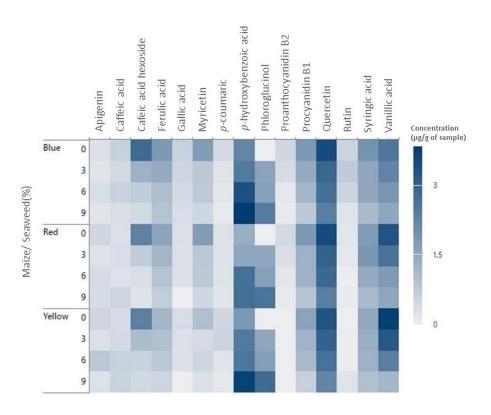
Cada medición se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como media  $\pm$  DE. Los análisis estadísticos se realizaron con el software estadístico Minitab 21 (Minitab, LLC, State College, PA, EE.UU.) y consistieron en análisis de varianza (ANOVA) de una vía y de dos vías con separación de medias mediante pruebas de Tukey. Además, los resultados se presentaron en un mapa de calor, que es una representación gráfica de los datos. En ellos, el color se utiliza para mostrar la magnitud de un determinado valor de seguimiento (Guo et al., 2020), que en este estudio fue la concentración de compuestos fenólicos o carotenoides. Todas las pruebas se realizaron utilizando  $\alpha$  = 0,05. Los resultados mostraron un CV inferior al 5 %.

# Resultados y discusión

# 1. Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos

Un total de 15 compuestos fenólicos se encontraban por encima del valor mínimo de la curva de calibración (> 0.1 µg/ mL) y pueden observarse en la Figura 10. De los compuestos identificados, 2 eran fenoles simples (ácido p-hidroxibenzoico (ácido 4-hidroxibenzoico), floroglucinol), 3 eran ácidos hidroxibenzoicos (ácido gálico, ácido siríngico y ácido vanílico), 4 eran ácidos hidroxicinámicos (ácido cafeico, hexósido de ácido cafeico, ácido ferúlico y ácido p-cumárico), 2 proantocianidinas (proantocianidina B2 y procianidina B1) y 4 flavonoles (apigenina, miricetina, quercetina y rutina). El perfil fenólico del maíz puede variar en función de la variedad local, las condiciones de cultivo (Zhang et al., 2017) y el momento de la siembra, por ejemplo, el contenido de ácido p-cumárico insoluble puede ser mayor cuando el maíz se siembra más temprano en la temporada (Lux et al., 2020). De forma similar a este estudio, en variedades de maíz morado se han identificado compuestos fenólicos como ácido cafeico, rutina, ácido ferúlico y quercetina (Ramos-Escudero et al., 2012). Mientras que en maíz amarillo también se han identificado ácido vanílico, y ácido p-hidroxibenzoico (Pedreschi & Cisneros-Zevallos, 2007), los cuales concuerdan con los resultados observados en este estudio. Sin embargo, también se han reportado ácido

clorogénico, naringenina y kaempferol (Ramos-Escudero et al., 2012), compuestos que no fueron identificados en ninguna muestra de tortilla. Pero a diferencia del presente estudio en el que el ácido gálico se identificó en todas las muestras (excepto en las que tenían un 9 % de algas). Ramos-Escudero et al. (2012) observaron que este compuesto fenólico estaba ausente en el maíz morado. Durante la transformación del maíz en tortillas la concentración de polifenoles individuales varía; en maíz y tortillas se han observado mayores concentraciones de ácido p-cumárico y ferúlico, mientras que en masas también se han encontrado ácidos vanílicos (Méndez-Lagunas et al., 2020). En tortillas hechas a mano de maíz blanco y azul, los compuestos fenólicos más abundantes fueron los ácidos ferúlico, p-cumárico, cafeico, siríngico y 4-hidroxibenzoico (Colín-Chávez et al., 2020). El compuesto fenólico más abundante fue el ácido p-hidroxibenzoico (ácido 4-hidroxibenzoico) con 3.84  $\pm$  0.01  $\mu$ g/ g de muestra (BT9). Este compuesto aumentó significativamente (p <0.05) con la concentración de algas y fue más abundante en las tortillas preparadas con maíz amarillo (1.84 – 3.70 µg/ g) v azul (2.22 – 3.84 µg/ g). El otro compuesto que aumentó con el incremento de la concentración de algas fue el floroglucinol, que fue significativamente mayor (p < 0.05) en las tortillas con mayor concentración de algas (0.00 - 2.80 µg/ g). El floroglucinol y sus diferentes oligómeros también se han identificado en el alga parda Laminaria digitata (Vissers et al., 2017). Mientras que los ácidos hidroxibenzoicos (ácido gálico, ácido siríngico y ácido vanílico), los ácidos hidroxicinámicos (hexósido de ácido cafeico, ácido ferúlico y p-cumárico), la proantocianidina (procianidina B1) y los flavonoides (apigenina, miricetina y quercetina) disminuyeron significativamente (p < 0.05) cuando se utilizaron mayores concentraciones de algas. La proantocianidina B2 no estaba presente en las tortillas preparadas con maíz amarillo (YTO - YT9), va que este tanino condensado suele asociarse a productos alimenticios que oscilan entre coloraciones rojas y negras (Rauf et al., 2019). Además, se han observado pérdidas en el contenido de antocianinas de hasta el 100 % por el procesamiento del maíz en tortillas (de la Parra et al., 2007). Mientras que la rutina fue significativamente mayor (0.21 – 0.75 μg/ g) en las tortillas de maíz azul, en comparación con las tortillas de maíz amarillo y rojo (0.01 – 0.21 µg/ g). Por último, el ácido hidroxicinámico, ácido cafeico, no presentó una tendencia relacionada ni con el tipo de maíz ni con la concentración de algas utilizada.



**Figura 10.** Heat map de los compuestos fenólicos encontrados en tortillas de maíz coloreadas con diferentes concentraciones de alga marrón (*Macrocystis pyrifera*).

En el presente estudio, la suma de los compuestos identificados osciló entre 13.95 ± 0.96  $\mu$ g/ g en RT9 y 21.31 ± 1.07  $\mu$ g/ g en BT0, observándose diferencias significativas (p < 0.05) entre las muestras (Figura 11). Cuando se comparó el mismo tipo de maíz, se observó una disminución significativa (p < 0.05) en la suma de los compuestos fenólicos identificados. Cuando se compararon muestras de diferentes variedades de maíz pero con la misma concentración de algas, sólo las muestras de control azul y rojo (BT0, y RT0) presentaron un contenido significativamente mayor que YTO, mientras que no hubo diferencias significativas entre las muestras que contenían 3 – 9 % de algas. Otros autores han informado de un mayor contenido fenólico total en las tortillas hechas a mano de maíz blanco y azul (60 - 70 µg/ 100 g d.b.), en comparación con las tortillas de maíz blanco producidas comercialmente (~40 µg/ 100 g d.b.) (Colín-Chávez et al., 2020). Se ha reportado que las variedades pigmentadas pueden presentar un mayor contenido de compuestos fenólicos, ya que tienen antocianinas y otros flavonoides (Bento-Silva et al., 2021); sin embargo, otros autores han reportado un mayor contenido fenólico total en tortillas de maíz amarillo en comparación con las variedades blancas, azules y rojas (Mora-Rochin et al., 2010). Los compuestos fenólicos pueden oxidarse y degradarse cuando se exponen a la luz, al oxígeno y al calor; todos ellos presentes durante el procesado de las tortillas (Méndez-Lagunas et al., 2020). Además de estos cambios, también pueden estar presentes como compuestos libres o ligados, lo que afectará a su solubilidad y otras propiedades, como la capacidad antioxidante (Méndez-Lagunas et al., 2020; Su et al., 2014). Mientras que los compuestos fenólicos libres son extraíbles con disolventes, los compuestos ligados pueden estar esterificados o unidos a macromoléculas insolubles, impidiendo su extracción (Méndez-Lagunas et al., 2020; Su et al., 2014). En varios estudios se han observado diferencias en la proporción entre compuestos fenólicos libres y unidos (de la Parra et al., 2007; Méndez et al., 2013). Cuando se analizaron estadísticamente los compuestos individuales, se pudo observar que ambos factores (la concentración de algas, y el tipo de maíz), así como su interacción presentaron un efecto significativo (p < 0.05) sobre la concentración de todos los compuestos identificados.

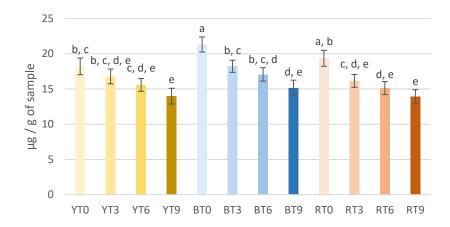


Figura 11. Suma de compuestos fenólicos encontrados en tortillas de maíz con diferentes concentraciones de algas. Los resultados se presentan como media ± DE. Los superíndices con letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05). YT, BT y RT se refieren al tipo de maíz utilizado (amarillo, azul o rojo) y 0-9 es la concentración (%) de algas utilizadas

Las microalgas *Nannochloropsis* sp. y *Tetraselmis* sp. se han utilizado para enriquecer tortillas de harina, que han mostrado un aumento en el contenido fenólico total, y en el contenido total de carotenoides, lo que conlleva una mayor capacidad antioxidante en comparación con el control (Hernández-López et al., 2021). Otras tortillas de harina se han enriquecido con harina obtenida de las semillas del árbol mexicano *Brosimum alicastrum* Sw. (ramón), mostrando un efecto positivo sobre el contenido fenólico total y la capacidad antioxidante de las muestras (Subiria-Cueto et al., 2019).

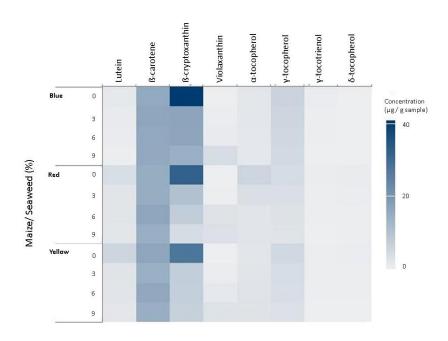
# 2. Identificación y cuantificación de carotenoides y tocoferoles

Cinco carotenoides: 4 xantofilas (ß-criptoxantina, fucoxantina, luteína/zeaxantina, violaxantina) y 1 caroteno (ß-caroteno), y 4 tocoferoles ( $\alpha$ -tocoferol,  $\delta$ -tocoferol,  $\gamma$ -tocotrienol, y  $\gamma$ -tocoferol) fueron identificados en las muestras de tortilla (Figura 12). Dado que los carotenoides y los tocoferoles comparten funciones similares en la dieta humana (Koch & Goldman, 2005), ambos tipos de compuestos se agruparon en la misma categoría (carotenoides + tocoferoles) para su posterior análisis. El contenido de carotenoides + tocoferoles se vio afectado significativamente (p < 0.05) por la concentración de algas, el tipo de maíz y la interacción de ambos factores. El carotenoide más abundante fue la fucoxantina (408.38 ± 9.55 µg/ g). Este carotenoide también se ha identificado como el más abundante en otras algas pardas, como *Undaria pinnatifida, Cystoseira hakodatensis* y *Sargassum horneri*; ya que este pigmento se ha identificado como el carotenoide dominante en las algas pardas y puede representar más del 10 % del total de carotenoides biogénicos

(Terasaki et al., 2012). El color amarillo y naranja de algunas variedades de maíz se atribuye a la presencia de dos tipos de carotenoides: carotenos y xantofilas. Normalmente, los carotenos más abundantes son  $\alpha$ - y  $\beta$ -, mientras que la  $\beta$ -criptoxantina, la luteína y la zeaxantina son las principales xantofilas que se encuentran en el maíz (Žilić et al., 2012). La luteína y la zeaxantina pueden encontrarse en mayores concentraciones en el maíz que en otros cereales como la avena, el trigo o el arroz (de la Parra et al., 2007). Dependiendo de la variedad de maíz, la concentración de ambos tipos de carotenoides puede variar; por ejemplo, se encontraron 2.42 mg/ kg (b.s.) en maíz naranja, se reportaron concentraciones por debajo de 0.75 mg/kg (b.s.) para genotipos blancos, amarillos y rojos, pero este carotenoide estuvo ausente en maíz con granos amarillo limón, rojo oscuro y azul claro (Žilić et al., 2012).

Los carotenoides son muy sensibles a los cambios en el pH, la luz, el calor y el aire; por lo tanto, pueden degradarse durante el procesamiento del maíz en tortillas (de la Parra et al., 2007). Sin embargo, ha habido resultados contrastantes; algunos autores han reportado que la cocción con cal conduce a una disminución en el contenido de carotenoides, Corrales-Bañuelos et al. (2016) observaron que la cocción con cal (también conocida como nixtamalización) disminuyó la cantidad de carotenoides totales en tortillas de maíz amarillo, y después de la cocción con cal no se detectó  $\beta$ -caroteno, zeaxantina y  $\beta$ -criptoxantina en tortillas de maíz rojo. En cambio, otros investigadores han comprobado que este proceso multiplicaba hasta por 10 las concentraciones de luteína y zeaxantina en la masa, ya que favorecía su liberación (Gutiérrez-Uribe et al., 2014).

El tocoferol más abundante fue el  $\gamma$ -tocoferol (5.86 ± 0.21  $\mu$ g/ g) y estaba presente en BT0. Los tocoferoles pueden encontrarse principalmente en diferentes aceites, como el de nuez, maíz, linaza y soya; mientras que los tocotrienoles pueden estar presentes en el aceite de palma y salvado de arroz, germen de trigo, cebada, avena, avellanas y maíz (Szewczyk et al., 2021).



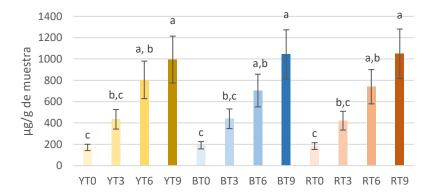
**Figura 12.** Heat map de carotenoides y tocoferoles encontrados en tortillas de maíz con diferentes concentraciones de alga marrón *Macrocystis pyrifera* 

Cuando se comparó el tipo de maíz utilizado, se observaron diferentes tendencias en el contenido de carotenoides y tocoferol. En primer lugar, el maíz azul presentó un mayor contenido de  $\beta$ -criptoxantina y  $\gamma$ -tocoferol; sin embargo, el contenido de  $\delta$ -tocoferol fue el más bajo entre todas las muestras. Del mismo modo, las tortillas de maíz rojo presentaron el mayor contenido de  $\gamma$ -tocotrienol cuando no se añadieron algas. Sin embargo, las tortillas de maíz azul presentaron una mayor concentración de  $\gamma$ -tocotrienol en los tratamientos BT3 - BT9. La fucoxantina fue mayor en las tortillas amarillas, excepto en las tortillas con un 9 % de algas, en las que el tratamiento BT9 presentó la mayor concentración. La luteína/zeaxantina también fue mayor en el maíz amarillo cuando se utilizaron concentraciones más bajas de algas, pero en las tortillas con 6 y 9 % de algas, las tortillas rojas tuvieron concentraciones más altas de este carotenoide. Lo contrario se observó para el  $\alpha$ -tocoferol, que fue mayor en las tortillas rojas con menores concentraciones de algas (0 - 3 %), y mayor en las tortillas amarillas (6 - 9 %). Mientras que no se observó ninguna tendencia para la violaxantina,  $\beta$ -caroteno.

En función de la concentración de algas, los carotenoides y tocoferoles podían agruparse en tres categorías diferentes. El primer grupo estaba formado por la fucoxantina y la violaxantina, ya que ambos carotenoides aumentaban significativamente (p < 0.05) con las concentraciones más elevadas de algas. El segundo grupo, formado por β-criptoxantina, luteína/zeaxantina, δ-tocoferol, γ-tocotrienol y γ-tocoferol, presentó una disminución significativa (p < 0.05) con la adición de M. pyrifera. Por último, el β-caroteno y el α-tocoferol no presentaron una tendencia clara en función de la cantidad de alga utilizada. Las tortillas también se han enriquecido con harinas tropicales no tradicionales ricas en carotenoides como la yuca (Manihot esculenta Crantz), el boniato (Ipomoea batatas (L.) Lam.) y la palma de melocotón (Bactris gasipaes Kunth) (Artavia et al., 2022). Se ha demostrado que las tortillas presentan una mejor estabilidad digestiva del β-caroteno y bioaccesibilidad de las

xantofilas (luteína y zeaxantina) durante la digestión in vitro, en comparación con los granos hervidos y las gachas (Zhang et al., 2020). La microalga *Chlorella sorokiniana* se ha utilizado para enriquecer el contenido de carotenoides del pan sin gluten, lo que ha dado lugar a un aumento de la trans-luteína y el trans-β-caroteno, entre otros carotenoides (Diprat et al., 2020).

Por último, la suma de los carotenoides y tocoferoles identificados (Figura 13) dependió de la concentración de algas. Dado que la fucoxantina fue el compuesto más abundante y su contenido fue significativamente diferente (p < 0.05) al del resto de compuestos, las tortillas con mayor concentración de algas presentaron una concentración de carotenoides significativamente mayor. Sin embargo, no se observaron diferencias entre las muestras de distintos tipos de maíz pero con la misma concentración de algas. A diferencia de este estudio, otros autores han encontrado mayores concentraciones de carotenoides totales en tortillas preparadas con maíz amarillo, en comparación con tortillas de maíz rojo (Corrales-Bañuelos et al., 2016). Estas diferencias se atribuyen principalmente a diferencias en los antecedentes genéticos, ubicación geográfica, propiedades físicas del grano y a la relación relativa de las partes anatómicas del grano, ya que se ha observado que el contenido de carotenoides es mayor en el endospermo (Corrales-Bañuelos et al., 2016). Se ha reportado que la luteína puede representar el 57 % del contenido total de carotenoides en granos de maíz, mientras que el 21 % corresponde a zeaxantina, el 8 % son carotenos y el 5 % es βcriptoxantina (Žilić et al., 2012). En otros estudios, la concentración de luteína fue 79.1 % del total de carotenoides, seguida por β-caroteno (13.1 %), la zeaxantina (5.7 %) y la βcriptoxantina (2.1 %) (Corrales-Bañuelos et al., 2016). En este estudio, en promedio, la fucoxantina representó el 64.89 % del total de carotenoides de las tortillas, mientras que solo el 1.89 % correspondió a la luteína/zeaxantina y el 16.72 % del contenido total de carotenoides provino de la β-criptoxantina.



**Figura 13.** Suma de carotenoides y tocoferoles encontrados en tortillas de maíz con diferentes concentraciones del alga parda *Macrocystis pyrifera*. Los resultados se presentan como media ± DE. Los superíndices con letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05). YT, BT y RT se refieren al tipo de maíz

## Conclusión

Se identificaron los compuestos fenólicos, carotenoides y tocoferoles de tortillas preparadas con diferentes concentraciones del alga *Macrocystis pyrifera* y diferentes tipos de maíz (amarillo, azul y rojo). En ambos casos, se pudo observar que existían diferencias significativas en las concentraciones dependiendo del tipo de maíz y de la concentración de alga que se utilizó. La incorporación de las algas modificó el perfil de los compuestos fenólicos al incorporar floroglucinol, pero en general se observó que mayores concentraciones de algas provocaban una disminución del contenido fenólico, al disminuir la concentración de fenoles del maíz. Por el contrario, mayores concentraciones de *M. pyrifera* provocaron un aumento del contenido en carotenoides de las tortillas, ya que aportó fucoxantina, que fue el carotenoide más abundante. La incorporación de esta alga puede servir para mejorar el contenido en carotenoides de este tipo de productos y potencialmente podría utilizarse en otros productos a base de cereales; sin embargo, es importante tener en cuenta que podría conllevar la disminución de otros compuestos, en este caso de los compuestos fenólicos.

# Agradecimientos

La autora Alexa Pérez-Alva agradece el apoyo financiero para sus estudios de doctorado de la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) de México, así como al Laboratorio de Análisis de Alimentos, Intema S.A. de C.V. por su contribución en el análisis realizado.

## Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

## Referencias

- Acevedo-Martinez, K. A., and Gonzalez de Mejia, E. (2021). Fortification of Maize Tortilla with an Optimized Chickpea Hydrolysate and Its Effect on DPPIV Inhibition Capacity and Physicochemical Characteristics. *Foods*, *10*(8), 1835. https://doi.org/10.3390/foods10081835
- Aguayo-Rojas, J., Mora-Rochín, S., Cuevas-Rodríguez, E. O., Serna-Saldivar, S. O., Gutierrez-Uribe, J. A., Reyes-Moreno, C., and Milán-Carrillo, J. (2012).

  Phytochemicals and Antioxidant Capacity of Tortillas Obtained after Lime-Cooking Extrusion Process of Whole Pigmented Mexican Maize. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(2), 178-185. https://doi.org/10.1007/s11130-012-0288-y
- Alvarez-Poblano, L., Roman-Guerrero, A., Vernon-Carter, E. J., and Alvarez-Ramirez, J. (2020). Exogenous addition of muicle (Justicia spicigera Schechtendal) extract to white maize tortillas affects the antioxidant activity, texture, color, and in vitro starch digestibility. *LWT*, 133, 110120. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110120
- Artavia, G., Arias-Álvarez, C., Cortés-Herrera, C., and Granados-Chinchilla, F. (2022). Physicochemical and sensory assessment of partial corn substitutions with carotenoid-containing non-traditional flours during tortilla preparation. *Cogent Food and Agriculture*, 8(1), 2122273. https://doi.org/10.1080/23311932.2022.2122273

- Avila-Peltroche, J., and Padilla-Vallejos, J. (2020). The seaweed resources of Peru. *Botanica Marina*, *63*(4), 381-394. https://doi.org/10.1515/bot-2020-0026
- Bento-Silva, A., Duarte, N., Mecha, E., Belo, M., Serra, A. T., Vaz Patto, M. C., and Bronze, M. R. (2021). Broa, an Ethnic Maize Bread, as a Source of Phenolic Compounds. *Antioxidants*, 10(5), 672. https://doi.org/10.3390/antiox10050672
- Buitimea-Cantúa, N. E., Torres-Chávez, P. I., Ramírez-Wong, B., Ledesma-Osuna, A. I., Gutiérrez-Uribe, J. A., Serna-Guerrero, D. A., and Serna-Saldívar, S. O. (2018). Ferulic, p-coumaric, diferulic and triferulic acids contents of corn tortillas prepared with extruded corn flour and enriched with sorghum (Sorghum bicolor (L.) Moench) bran. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *12*(3), 1633-1640. https://doi.org/10.1007/s11694-018-9778-4
- Buschmann, A. H., Prescott, S., Potin, P., Faugeron, S., Vásquez, J. A., Camus, C., Infante, J., Hernández-González, M. C., Gutíerrez, A., and Varela, D. A. (2014). The Status of Kelp Exploitation and Marine Agronomy, with Emphasis on Macrocystis pyrifera, in Chile. In N. Bourgougnon (Ed.), *Advances in Botanical Research* (pp. 161-188). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408062-1.00006-8
- Colín-Chávez, C., Virgen-Ortiz, J. J., Serrano-Rubio, L. E., Martínez-Téllez, M. A., and Astier, M. (2020). Comparison of nutritional properties and bioactive compounds between industrial and artisan fresh tortillas from maize landraces. *Current Research in Food Science*, *3*, 189-194. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2020.05.004
- Contreras Jiménez, B., Oseguera Toledo, M. E., Garcia Mier, L., Martínez Bravo, R., González Gutiérrez, C. A., Curiel Ayala, F., and Rodriguez-Garcia, M. E. (2020). Physicochemical study of nixtamalized corn masa and tortillas fortified with "chapulin" (grasshopper, Sphenarium purpurascens) flour. *CyTA Journal of Food*, 18(1), 527-534. https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1794980
- Cornejo-Villegas, M. A., Acosta-Osorio, A. A., Rojas-Molina, I., Gutiérrez-Cortéz, E., Quiroga, M. A., Gaytán, M., Herrera, G., and Rodríguez-García, M. E. (2010). Study of the physicochemical and pasting properties of instant corn flour added with calcium and fibers from nopal powder. *Journal of Food Engineering*, *96*(3), 401-409. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.08.014
- Corrales-Bañuelos, A. B., Cuevas-Rodríguez, E. O., Gutiérrez-Uribe, J. A., Milán-Noris, E. M., Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo, J., and Mora-Rochín, S. (2016). Carotenoid composition and antioxidant activity of tortillas elaborated from pigmented maize landrace by traditional nixtamalization or lime cooking extrusion process. *Journal of Cereal Science*, *69*, 64-70. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.02.009
- de la Parra, C., Saldivar, S. O. S., and Liu, R. H. (2007). Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(10), 4177-4183. https://doi.org/10.1021/jf063487p
- Diprat, A. B., Silveira Thys, R. C., Rodrigues, E., and Rech, R. (2020). Chlorella sorokiniana: A new alternative source of carotenoids and proteins for gluten-free bread. *LWT*, 134, 109974. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109974

- Fradinho, P., Raymundo, A., Sousa, I., Domínguez, H., and Torres, M. D. (2019). Edible Brown Seaweed in Gluten-Free Pasta: Technological and Nutritional Evaluation. *Foods*, *8*(12), 622. https://doi.org/10.3390/foods8120622
- Guo, H., Zhang, W., Ni, C., Cai, Z., Chen, S., and Huang, X. (2020). Heat map visualization for electrocardiogram data analysis. *BMC Cardiovascular Disorders*, 20(1), 277. https://doi.org/10.1186/s12872-020-01560-8
- Gutiérrez-Uribe, J. A., Rojas-García, C., García-Lara, S., and Serna-Saldivar, S. O. (2014). Effects of Lime-Cooking on Carotenoids Present in Masa and Tortillas Produced from Different Types of Maize. *Cereal Chemistry*, *91*(5), 508-512. https://doi.org/10.1094/CCHEM-07-13-0145-R
- Hernández-López, I., Benavente Valdés, J. R., Castellari, M., Aguiló-Aguayo, I., Morillas-España, A., Sánchez-Zurano, A., Acién-Fernández, F. G., and Lafarga, T. (2021). Utilisation of the marine microalgae Nannochloropsis sp. And Tetraselmis sp. As innovative ingredients in the formulation of wheat tortillas. *Algal Research*, *58*, 102361. https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102361
- Koch, T. C., and Goldman, I. L. (2005). Relationship of Carotenoids and Tocopherols in a Sample of Carrot Root-Color Accessions and Carrot Germplasm Carrying Rp and rp Alleles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2), 325-331. https://doi.org/10.1021/jf048272z
- Lamont, T., and McSweeney, M. (2021). Consumer acceptability and chemical composition of whole-wheat breads incorporated with brown seaweed (Ascophyllum nodosum) or red seaweed (Chondrus crispus). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(4), 1507-1514. https://doi.org/10.1002/jsfa.10765
- Leyton, A., Lienqueo, M. E., and Shene, C. (2020). Macrocystis pyrifera: Substrate for the production of bioactive compounds. *Journal of Applied Phycology*, *32*(4), 2335-2341. https://doi.org/10.1007/s10811-019-02018-x
- Leyton, A., Pezoa-Conte, R., Barriga, A., Buschmann, A. H., Mäki-Arvela, P., Mikkola, J.-P., and Lienqueo, M. E. (2016). Identification and efficient extraction method of phlorotannins from the brown seaweed Macrocystis pyrifera using an orthogonal experimental design. *Algal Research*, *16*, 201-208. https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.019
- Lux, P. E., Freiling, M., Stuetz, W., von Tucher, S., Carle, R., Steingass, C. B., and Frank, J. (2020). (Poly)phenols, Carotenoids, and Tocochromanols in Corn ( *Zea mays* L.) Kernels As Affected by Phosphate Fertilization and Sowing Time. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(2), 612-622. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07009
- Méndez, L. I. R., Cárdenas, J. de D. F., Gómez, M. R., and Lagunas, L. L. M. (2013). Nutraceutical Properties of Flour and Tortillas Made with an Ecological Nixtamalization Process. *Journal of Food Science*, *78*(10), C1529-C1534. https://doi.org/10.1111/1750-3841.12241
- Méndez-Lagunas, L. L., Cruz-Gracida, M., Barriada-Bernal, L. G., and Rodríguez-Méndez, L. I. (2020). Profile of phenolic acids, antioxidant activity and total phenolic compounds during blue corn tortilla processing and its bioaccessibility. *Journal of*

- Food Science and Technology, 57(12), 4688-4696. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04505-3
- Mora-Rochin, S., Gutiérrez-Uribe, J. A., Serna-Saldivar, S. O., Sánchez-Peña, P., Reyes-Moreno, C., and Milán-Carrillo, J. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented maize processed by conventional nixtamalization or extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*, *52*(3), 502-508. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.08.010
- Pedreschi, R., and Cisneros-Zevallos, L. (2007). Phenolic profiles of Andean purple corn (Zea mays L.). *Food Chemistry*, 100(3), 956-963. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.004
- Pérez-Alva, A., Baigts-Allende, D. K., Ramírez-Rodrigues, M. A., and Ramírez-Rodrigues, M. M. (2022). Effect of Brown Seaweed (Macrocystis pyrifera) Addition on Nutritional and Quality Characteristics of Yellow, Blue, and Red Maize Tortillas. *Foods*, *11*(17), 2627. https://doi.org/10.3390/foods11172627
- Ramos-Escudero, F., Muñoz, A. M., Alvarado-Ortíz, C., Alvarado, Á., and Yáñez, J. A. (2012). Purple Corn (Zea mays L.) Phenolic Compounds Profile and Its Assessment as an Agent Against Oxidative Stress in Isolated Mouse Organs. *Journal of Medicinal Food*, 15(2), 206-215. https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0342
- Rauf, A., Imran, M., Abu-Izneid, T., Iahtisham-UI-Haq, Patel, S., Pan, X., Naz, S., Sanches Silva, A., Saeed, F., and Rasul Suleria, H. A. (2019). Proanthocyanidins: A comprehensive review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *116*, 108999. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108999
- Salazar, D., Rodas, M., and Arancibia, M. (2020). Production of tortillas from nixtamalized corn flour enriched with Andean crops flours: Faba-bean (Vicia faba) and white-bean (Phaseolus vulgaris). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 731-738. https://doi.org/10.9755/ejfa.2020.v32.i10.2179
- Shannon, E., and Abu-Ghannam, N. (2019). Seaweeds as nutraceuticals for health and nutrition. *Phycologia*, *58*(5), 563-577. https://doi.org/10.1080/00318884.2019.1640533
- Singh, N., Singh, S., and Shevkani, K. (2019). Maize: Composition, Bioactive Constituents, and Unleavened Bread. In V. R. Preedy and R. R. Watson (Eds.), *Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention* (pp. 111-121). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00009-5
- Su, D., Zhang, R., Hou, F., Zhang, M., Guo, J., Huang, F., Deng, Y., and Wei, Z. (2014). Comparison of the free and bound phenolic profiles and cellular antioxidant activities of litchi pulp extracts from different solvents. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *14*, 1-10. https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-9
- Subiria-Cueto, R., Larqué-Saavedra, A., Reyes-Vega, M. L., de la Rosa, L. A., Santana-Contreras, L. E., Gaytán-Martínez, M., Vázquez-Flores, A. A., Rodrigo-García, J., Corral-Avitia, A. Y., Núñez-Gastélum, J. A., and Martínez-Ruiz, N. R. (2019). Brosimum alicastrum Sw. (Ramón): An Alternative to Improve the Nutritional Properties and Functional Potential of the Wheat Flour Tortilla. *Foods*, 8(12), 613. https://doi.org/10.3390/foods8120613

- Szewczyk, K., Chojnacka, A., and Górnicka, M. (2021). Tocopherols and Tocotrienols—Bioactive Dietary Compounds; What Is Certain, What Is Doubt? *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(12),6222. https://doi.org/10.3390/ijms22126222
- Terasaki, M., Narayan, B., Kamogawa, H., Nomura, M., Stephen, N. M., Kawagoe, C., Hosokawa, M., and Miyashita, K. (2012). Carotenoid Profile of Edible Japanese Seaweeds: An Improved HPLC Method for Separation of Major Carotenoids. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 21(5), 468-479. https://doi.org/10.1080/10498850.2011.610025
- Vázquez-Delfín, E. F., Freile-Pelegrin, Y., Pliego Cortés, H., and Robledo, D. (2019). Seaweed resources of Mexico: Current knowledge and future perspectives. Botanica Marina 62(3), 275-289. https://doi.org/10.1515/bot-2018-0070
- Vissers, A. M., Caligiani, A., Sforza, S., Vincken, J.-P., and Gruppen, H. (2017). Phlorotannin Composition of Laminaria digitata. *Phytochemical Analysis*, 28(6), 487-495. https://doi.org/10.1002/pca.2697
- Wang, H., Xu, S., Fan, Y., Liu, N., Zhan, W., Liu, H., Xiao, Y., Li, K., Pan, Q., Li, W., Deng, M., Liu, J., Jin, M., Yang, X., Li, J., Li, Q., and Yan, J. (2018). Beyond pathways: Genetic dissection of tocopherol content in maize kernels by combining linkage and association analyses. *Plant Biotechnology Journal*, *16*(8), 1464-1475. https://doi.org/10.1111/pbi.12889
- Zhang, R., Huang, L., Deng, Y., Chi, J., Zhang, Y., Wei, Z., and Zhang, M. (2017). Phenolic content and antioxidant activity of eight representative sweet corn varieties grown in South China. *International Journal of Food Properties*, *20*(12), 3043-3055. https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1270964
- Zhang, S., Ji, J., Zhang, S., Guan, C., and Wang, G. (2020). Effects of three cooking methods on content changes and absorption efficiencies of carotenoids in maize. *Food and Function*, *11*(1), 944-954. https://doi.org/10.1039/C9FO02622C
- Žilić, S., Serpen, A., Akıllıoğlu, G., Gökmen, V., and Vančetović, J. (2012). Phenolic Compounds, Carotenoids, Anthocyanins, and Antioxidant Capacity of Colored Maize (Zea mays L.) Kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(5), 1224-1231. https://doi.org/10.1021/jf204367z

# Capítulo 4. Caracterización fisicoquímica de pastas funcionales// Physicochemical characterization of functional pastas

Alexa Pérez-Alva<sup>a</sup>, Melissa A. Ramírez-Rodrigues<sup>b</sup>, Ocelotl Hernandez Camargo<sup>a</sup>, Milena M. Ramírez-Rodrigues<sup>c\*</sup>

- <sup>a</sup> Department of Chemical, Food and Environmental Engineering, Universidad de las Américas Puebla, Ex Hacienda Sta. Catarina Mártir. 72810. Cholula, Puebla, México
- <sup>b</sup> Food Analysis Laboratory, Intema S.A. de C.V., 31 Sur 2901, Col. Santa Cruz Los Ángeles, Puebla, Puebla, 72400, México
- <sup>c</sup>Tecnologico de Monterrey, Department of Bioengineering, School of Engineering and Science, Vía Atlixcáyotl 5718, Reserva Territorial Atlixcáyotl, 72453, Puebla, Puebla, Mexico.

#### Resumen

El objetivo de esta investigación fue estudiar el efecto de la incorporación de distintos ingredientes, como subproductos de flor de jamaica (Hibiscus sabdariffa), subproductos de café (pulpa), proteína en polvo de cáñamo (Cannabis sativa L.), polvo de amaranto (Amaranthus cruentus), Arthrospira plantesis y Macrocystis pyrifera a una pasta tipo fettuccine. Se evaluó la composición química, las propiedades físicas y los atributos sensoriales. Se determinó que el diámetro medio del tamaño de las partículas (D50) de las harinas de trigo, A. platensis, M. pyrifera, cáñamo, amaranto, pulpa de café y H. sabdariffa era de 64,7, 149, 155,6, 207,7, 218,3, 353,7 y 369,5 µm, respectivamente. El factor de distribución (FD) mostró que las harinas de H. sabdariffa y de pulpa de café presentaban una distribución estrecha, mientras que las muestras restantes presentaban una distribución ancha. Las propiedades de cocción de la pasta se vieron significativamente afectadas por los ingredientes funcionales. El tiempo de cocción óptimo (OCT) fue significativamente mayor en las pastas con cáñamo y A. platensis (muestras con mayor contenido proteico), mientras que la pasta con pulpa de café deshidratada presentó el mayor porcentaje de pérdida durante la cocción. El índice de hinchamiento y el índice de absorción de aqua fueron mayores en la pasta con H. sabdariffa. La incorporación de cáñamo y A. platensis aumentó significativamente el perfil de aminoácidos de la pasta. Estos resultados proporcionan información sobre el efecto del tamaño de las partículas de ingredientes funcionales en las propiedades de cocción de la pasta y podrían contribuir al desarrollo de pasta con propiedades funcionales mejoradas.

**Palabras clave:** Pasta funcional, subproductos de *H. sabdariffa*, subproductos del café (pulpa), proteína de *Cannabis sativa* L., amaranto, *Arthrospira plantesis* y *Macrocystis pyrifera*.

## Introducción

La pasta, un alimento básico de la cocina italiana, se prepara mezclando harina de trigo, aqua y/o huevos, con el fin de obtener una masa, que luego se corta en láminas u otras formas mediante un proceso de laminado o extrusión, seguido de un secado opcional y, por último, un envasado (Wahanik et al., 2018). Es uno de los alimentos más consumidos y versátiles en todo el mundo; y en 2019, su producción alcanzó los 16 millones de toneladas y experimentó un aumento durante el periodo pandémico. Algunas de las razones que hacen que la pasta sea tan versátil son su rentabilidad, facilidad de preparación, larga vida útil, bajo índice glucémico y alto contenido en carbohidratos, así como su bajo contenido en sodio y grasa (Chetrariu & Dabija, 2021; Namir et al., 2022). Además de ser una buena fuente de carbohidratos, también contiene varias vitaminas y minerales como tiamina, riboflavina, niacina y hierro, y también está libre de colesterol; sin embargo, no se puede considerar un alimento equilibrado debido a su deficiencia en proteínas, en particular en el aminoácido lisina, así como su falta de fibra dietética y otros nutrientes esenciales (Namrata et al., 2021). Por lo tanto, la pasta puede modificarse añadiendo diferentes ingredientes para aumentar el contenido de componentes bioactivos (fibra, antioxidantes y proteínas) (Carpentieri et al., 2022).

Varios estudios han explorado la posibilidad de mejorar las propiedades nutricionales de la pasta mediante la incorporación de diversos ingredientes, como subproductos alimentarios, tales como cáscaras (Carpentieri et al., 2022; Namir et al., 2022), hojas (Namrata et al., 2021; Wahanik et al., 2018), diferentes granos (Gull et al., 2018; Namrata et al., 2021; Wahanik et al., 2018), subproductos del tomate (Padalino et al., 2017) y polvos y harinas de diferentes frutas, verduras y semillas (Wahanik et al., 2018). El objetivo de esta investigación fue estudiar el efecto de la incorporación de diferentes ingredientes como subproductos de flor de jamaica (Hibiscus sabdariffa), subproductos de café (pulpa), proteína en polvo de cáñamo (Cannabis sativa L.), harina de amaranto (Amaranthus cruentus), Arthorspira plantesis y Macrocystis pyrifera a una pasta tipo fettuccine sobre la composición química, las propiedades físicas y los atributos sensoriales.

## Materiales y métodos

1. Materiales de ensayo, estándares y reactivos

Se preparó pasta con diferentes combinaciones de harina de trigo (tipo 00), y subproductos de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), subproductos de café (*Coffea arabica* L.) (pulpa seca), proteína en polvo de cáñamo (*Cannabis sativa* L.), amaranto (*Amaranthus cruentus*), *Arthrospira plantesis*, y *Macrocystis pyrifera*. La harina de trigo (tipo 00), la proteína de cáñamo en polvo y la harina de amaranto se adquirieron en un supermercado local de Puebla, PUE., MEX. Las flores secas de *H. sabdariffa* se compraron a productores locales de Chiautla, PUE., MEX, mientras que *A. platensis* se adquirió de "Galtec Algae Technologies" (Guadalupe, NL, MEX), el alga *M. pyrifera* fue de ALGAS PACÍFICO (Ensenada, BC, MEX), y la pulpa seca de café fue de productores locales de Zacatlán, PUE, MEX. El subproducto de *H. sabdariffa* se obtuvo después de la decocción, secado y molienda según lo descrito por Baigts-Allende et al. (2023), la pulpa seca de café fue molida, mientras que, el alga fue lavada y secada a 60° C durante 4 h en un deshidratador EXC10EL

Excalibur (The Legacy Co., Weston, FL, USA), luego molida y tamizada con una malla de 270 µm. Los reactivos utilizados para la caracterización química, y para el análisis cromatográfico fueron comprados a Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA), los reactivos utilizados para el análisis del contenido mineral fueron comprados a Millipore Sigma (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

### 2. Formulación de la pasta

En la Tabla 1 se enumeran los ingredientes utilizados para cada pasta y sus proporciones. La pasta control (P0) se preparó utilizando únicamente harina de trigo, huevos y agua; mientras que en las pastas restantes (P1-P6) se sustituyeron 20 g de harina por uno de los ingredientes alternativos. Todas las masas se prepararon de forma similar; primero se colocó la harina en una mesa previamente lavada y desinfectada, a continuación se incorporaron los huevos y se añadió el agua necesaria durante el proceso de amasado. Tras amasar manualmente las masas durante aproximadamente 10 minutos, se envolvieron en plástico y se dejaron reposar durante 30 minutos en el frigorífico. Tras el tiempo de reposo, la masa se introdujo en una máquina de pasta (Metaltex Co., Genestrerio, Suiza) utilizando el ajuste de grosor número 7 (0,5 mm) y se cortó en forma de fettuccine. Por último, se recogió y se dejó secar.

Tabla 12. Ingredientes funcionales y proporciones utilizadas para las pastas

		Harina de trigo 00	Ingrediente funcional	Huevo	Agua
Ingrediente funcional	Código de pasta	(g)	(mL)		
Control (harina de trigo, <i>Triticum</i> aestivum)	P0	200	0	103	20
Pulpa de café seca (Coffea arabica L.)	P1	180	20	109	28
Subproducto de jamaica ( <i>Hibiscus</i> <i>sabdariffa</i> )	P2	180	20	100	35
Macroalga (Macrocystis pyrifera)	P3	180	20	101	38
Amaranto (Amaranthus cruentus)	P4	180	20	95	25
Proteína de Hemp (Cannabis sativa ssp. Sativa)	P5	180	20	99	24
Microalga ( <i>Arthrospira</i> <i>platensis</i> )	P6	180	20	101	38

## 3. Tamaño de partícula

El tamaño de partícula de los polvos/harinas se midió con un Microtrac SDC (Verder Scientific GmbH & Co. KG, Haan, Alemania). Para el análisis se utilizaron aproximadamente 5 g por muestra. Los resultados se expresaron como el diámetro mediano D50, que se describe como el valor del diámetro de partícula al 50% en la distribución acumulativa, y

como el Factor de Distribución (FD), que muestra la distribución de partículas alrededor del tamaño de partícula mediano (Joubert et al., 2018), y se determina de la siguiente manera:

$$FD = \frac{D90 - D10}{D50}$$

## 4. Composición química

La composición química de las pastas crudas se determinó siguiendo los métodos oficiales de la AOAC para humedad (925.09), proteínas (954.01), fibra dietética total (962.09), lípidos (920.39) y cenizas (923.03) (AOAC, 1997). Los hidratos de carbono se calcularon por diferencia. El factor de conversión de proteínas utilizado para determinar el contenido de proteínas fue 6.25.

### 5. Aminoácidos

El análisis de aminoácidos se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), siguiendo la metodología descrita por Baigts-Allende et al. (2023), que consistió en una hidrolización de las muestras seguida de una filtración con un filtro de jeringa de nylon de 0.45 μm (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE.UU.). Los análisis se realizaron utilizando un cromatógrafo Agilent 1290 Infinity II (HPLC Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EE.UU.) acoplado a un detector de matriz de diodos (DAD) con una columna ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6x150 mm, 3.5 μm) (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EE.UU.). Las fases móviles fueron: A) buffer 10 mM de fosfato disódico (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>):10 mM de tetraborato sódico decahidratado (Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>) (pH 8,4), y B) una solución de acetonitrilo:metanol:agua (45:45:10), con un tiempo de ejecución total de 25 min y un gradiente lineal de 0 min, 98 % A, y 2 % B; 20 min, 43 % A, y 57 % B; 20.1 – 23.5 min 100 % B; 23.6 - 25 min 98 % A y 2 % B. La columna se mantuvo a 40 °C con un caudal de 1.5 mL/min; y un volumen de inyección de 1 μL. Los aminoácidos primarios se derivatizaron utilizando o-ftalaldehído (OPA) y la derivatización de los aminoácidos secundarios se realizó utilizando cloroformato de 9-fuorenilmetilo (FMOC).

## 6. Propiedades de cocción

Las propiedades de cocción de la pasta se determinaron midiendo el tiempo de cocción óptimo (OCT), la pérdida de cocción (CL), el índice de absorción de agua (WAI) y el índice de hinchamiento (SI). El OCT se determinó siguiendo el método descrito por El-Sohaimy et al. (2020) y Zen et al. (2020); el cual consiste en hervir 10 g de pasta en 140 mL de agua hirviendo y registrar el tiempo en que desaparece el núcleo blanco de la pasta. Esto se evalúa cada 30 s aplastando la pasta entre dos portaobjetos de vidrio transparente. La pérdida por cocción (CL), que es la cantidad de sustancia sólida perdida en el agua de cocción, se midió siguiendo el método descrito por El-Sohaimy et al. (2020) y Zen et al. (2020). Después de hervir 10 g de pasta en 300 mL de agua hirviendo en el OCT, la pasta se enjuagó con 100 mL de agua fría y se escurrió durante 30 s. A continuación, el vaso de precipitados que contenía el agua recolectada se introdujo en una estufa de aire a 105 °C hasta alcanzar un peso constante. Los resultados se expresaron como porcentaje de los

materiales perdidos. El índice de absorción de agua (WAI) se midió siguiendo el método descrito por Zen et al. (2020) y Padalino et al. (2017), y se determinó como:

WAI = 
$$\frac{\text{pasta hervida (g) - pasta seca (g)}}{\text{pasta seca (g)}}$$

Por último, el índice de hinchamiento (SI) se midió siguiendo el método descrito por Zen et al. (2020) y Padalino et al. (2017), y se calculó como:

$$SI = \frac{\text{pasta hervida (g)} - \text{pasta hervida después de secada a 105 °C (g)}}{\text{pasta hervida después de secada a 105 °C (g)}}$$

#### 7. Color

El color de los polvos, la masa, la pasta seca y la pasta cocida se expresó en coordenadas del sistema CIELab (L\*, a\* y b\*) y se midió con un colorímetro Konica Minolta modelo CR-400 (Konica Minolta Holdings, Inc., Tokio, Japón). Mientras que el croma (C), el tono (H) y la diferencia ( $\Delta$ E\*) entre la muestra de control y las muestras con ingredientes funcionales se calcularon utilizando las ecuaciones descritas por Pathare et al. (2013) y por Wrolstad & Smith (2017):

$$C = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

$$H = \tan^{-1} \left(\frac{a^*}{b^*}\right)$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})}$$

## 8. Actividad del agua

La actividad del agua ( $a_w$ ) de las muestras secas se midió utilizando un equipo Aqualab 4TE (METER Group, Inc, WA, USA) a 25 °C.

#### Evaluación sensorial

La evaluación sensorial de las pastas cocidas se realizó siguiendo el método descrito por Sethi et al. (2020), en el que 50 panelistas no entrenados evaluaron el color, la apariencia, el aroma, la textura, el sabor y la aceptabilidad general utilizando una escala hedónica de nueve puntos en la que 9 expresa extrema semejanza mientras que 1 indica extrema aversión. Cada panelista probó tres muestras diferentes más la muestra de control (P0).

#### 10. Análisis estadístico

Cada análisis se midió por triplicado y los resultados se expresaron como media ± DE. Los análisis estadísticos se realizaron con el software estadístico Minitab 21 (Minitab, LLC, State College, PA, EE.UU.) y consistieron en un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía y

una prueba de Tukey. Además, los resultados se presentaron en un mapa de calor, que es una representación gráfica de los datos en la que se utilizan colores para mostrar la magnitud de un determinado valor (Guo et al., 2020). Todas las pruebas se realizaron utilizando  $\alpha$  = 0.05. Los resultados mostraron un CV inferior al 5 %.

# Resultados y discusión

### 1. Propiedades fisicoquímicas

El diámetro medio del tamaño de las partículas (D50) de los polvos/harinas fue de 64.7, 149, 155.6, 207.7, 218.3, 353.7 y 369.5  $\mu$ m para la harina de trigo, *A. platensis*, *M. pyrifera*, cáñamo, amaranto, pulpa de café y *H. sabdariffa*, respectivamente. Los resultados mostraron que la harina de trigo presentaba el tamaño de partícula más pequeño (132.3  $\mu$ m), mientras que la pulpa de café y la *H. sabdariffa* presentaban el tamaño de partícula más alto (525.1 y 528.3  $\mu$ m, respectivamente), como se muestra en la Figura 14. El FD mostró que sólo los polvos de *H. sabdariffa* (0.55) y pulpa de café (0.66) presentaban una distribución estrecha, mientras que las muestras restantes presentaban una distribución ancha, con un FD que oscilaba entre 1.19 y 1.66. Todas las muestras presentaron una distribución unimodal, excepto la harina de trigo y el amaranto en polvo, que presentaron una distribución bimodal. La moda 1 de la harina de trigo fue de 18.82  $\mu$ m, y la moda 2 de 81.01  $\mu$ m; mientras que la moda 1 del polvo de amaranto fue de 40.44  $\mu$ m, y la moda 2 de 332.2  $\mu$ m.

Otros autores han reportado que la modificación del tamaño de las partículas de salvado puede alterar la estructura y la superficie de las partículas, alterando así sus propiedades funcionales. Por ejemplo, un tamaño de partícula más pequeño dio lugar a una mayor capacidad de retención de agua y de hinchamiento, lo que puede mejorar las propiedades de retención de humedad de la fibra utilizada como agente de "bulking" (Wang et al., 2012). Además, se ha observado que el tamaño de partícula de la sémola puede afectar no solo a la textura, sino también el color de la pasta (Joubert et al., 2018), ya que las pastas preparadas con harinas de tamaño de partícula mixto pueden formar motas blancas debido a que las partículas grandes no se hidratan correctamente (Jalgaonkar & Jha, 2016).

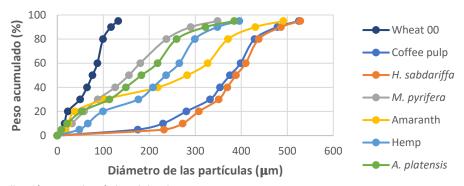


Figura 14. Distribución granulométrica del polvo

Las propiedades de cocción de la pasta pueden modificarse en función del tamaño de partícula (Jalgaonkar & Jha, 2016). En este estudio, las propiedades de cocción (Tabla 13) se vieron significativamente afectadas por los ingredientes funcionales. En general, la muestra control (P0) presentó los valores más bajos para todos los parámetros analizados; mientras que P1 presentó el mayor porcentaje de pérdida de cocción (CL), P2 el mayor índice de hinchamiento (SI), e índice de absorción de agua (WAI); y P5 y P6 presentaron el mayor tiempo óptimo de cocción, con 449 s. En otros estudios el OCT de las muestras control ha sido de 6.30 min, que disminuyó con la incorporación de harina de garbanzo. Los autores atribuyen la disminución del OCT a la mayor velocidad de penetración del agua (El-Sohaimy et al., 2020); mientras que otros autores han atribuido la disminución del OCT a una disminución del gluten cuando se incorporan harinas de otros vegetales a la pasta (Padalino et al., 2017). Mientras que la incorporación de Laminaria ochroleuca en pastas sin gluten no modificó el OCT (Fradinho et al., 2019), en este estudio las muestras con mayor contenido proteico presentaron el mayor OCT (P5, y P6). Otros autores también han reportado que las pastas con mayores concentraciones de aislado proteico de quinoa condujeron a una mayor OCT, ya que la proteína dificulta la hidratación y la capacidad de hinchamiento de los gránulos de almidón al rodearlos (Gupta et al., 2021). El OCT también puede estar relacionada con la variedad de trigo utilizada en el proceso de preparación de la pasta (Zen et al., 2020).

El-Sohaimy et al. (2020) mencionan que el CL no debe superar el 9 %, mientras que otros autores consideran que pastas con hasta un 12 % de CL siguen teniendo una pasta de buena calidad (Zen et al., 2020), en este estudio las muestras presentaron un CL entre 10.6 y 14.7 %, lo que indica que algunas muestras (P1, P4 y P5) pueden presentar una interacción almidón-proteína más débil que se interrumpió durante la cocción (Gopalakrishnan et al., 2011). Otros autores también han informado de un aumento de la pérdida por cocción con un aumento de la fibra, ya que esta puede alterar la matriz proteínaalmidón y provocar una distribución desigual del agua debido a sus propiedades de hidratación (Padalino et al., 2017). Asimismo, una mayor CL podría estar relacionada con una mayor concentración de almidón soluble y otros componentes solubles, como los polisacáridos no amiláceos, que se lixiviaron en el agua (Zen et al., 2020). El SI es un indicador de la cantidad de agua que es absorbida por el almidón y la proteína durante el proceso de cocción, y que será utilizada para la gelatinización del primero y la hidratación de la segunda (Gopalakrishnan et al., 2011). Un mayor SI se ha relacionado con un mayor contenido en proteínas y con un menor tamaño de las partículas (El-Sohaimy et al., 2020). Mientras que se ha informado de un SI de hasta 3 para la pasta preparada con harinas de trigo sarraceno, amaranto y frijol lupino, la incorporación de boniato (1.40 – 1.75) condujo a un SI similar al observado en este estudio (1.16 – 1.78) (Gopalakrishnan et al., 2011). Padalino et al. (2017) reportaron que la incorporación de hidrocoloides promovió un aumento en el SI ya que estos compuestos pueden absorber y retener mayores concentraciones de agua formando una red almidón-proteína-polisacárido. Y aunque la incorporación de A. platensis microencapsulada a la pasta no produjo diferencias significativas en el SI, disminuyó la absorción de agua (Zen et al., 2020). El índice de absorción de agua (WAI) se refiere a la capacidad de la pasta para retener agua incluso cuando está sometida a la gravedad, y esta característica está determinada en gran medida por el contenido de almidón, fibra y proteínas, así como por la resistencia de su red proteica (Gupta et al., 2021). En este estudio, el WAI del control fue inferior al de las demás muestras. Por último, la  $a_w$  de todas las muestras (P1 - P6) fue significativamente inferior (p < 0.05) al del control (P0). Los valores obtenidos también fueron inferiores a los que otros autores han comunicado para la pasta fresca (~ 0.90) (de Camargo Andrade-Molina et al., 2013; Zen et al., 2020).

En la Figura 15 se muestra el color de los polvos y las pastas, mientras que en la Tabla 13 se enumeran las coordenadas L\*, a\* y b\*, así como el tono y el croma de los polvos utilizados; y  $\Delta$ E para las muestras de masa, pasta seca y pasta cocida. Todas las muestras (polvos y pastas) presentaron diferencias significativas (p < 0.05) en todos los valores analizados.



Figura 15. Color de polvos y pastas

La harina de trigo presentó el valor significativamente más alto (p < 0.05) de L\*, lo que indica que la muestra presentó un color más claro, mientras que el polvo de pulpa de café y el polvo de espirulina presentaron los valores más bajos, lo que indica que estos fueron los polvos más oscuros. Como se puede observar en la Figura 15, ambos polvos obtenidos a partir de algas presentan un color verde, lo que se puede relacionar con los valores negativos obtenidos para a\*, al contrario del polvo de H. sabdariffa que presenta un color rojo y el a\* más alto de los polvos analizados. Los polvos obtenidos de H. sabdariffa, proteína de cáñamo y espirulina presentaron tonalidades azules, ya que son las muestras con los valores más bajos de b\*, mientras que los polvos de M. pyrifera y amaranto presentaron los valores más altos de b\*, indicando que estas muestras tenían tonalidades amarillentas.

Al comparar las masas y las pastas secas y cocidas se observa que, en general, las pastas secas eran más claras (valores L\* más altos) que las masas y las pastas cocidas. P6 presentó los colores más oscuros, y P4 presentó los valores L\* más altos. La pasta

preparada con H. sabdariffa presentó una coloración marrón-rojiza (valores a\* más altos), similar a la observada en el polvo de H. sabdariffa. La masa y las pastas (secas y cocidas) preparadas con polvo de amaranto (P4) presentaron los valores significativamente más altos (p < 0.05) de b\*, mostrando una coloración amarillenta; mientras que P6 presentó los valores significativamente más bajos (p < 0.05), indicando que la masa y las pastas eran azuladas. La incorporación de espirulina causó que las muestras presentaran la mayor (p < 0.05) diferencia de color ( $\Delta$ E) en comparación con el control. Hubo una disminución en la intensidad del color (Croma) cuando se compararon las masas y las pastas secas, sin embargo después de la cocción, el croma de algunas muestras aumentó (P0, y P4), lo cual es opuesto a lo observado por Padalino et al. (2017), quienes reportaron una reducción en la intensidad del color y lo atribuyeron al hinchamiento de la pasta y a la conversión de pigmentos resultando en un aumento de la amarillez. Otros autores han informado de que algunos pigmentos pueden lixiviarse durante el proceso de cocción, dando lugar a una diferencia significativa en el color antes y después de la cocción (Fradinho et al., 2019).

**Tabla 13.** Propiedades fisicoquímicas de polvos, masas y pastas preparados con diferentes ingredientes funcionales

		P0	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Color de los polvos	L*	91.7	49.5	51.2	61.4	84.2	53.3	49.8
	a*	0.500	5.14	11.2	-1.44	2.19	0.757	-3.80
	b*	8.54	6.78	3.72	12.0	11.68	2.19	-1.32
de lo	Tono	86.7	52.8	18.4	96.8	79.4	71.0	199
Color	Croma	8.56	8.51	11.8	12.1	11.9	2.32	4.03
	L*	43.2	40.7	45.8	45.9	63.4	53.4	25.2
sas	a*	-1.52	7.14	10.38	-1.40	6.7	1.46	3.52
s ma	b*	27.0	12.9	11.5	18.89	35.4	22.7	-1.37
Color de las masas	Tono	93.2	61.0	47.9	94.3	79.3	86.3	339
	Croma	27.1	14.7	15.5	18.9	36.1	22.8	3.8
	ΔE		16.7	19.7	8.6	23.4	11.5	34.0
	L*	85.5	74.6	74.7	68.8	83.9	77.1	58.5
Color de las pastas secas	a*	1.31	2.66	4.98	0.123	1.60	0.363	-4.53
	b*	13.7	10.1	9.12	14.5	14.9	12.3	-0.24
	Tono	84.5	75.3	61.4	89.5	83.9	88.3	183
	Croma	13.8	10.5	10.4	14.5	14.9	12.3	4.53

	ΔE		11.6	12.3	16.8	1.91	8.49	30.9
as	L*	56.3	38.3	42.7	39.2	57.3	46.3	29.2
ocid	a*	1.01	2.44	2.62	-0.327	0.563	0.153	-2.11
itas c	b*	15.6	5.9	7.36	9.51	16.6	9.6	2.5
s pas	Tono	86.3	67.5	70.4	92.0	88.1	89.1	130
de la	Croma	15.6	6.38	7.81	9.52	16.6	9.60	3.27
Color de las pastas cocidas	ΔE		20.5	16.0	18.3	1.5	11.7	30.2
•	Tiempo de cocción óptimo (OCT) (s)	301	301	391	391	359	449	449
Propiedades de cocción	Pérdida de cocción (CL) (%)	10.6	14.7	10.9	11.1	13.7	12.2	11.1
	índice de hinchamiento (SI)	1.16	1.24	1.78	1.28	1.62	1.28	1.35
Prop	Índice de absorción de agua (WAI)	0.779	0.909	1.34	0.894	1.16	0.982	0.972
Otros	Actividad de agua (aw)	0.697	0.615	0.505	0.634	0.514	0.526	0.646

# 2. Composición química

La incorporación de los distintos ingredientes funcionales provocó cambios significativos en la composición química de la pasta, que pueden observarse en la Tabla 14. A excepción de la humedad y los carbohidratos, P0 presentó los valores más bajos (p < 0.05) para todos los macronutrientes. Se ha reportado que un contenido de humedad superior al 12 % puede favorecer el crecimiento de moho (Biernacka et al., 2021). En este estudio, P0, y P3 presentaron un contenido de humedad superior a este valor (12.2, y 12.9 %, respectivamente), lo que podría indicar que estas muestras tendrían una menor vida útil. La mayor concentración de cenizas (p < 0.05) se encontró en P5, que también presentó la mayor concentración de proteína y grasa. En otro estudio, la pasta suplementada con diferentes concentraciones de harina de semillas de cáñamo también presentó un aumento de estos tres macronutrientes, ya que el cáñamo presenta más grasa, proteína y cenizas en comparación con la harina de trigo. Sin embargo, estos autores reportaron valores más bajos de contenido de cenizas, proteína y grasa (0.76, 12.13 y 1.67 %, respectivamente) para pastas con 10 % de harina de semillas de cáñamo (Axentii et al., 2023) que lo observado en el presente estudio. En otros estudios, la incorporación de cáscaras vegetales provocó una disminución del contenido proteico y un aumento de la fibra dietética soluble e insoluble (Padalino et al., 2017). La espirulina es conocida por su alta concentración de proteínas (46 - 33 %) (Zen et al., 2020), lo que podría explicar por qué P6 no presentó diferencias significativas con P5 en términos de contenido proteico. La pasta con una mezcla de harina de sésamo sin aceite, harina de amaranto y almidón de sorgo modificado tenía un contenido proteico de 26.9 g/ 100 g, atribuido a la presencia de sésamo sin aceite, un ingrediente alimentario rico en proteínas (Fasuan et al., 2021).

A pesar de que la pasta se consume ampliamente, carece de proteínas y de la gama completa de aminoácidos (Bianchi et al., 2021). En este estudio, la adición de proteína de

cáñamo (P5) produjo un aumento significativo (p < 0.05) en el contenido de aminoácidos, seguida de P6. Sin embargo, las muestras restantes (P1 - P4) presentaron un contenido significativamente menor (p < 0.05) que P0. La quinoa fermentada con ácido láctico se utilizó para aumentar el perfil de aminoácidos de la pasta. Los aminoácidos con mayor incremento fueron Ser, Pro, Arg, Glu y Leu; sin embargo reportaron concentraciones entre 60 - 75 mg/ 100 g (Lorusso et al., 2017), que son menores a las reportadas en este estudio. Mientras que la suplementación con 20 % de polvo de salmón condujo a un aumento significativo de Ile, y Lys, entre otros, pero la concentración de Phe, y Leu disminuyó, en comparación con el control (Desai et al., 2018). En este estudio se observó la misma tendencia para Lys, y Pro.

Tabla 14. Composición química de pasta con distintos ingredientes funcionales

		P0	P1	P2	P3	P4	P5	P6
	Humedad	12.2	11.1	9.75	12.9	9.95	10.3	11.45
	Cenizas	1.12	1.49	1.52	1.44	1.13	1.57	1.45
juiju	Proteína	9.00	15.7	12.1	15.0	15.8	18.1	18.2
ción c (%)	Grasa	4.12	4.57	4.48	4.68	4.65	6.99	4.22
Composición química (%)	Carbohidratos	73.6	67.2	72.2	66.1	68.5	63.0	64.7
Сош	Fibra dietética total	3.64	7.93	7.15	12.5	1.75	1.86	6.00
	Azúcares	2.16	1.97	4.10	3.56	3.47	2.48	2.46
	Ácido aspártico (Asp)	1,535	1,348	1,284	1,359	1,515	1,674	1,955
	Ácido glutámico (Glu)	4,521	3,982	4,228	3,364	3,476	4,928	4,953
	Serina (Ser)	926	804	746	450	688	969	1,021
	Glutamina (Gln)	73.5	222	197	215	223	333	176
	Histidina (His)	1080	905	757	722	1359	1233	746
Amino ácidos (mg/100 g)	Glicina (Gly)	394	298	244	238	253	408	324
	Arginina (Arg)	1,328	1,106	980	720	744	1,302	1,629
	Alanina (Ala)	212	206	197	179	147	348	219
cidos	Tirosina (Tyr)	98.2	88.4	84.8	69.6	88.8	133	81.6
ino á	Valina (Val)	172	144	135	98.4	117	186	143
Am	Metionina (Met)	129	99.8	94.9	90.8	92.1	144	90.0
	Fenilalanina (Phe)	311	252	207	177	199	341	202
	Isoleucina (IIe)	117	96.8	71.8	52.2	60.7	118	91.9
	Leucina (Leu)	405	339	327	254	311	443	330
	Lisina (Lys)	112	39.8	70.9	28.2	34.7	97.7	53.8
	Prolina (Pro)	1997	505	507	397	536	732	682

#### 3. Evaluación sensorial

Los resultados obtenidos de la evaluación sensorial pueden observarse en la Figura 16. Se puede observar que P0 fue la pasta con las puntuaciones más altas. Se ha señalado que un mayor contenido en proteínas puede estar relacionado con una mayor aceptabilidad por parte de los panelistas, ya que también está relacionado con mejores parámetros de cocción y textura (El-Sohaimy et al., 2020). En general, las pastas con harina de garbanzo presentaron valores similares a la muestra control (El-Sohaimy et al., 2020), a diferencia de este estudio donde las pastas con H. sabdariffa (P2) y M. pyrifera (P3) presentaron las puntuaciones más bajas en casi todos los parámetros analizados; y sólo la pasta preparada con amaranto (P4) presentó resultados similares a la muestra control (P0). Esto también se observó cuando se analizó \( \Delta \text{E} \) en el apartado anterior, donde P4 presentó la menor diferencia de color con P0. Otros autores también han observado puntuaciones más bajas en pastas suplementadas con cáscara de tomate, observaron que el color y la resistencia a la rotura eran los parámetros más críticos (Padalino et al., 2017), sin embargo en este estudio el sabor fue el parámetro que obtuvo las puntuaciones más bajas. La incorporación de harina de semillas de cáñamo también condujo a puntuaciones más bajas para todas las características sensoriales que se analizaron (Axentii et al., 2023), mientras que la pasta preparada con espirulina libre y microencapsulada no presentó diferencias significativas en comparación con el control (Zen et al., 2020). Los resultados opuestos llevan a conclusiones opuestas, mientras que Axentii et al. (2023) concluyeron que los panelistas tienen una mayor preferencia por los tipos convencionales de pasta, sin ningún otro tipo de suplementación, Zen et al. (2020) descubrieron que los consumidores buscan productos alimenticios atractivos e innovadores, lo que hace que la pasta suplementada con espirulina sea un alimento funcional ampliamente apreciado y consumido.

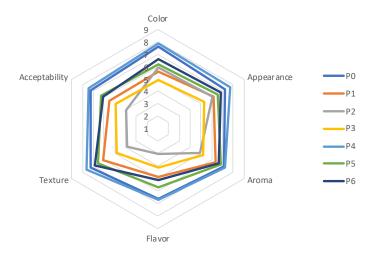


Figura 16. Evaluación sensorial de pastas con distintos ingredientes funcionales

#### **Conclusiones**

En conclusión, el tamaño de las partículas de los ingredientes funcionales utilizados en este estudio varió ampliamente, presentando la harina de trigo el tamaño de partícula más pequeño y la pulpa de café y la *H. sabdariffa* el más grande. Los resultados de FD mostraron

que sólo la *H. sabdariffa* y la pulpa de café tenían una distribución estrecha, mientras que las muestras restantes presentaban una distribución amplia. Curiosamente, la harina de trigo y el polvo de amaranto presentaron una distribución bimodal, mientras que las muestras restantes tuvieron una distribución unimodal. Las propiedades de cocción de las pastas, incluidas la pérdida de cocción, el índice de hinchamiento y el índice de absorción de agua, también se vieron afectadas significativamente por el tamaño de las partículas y el contenido proteínico de los ingredientes funcionales. Las muestras con mayor contenido proteico presentaron el mayor tiempo óptimo de cocción, mientras que la mayor pérdida de cocción podría estar relacionada con una interacción almidón-proteína más débil que se interrumpió durante la cocción. En general, los resultados de este estudio proporcionan información importante sobre el potencial de la modificación del tamaño de las partículas para optimizar las propiedades funcionales y de cocción de los alimentos, lo que podría tener implicaciones significativas para la industria alimentaria.

#### Referencias

- AOAC. (1997). Official Methods of Analysis (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists.
- Axentii, M., Stroe, S.-G., & Codină, G. G. (2023). Development and Quality Evaluation of Rigatoni Pasta Enriched with Hemp Seed Meal. *Foods*, *12*(9), Article 9. https://doi.org/10.3390/foods12091774
- Baigts-Allende, D. K., Pérez-Alva, A., Metri-Ojeda, J. C., Estrada-Beristain, C., Ramírez-Rodrigues, M. A., Arroyo-Silva, A., & Ramírez-Rodrigues, M. M. (2023). Use of Hibiscus sabdariffa by-Product to Enhance the Nutritional Quality of Pasta. Waste and Biomass Valorization, 14(4), 1267-1279. https://doi.org/10.1007/s12649-022-01938-z
- Bianchi, F., Tolve, R., Rainero, G., Bordiga, M., Brennan, C. S., & Simonato, B. (2021). Technological, nutritional and sensory properties of pasta fortified with agroindustrial by-products: A review. *International Journal of Food Science & Technology*, *56*(9), 4356-4366. https://doi.org/10.1111/ijfs.15168
- Biernacka, B., Dziki, D., Gawlik-Dziki, U., & Różyło, R. (2021). Common wheat pasta enriched with cereal coffee: Quality and physical and functional properties. *LWT*, 139, 110516. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110516
- Carpentieri, S., Larrea-Wachtendorff, D., Donsì, F., & Ferrari, G. (2022). Functionalization of pasta through the incorporation of bioactive compounds from agri-food by-products: Fundamentals, opportunities, and drawbacks. *Trends in Food Science & Technology*, 122, 49-65. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.011
- Chetrariu, A., & Dabija, A. (2021). Quality Characteristics of Spelt Pasta Enriched with Spent Grain. *Agronomy*, *11*(9), Article 9. https://doi.org/10.3390/agronomy11091824
- de Camargo Andrade-Molina, T. P., Shirai, M. A., Victória Eiras Grossmann, M., & Yamashita, F. (2013). Active biodegradable packaging for fresh pasta. *LWT Food Science and Technology*, *54*(1), 25-29. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.011
- Desai, A. S., Brennan, M. A., & Brennan, C. S. (2018). Amino acid and fatty acid profile and digestible indispensable amino acid score of pasta fortified with salmon

- (Oncorhynchus tshawytscha) powder. *European Food Research and Technology*, 244(10), 1729-1739. https://doi.org/10.1007/s00217-018-3085-5
- El-Sohaimy, S. A., Brennan, M., Darwish, A. M. G., & Brennan, C. (2020).

  Physicochemical, texture and sensorial evaluation of pasta enriched with chickpea flour and protein isolate. *Annals of Agricultural Sciences*, *65*(1), 28-34. https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.05.005
- Fasuan, T. O., Anyiam, C. C., Ojokoh, L. O., Chima, J. U., Olagunju, T. M., Okpara, K. O., & Asadu, K. C. (2021). Optimized spaghetti pasta from amaranth, partially deoiled sesame and modified sorghum starch composite: Bioactive, nutritional and physico-functional characterization. *Nutrition & Food Science*, *51*(6), 974-988. https://doi.org/10.1108/NFS-09-2020-0360
- Fradinho, P., Raymundo, A., Sousa, I., Domínguez, H., & Torres, M. D. (2019). Edible Brown Seaweed in Gluten-Free Pasta: Technological and Nutritional Evaluation. *Foods*, 8(12), Article 12. https://doi.org/10.3390/foods8120622
- Gopalakrishnan, J., Menon, R., Padmaja, G., Sajeev, M. S., & Moorthy, S. N. (2011).

  Nutritional and Functional Characteristics of Protein-Fortified Pasta from Sweet Potato. *Food and Nutrition Sciences*, *2*(9), Article 9.

  https://doi.org/10.4236/fns.2011.29129
- Gull, A., Prasad, K., & Kumar, P. (2018). Nutritional, antioxidant, microstructural and pasting properties of functional pasta. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *17*(2), 147-153. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.03.002
- Guo, H., Zhang, W., Ni, C., Cai, Z., Chen, S., & Huang, X. (2020). Heat map visualization for electrocardiogram data analysis. *BMC Cardiovascular Disorders*, *20*(1), 277. https://doi.org/10.1186/s12872-020-01560-8
- Gupta, A., Sharma, S., & Reddy Surasani, V. K. (2021). Quinoa protein isolate supplemented pasta: Nutritional, physical, textural and morphological characterization. *LWT*, *135*, 110045. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110045
- Jalgaonkar, K., & Jha, S. K. (2016). Influence of particle size and blend composition on quality of wheat semolina-pearl millet pasta. *Journal of Cereal Science*, 71, 239-245. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.09.007
- Joubert, M., Morel, M.-H., & Lullien-Pellerin, V. (2018). Pasta color and viscoelasticity: Revisiting the role of particle size, ash, and protein content. *Cereal Chemistry*, *95*(3), 386-398. https://doi.org/10.1002/cche.10038
- Lorusso, A., Verni, M., Montemurro, M., Coda, R., Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2017). Use of fermented quinoa flour for pasta making and evaluation of the technological and nutritional features. *LWT*, *78*, 215-221. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.12.046
- Namir, M., Iskander, A., Alyamani, A., Sayed-Ahmed, E. T. A., Saad, A. M., Elsahy, K., El-Tarabily, K. A., & Conte-Junior, C. A. (2022). Upgrading Common Wheat Pasta by Fiber-Rich Fraction of Potato Peel Byproduct at Different Particle Sizes: Effects on Physicochemical, Thermal, and Sensory Properties. *Molecules*, *27*(9), Article 9. https://doi.org/10.3390/molecules27092868

- Namrata, Gautam, N., & Kumar, S. (2021). Fortification of Pasta with Amaranth Leaf Powder and Defatted Soy Flour: Effects on Physical, Cooking and Sensory Characteristics. *Journal of Advanced Scientific Research*, *12*, 86-95.
- Padalino, L., Conte, A., Lecce, L., Likyova, D., Sicari, V., Pellicanò, T. M., Poiana, M., & Del Nobile, M. A. (2017). Functional pasta with tomato by-product as a source of antioxidant compounds and dietary fibre. *Czech Journal of Food Sciences*, *35*(1), 48-56. https://doi.org/10.17221/171/2016-CJFS
- Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A.-J. (2013). Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(1), 36-60. https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9
- Sethi, S., Nanda, S. K., & Bala, M. (2020). Quality assessment of pasta enriched with anthocyanin-rich black rice bran. *Journal of Food Processing and Preservation*, *44*(12), e14952. https://doi.org/10.1111/jfpp.14952
- Wahanik, A. L., Chang, Y. K., & Clerici, M. T. P. S. (2018). How to make pastas healthier? Food Reviews International, 34(1), 52-69. https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1210634
- Wang, T., Sun, X., Zhou, Z., & Chen, G. (2012). Effects of microfluidization process on physicochemical properties of wheat bran. *Food Research International*, *48*(2), 742-747. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.015
- Wrolstad, R. E., & Smith, D. E. (2017). Color Analysis. En S. S. Nielsen (Ed.), *Food Analysis* (pp. 545-555). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5\_31
- Zen, C. K., Tiepo, C. B. V., Silva, R. V. da, Reinehr, C. O., Gutkoski, L. C., Oro, T., & Colla, L. M. (2020). Development of functional pasta with microencapsulated Spirulina: Technological and sensorial effects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(5), 2018-2026. https://doi.org/10.1002/jsfa.10219

## Conclusiones y recomendaciones generales

Las algas M. pyrifera y A. platensis fueron caracterizadas para conocer su composición química y posteriormente fueron utilizadas para el desarrollo de diversos alimentos con propiedades funcionales. Realizar una caracterización inicial permitió tener un mayor conocimiento de los compuestos de interés de cada alga. Se pudo observar que el alga M. pyrifera presentó un elevado contenido de micronutrientes esenciales (Na, Ca, P, K y Mg), además de tener carotenoides como fucoxantina y compuestos fenólicos como el floroglucinol. Mientras que el contenido proteico de la microalga A. platensis es elevado. De manera general, se pudo observar que la incorporación de las algas en los distintos productos alimentarios tuvo un gran impacto en las propiedades fisicoquímicas, nutricionales y sensoriales. Se pudieron evaluar los cambios en las propiedades fisicoquímicas de tortillas elaboradas con distintos genotipos de maíz, y de igual manera se pudo profundizar en el contenido de compuestos fenólicos y carotenoides y se realizó la identificación y cuantificación de dichos compuestos. Sin embargo, por diversas situaciones no fue posible realizar una evaluación sensorial. Esto abre la posibilidad para realizar una futura investigación enfocándose únicamente en la evaluación sensorial y en la aceptación de los posibles consumidores. Este aspecto es uno de los más importantes al desarrollar nuevos alimentos o al modificar los ya existentes. Una de las principales limitaciones al utilizar algas es precisamente los cambios que generan en el olor y sabor de los productos. Debido a que en México el consumo de algas no es muy frecuente, la incorporación de estas genera cierto rechazo por parte de los consumidores.

# Anexos

Productos generados durante el Doctorado, evidencias de participación en congresos y publicaciones adicionales

Artículo de divulgación aceptado en el Revista Digital Universitaria de la UNAM

# ¿Algas en mi comida? ¿es en serio? // Algae in my food? seriously?

Alexa Pérez Alva, Diana K. Baigts Allende, Milena M. Ramírez Rodrigues

#### Resumen

Las algas han sido usadas por distintas civilizaciones desde sus inicios. En Europa eran usadas como recurso para sobrevivir periodos de hambrunas, así como alimento para ganado, mientras que en Asia eran consideradas como un producto valioso y de lujo al que no todos tenían acceso. El contenido nutrimental de las algas depende de la especie y de condiciones ambientales, pero de manera general son una fuente importante de fibra, vitaminas y minerales, además de considerarse alimentos funcionales. En la actualidad las algas se pueden encontrar en una gran variedad de productos, que van desde botanas hechas únicamente de algas secas hasta complicadas preparaciones de restaurantes gourmet. Lo anterior ha dado lugar a que se investigue más a fondo cual es el efecto que tienen al ser incorporadas a distintos alimentos. El objetivo de este artículo es dar a conocer diferentes productos que han sido elaborados utilizando algas, además de compartir un poco de la historia de su consumo.

### **Abstract**

Algae have been used by different civilizations since their beginnings. In Europe, they were used as a resource to survive periods of famine, as well as food for livestock, while in Asia they were considered a valuable and luxury product to which not everyone had access. While the nutritional content of algae varies depending on the species and environmental conditions, they are considered as an important source of fiber, vitamins, and minerals, as well as functional foods. Today algae can be found in a wide variety of products, ranging from snacks made solely from dried seaweeds to dishes presented in gourmet restaurants. This has led to further research into what effect they have when incorporated into different foods. The objective of this article is to introduce different products that have been made using algae, in addition to a bit of the history of their consumption.

Palabras clave: Algas, biomasa, comida // Key words: Algae, biomass, food

## Introducción

Aunque suene extraño, existen más platillos, además del sushi, que se preparan con algas. Pero, ¿qué son las algas? Son un grupo polifilético (o sea que vienen de varios antepasados distintos) de organismos que hacen fotosíntesis. De acuerdo a su tamaño, se pueden

separar en dos grandes grupos que son micro y macroalgas (Pereira *et al.*, 2021). Mientras que las primeras suelen medir algunos micrómetros (Venkatesan *et al.*, 2015), las segundas pueden llegar a medir ¡hasta 100 m! (Miyashita *et al.*, 2020) ¿Te imaginas un alga del largo de una cancha de futbol? Además, las macroalgas se dividen en verdes (*Chlorophyta*), rojas (*Rhodophyta*) y pardas o marrones (*Ochrophyta*). Se desconoce cuantas algas existen, pero se estima que hay entre uno y 10 millones (Pereira *et al.*, 2021).



Figura 17. Algas pardas, rojas, verdes y microalga

Ahora que ya conocemos que son las algas nos falta saber dónde encontrarlas ¿no? Bueno, la mayor parte de las macroalgas se encuentran en zonas rocosas en las costas formando bosques (Sarker et al., 2021), mientras que las microalgas, al tener una gran capacidad de adaptación, han podido colonizar casi todos los ecosistemas; por lo tanto, es posible encontrarlas en aguas termales, hielo, cuevas... en fin, en todos lados, incluso como parásitos o simbiontes (una especie oportunista que se beneficia de otra, como las rémoras y los tiburones) de otros seres (Kim, 2011; Tebbani et al., 2014). Y con esta breve introducción, ahora si vamos a lo que nos interesa, es decir, a la comida hecha con algas.

#### **Desarrollo**

#### Historia

La historia de la relación entre las algas y el ser humano se remonta al inicio de las civilizaciones, y a lo largo de la historia, éstas han tenido muchas aplicaciones. Algunos ejemplos son: como medicamento, fertilizante, alimento o para obtener yodo y carbonato de sodio. Otros usos son: como relleno de colchones, para construir techos, como aislamiento de paredes, mangos de cuchillos, instrumentos musicales y anticonceptivos, entre otros. Además, las algas han formado parte de fábulas, leyendas e historias, en su mayor parte como accesorios, ropa, o pelo de distintos seres marinos como sirenas, tritones y monstruos (Pérez-Lloréns *et al.*, 2020).

Antiguos textos Griegos y sagas Islandesas cuentan que las macroalgas eran utilizadas como alimento para el ganado (Delaney *et al.*, 2016). También hay registros de que los vikingos ya consumían algas. Sin embargo, que las personas comieran algas no era bien visto y era muchas veces sinónimo de pobreza y escasez (Pérez-Lloréns *et al.*, 2020). Aún

así, distintas variedades de algas eran consumidas por poblaciones costeras de Escocia e Irlanda desde el siglo XIV (1301-1400) como forma de sobrevivir periodos de hambrunas (Fleurence, 2016).

Con algas pardas se preparaba el *dulse*, mientras que un alga roja se hervía con una especie de molusco (como las almejas) o con tocino, además de freírse con avena para preparar "*laverbread*" (Pérez-Lloréns *et al.*, 2020). Mientras que en Francia las algas solo se utilizaban para gelar leche y así poder preparar una especie de tarta (Delaney *et al.*, 2016). A pesar de "*hacer menos*" a las algas, eran una parte importante de la cultura y hay cuadros donde se ilustra la recolección de éstas (Pérez-Lloréns *et al.*, 2020).

En Perú y Chile las algas se usaban como comida desde antes de la Conquista, además de ser usadas como ofrendas funerarias. Cuando llegaron los españoles el consumo de estas disminuyó porque no eran parte de la dieta mediterránea, sin embargo poco a poco fueron reincorporadas en la dieta (Pérez-Lloréns *et al.*, 2020).



Figura 18. Seaweed gatherers at Omori por Utagawa Kuniyoshi

En Asia, las macroalgas, se han utilizado para cocinar diferentes platillos desde hace siglos (Miyashita *et al.*, 2020). Además, eran apreciadas y eran consideras como objetos de valor (Pérez-Lloréns *et al.*, 2020). Tan es así, que hay registros de que el alga *nori* (la del sushi) era usada como forma de pago; algo así como el cacao en Mesoamérica. Como la producción de esta alga era limitada se consideraba un producto de lujo (Delaney *et al.*, 2016). En Corea, actualmente, además de ser consideradas como un manjar, tienen importancia cultural. Son parte de una ofrenda para pedir por la longevidad de los bebés y la salud de las madres, quienes además consumen sopa de algas por 4 semanas después del parto ya que se tiene la creencia de que mejora la leche materna (Delaney *et al.*, 2016).

Pero, ¿y por qué comer algas?

El contenido nutrimental de las algas depende de varios factores como son la especie, condiciones ambientales durante su desarrollo (salinidad, temperatura del agua, pH, luz solar), o la temporada en la que se cosechan (Nova *et al.*, 2020; Wells *et al.*, 2017). En general, suelen tener un contenido bajo de lípidos (entre 0.9 y 4.0 %) y una gran cantidad de carbohidratos, compuestos por fibra, principalmente. Mientras que el contenido de proteína puede ser de entre <15 % (algas pardas) y hasta de 47 % (algas rojas). También tienen muchos micronutrientes, como calcio, magnesio, yodo, hierro y potasio (Fleurence, 2016; Ramu Ganesan *et al.*, 2020). Y algunas algas pueden tener igual o más contenido de vitamina C que una naranja o un jitomate, además de vitamina A, E y del complejo B. Pero no solo eso, sino que las algas además se consideran alimentos funcionales o nutraceúticos. Esto quiere decir que además de los nutrientes "básicos" (carbohidratos, proteína, lípidos), las algas tienen compuestos que pueden tener un efecto antioxidante, antinflamatorio, e incluso ayudar a prevenir algunas enfermedades crónico degenerativas como diabetes y enfermedades cardiovasculares (Wells *et al.*, 2017).

#### Actualidad

Ya sabemos que las algas se consumen desde que Chabelo era chiquito y que tienen muchos nutrientes que nos ayudan a estar saludables. Pero ¿y que podemos preparar? ¿Cómo las podemos encontrar? ¿A qué saben? Pues, en general tienen un ligero sabor sulfuroso (como huevitos duros) que puede llegar a ser picante. Dependiendo de su color, sabor y textura va a ser como puedan ser cocinadas, pero la mayoría solo necesita remojo y una cocción rápida. Además, mientras más se cocinen, más notorio será el sabor a pescado (Marcus, 2013). La opción más común es en el sushi, el nori es el alga que se usa para hacer estos deliciosos rollos, pero también se puede usar para preparar sopas, ensaladas, omellettes (Brit+Co) o bien se puede freír y comer como botana. Otro uso del nori es como condimento para palomitas, mayonesa y aderezos. También se ha hecho mantequilla saborizada con nori o con kombu que se podría usar para preparar una parrillada (Good food). El kombu, que se caracteriza por tener un ligero sabor a océano, también se puede encontrar como polvo o escamas para sazonar estofados y legumbres. Otras algas, además se añaden a platos de arroz o pasta, o como "cama" para pescados. El dulse, además se puede secar y comer como carne seca. Mientras que fucus sirve para espesar los caldos y, a veces, se agrega a los tés de hierbas. El alga wakame, que se caracteriza por ser salada y con un fuerte sabor a mar, se usa en la sopa de miso y en las ensaladas sunomono (ensalada de pepino) (Marcus, 2013).

En Francia, los "vegetales del mar", que es como llaman a las algas, se pueden encontrar como productos frescos (naturales o con sal añadida), como condimentos o en pasta para untar (Delaney et al., 2016). En páginas de Internet, como <a href="Phyco Health">Phyco Health</a>, Cup of Sea y Heritage Seaweed se pueden comprar granola, pasta, totopos, condimentos, nueces tostadas, tés, además de "carne seca", chocolate, sopas en sobre y barritas, todo preparado a base de o con algas, además de poder encontrar varias especies secas. También es posible encontrar algunos embutidos como son salchichas y chorizo.



Figura 19. Productos comerciales preparados con algas

Ha sido tan grande el *boom* de las algas que incluso han llegado a invadir la cocina *gourmet* (ya sabes, esos restaurantes elegantes que sirven platillos con preparaciones extrañas como espumas y geles). Restaurantes (de alta cocina) como Inver (Reino Unido), Noma (Dinamarca) y Boragó (Chile) las han empleado en sus menús de temporada. También el chef Ángel León, dueño del restaurante Aponiente (España) y ganador de varias estrellas Michelin las ha incluido en sus platillos (Pérez-Lloréns *et al.*, 2020). Aquí hay unos videos de este chef en el que nos enseña a hacer un <u>encurtido de algas</u> y a preparar varios <u>platillos con algas</u>.

Las algas no solo han llegado a distintas tiendas y restaurantes, sino que incluso los científicos han buscado incorporarlas (parcialmente) en distintos alimentos y han estudiado su efecto en el color, la textura, el sabor y el contenido nutrimental de estos. Por ejemplo, se han usado para aumentar el contenido de proteínas y minerales en botanas hechas con maíz. A pesar de que agregar algas hizo que las botanas cambiaran de color, tuvieron una buena aceptación por parte de los panelistas (personas que usando un cuestionario evalúan un producto). La incorporación de algas permitió aumentar el contenido de fibra en pasta libre de gluten (Fradinho et al., 2019). De igual manera, se han realizado varios estudios para ver que pasa cuando las algas se agregan a productos lácteos fermentados (como yogurt), encontrando que pueden ayudar al crecimiento de probióticos (bichitos que ayudan a que nuestro sistema digestivo funcione bien) (del Olmo et al., 2019; Khaledabad et al., 2020) y a mejorar la textura final del yogurt (que no suelten tanta "aguita") (Barkallah et al., 2017). Sin embargo, añadir algas no siempre resulta en productos exitosos. Por ejemplo, cuando se usaron para preparar galletas, a pesar de mejorar la composición nutrimental, los panelistas mostraron rechazo tanto al color como al sabor (Nova et al., 2020). Al incorporarlas en pan han dado como resultado un producto seco, pesado, chicloso y con un ligero sabor a pescado (Lamont y McSweeney, 2021). Además, el color verdoso que adquiere el pan suele ser rechazado por los consumidores al ser relacionado a pan con moho (Cozmuta et al., 2019).

Y ya para acabar, se han hecho varias bebidas alcohólicas con algas. Por ejemplo, en la destilería *St. George Spirits* en Alameda, California (E.U.A) buscaron incorporar algas obteniendo un licor que, a pesar de no llegar a ser comercializado, fue descrito como que "pega como una ola". Se han preparado *gin* con ligeras notas a océano provenientes del alga, así como un destilado con un color verde-azul y un ligero sabor salado que bien podía ser usado para cocinar o en maridaje con algunos alimentos (¿con mariscos, tal vez?) (Kraan, 2016).

Incluso hay *whiskey* con algas, se llama CELP y fue producido para la serie "*The Seaweed Experience*" de la compañía *The Ultimate Whisky Company*. El líquido es de color verde, con un sabor salado y yodado. Además, dentro de la botella puedes encontrar un alga flotando, ¡toda una experiencia del mar! Mientras que en Japón se prepara el *Shochu*, un licor fuerte al que se le pueden agregar varios ingredientes, entre ellos un extracto de alga (Kraan, 2016).

Las algas también han llegado a las cervezas. La cerveza *Karengose Salty Seaweed Ale* se preparaba con alga roja, mientras que las algas pardas se han usado para preparar una lager irlandesa, caracterizada por una dulzura inicial, seguida de una sensación picante y una sequedad ácida, con notas saladas provenientes del alga. La compañía *The Marshall Wharf Brewing* Co. tuvo una cerveza preparada con alga parda. Sin embargo, a diferencia de las dos siguientes, estas cervezas ya no se comercializan. La cervecería Tofino tiene una *stout* con algas que tiene notas suaves con sabor a café y chocolate salado. La cerveza *Kelpie Seaweed Ale* es elaborada por la cervecería *Williams Brothers Brewing Company* en Escocia.

#### Conclusiones

La relación de los seres humanos con las algas se ha forjado desde hace muuuuuchos años. Y a pesar de que no siempre han sido consideradas como productos valiosos, nos han sacado del apuro en épocas de vacas flacas. Ahora, gracias a la globalización y a gente creativa de todo el mundo podemos probar distintos platillos, productos y bebidas. Además, todo parece indicar que cada vez vamos a poder ver más productos hechos con algas, y no solo alimentos, ya que también se ha intentado usarlas para biocombustibles, empaques biodegradables y un sinfín de productos. Pero regresando a lo que nos concierne en este artículo, es decir la comida con algas, ¿tú te atreverías a probarla?

### Referencias

- Barkallah, M., Dammak, M., Louati, I., Hentati, F., Hadrich, B., Mechichi, T., Ayadi, M. A., Fendri, I., Attia, H., & Abdelkafi, S. (2017). Effect of Spirulina platensis fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage. LWT, 84, 323-330. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.071
- Brew a cup of Maine (n.d.) Cup of Sea. Maine Seaweed Teas. Retrieved February 18, 2022 from https://www.cupofsea.me/
- Cozmuta, A. M., Peter, A., Nicula, C., & Cozmuta, L. M. (2019). Impact of Algae Addition on Bread Properties and Consumers Behavior-Preliminary Research. *Carpathian Journal of Food Science y Technology*, *11*(1), 121-125.

- del Olmo, A., Picon, A., & Nuñez, M. (2019). Probiotic dynamics during the fermentation of milk supplemented with seaweed extracts: The effect of milk constituents. *LWT*, *107*, 249-255. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.006
- Delaney, A., Frangoudes, K., & Ii, S.-A. (2016). Society and Seaweed. En J. Fleurence & I. Levine (Eds.) *Seaweed in Health and Disease Prevention* (pp. 7-40). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802772-1.00002-6
- Fleurence, J. (2016). Seaweeds as Food. En J. Fleurence & I. Levine (Eds.) Seaweed in Health and Disease Prevention (pp. 149-167). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802772-1.00005-1
- Fradinho, P., Raymundo, A., Sousa, I., Domínguez, H., & Torres, M. D. (2019). Edible Brown Seaweed in Gluten-Free Pasta: Technological and Nutritional Evaluation. *Foods*, *8*(12), 622. https://doi.org/10.3390/foods8120622
- Khaledabad, M. A., Ghasempour, Z., Kia, E. M., Bari, M. R., & Zarrin, R. (2020). Probiotic yoghurt functionalised with microalgae and Zedo gum: Chemical, microbiological, rheological and sensory characteristics. *International Journal of Dairy Technology*, 73(1), 67-75. https://doi.org/10.1111/1471-0307.12625
- Kim, S. K. (2011). Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology. John Wiley y Sons.
- Kraan, S. (2016). Seaweed and Alcohol: Biofuel or Booze? En J. Fleurence & I. Levine (Eds.) Seaweed in Health and Disease Prevention (pp. 169-184). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802772-1.00006-3
- Kuniyoshi, U. (1797–1861) Seaweed Gatherers at Omori [Woodblock print; ink and color on paper] The Metropolitan Museum of Art, New York, NY, United States https://www.metmuseum.org/art/collection/search/57048
- Lamont, T., & McSweeney, M. (2021). Consumer acceptability and chemical composition of whole-wheat breads incorporated with brown seaweed (Ascophyllum nodosum) or red seaweed (Chondrus crispus). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(4), 1507-1514. https://doi.org/10.1002/jsfa.10765
- Marcus, J. B. (2013). *Culinary Nutrition*. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391882-6.00002-9
- Makro España. (2021, Junio 21). Cómo cocinar algas por Ángel León. [Video]. Youtube. https://youtu.be/oYIZIyO9oqA
- Miyashita, K., Beppu, F., Hosokawa, M., Liu, X., & Wang, S. (2020). Nutraceutical characteristics of the brown seaweed carotenoid fucoxanthin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *686*, 108364. https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108364
- Nova, P., Martins, A. P., Teixeira, C., Abreu, H., Silva, J. G., Silva, A. M., Freitas, A. C., & Gomes, A. M. (2020). Foods with microalgae and seaweeds fostering consumers health: A review on scientific and market innovations. *Journal of Applied Phycology*, 32(3), 1789-1802. https://doi.org/10.1007/s10811-020-02129-w
- Pereira, A. G., Otero, P., Echave, J., Carreira-Casais, A., Chamorro, F., Collazo, N., Jaboui, A., Lourenço-Lopes, C., Simal-Gandara, J., & Prieto, M. A. (2021). Xanthophylls from the Sea: Algae as Source of Bioactive Carotenoids. *Marine Drugs*, 19(4), 188. https://doi.org/10.3390/md19040188

- Pérez-Lloréns, J. L., Mouritsen, O. G., Rhatigan, P., Cornish, M. L., & Critchley, A. T. (2020). Seaweeds in mythology, folklore, poetry, and life. *Journal of Applied Phycology*, 32(5), 3157-3182. https://doi.org/10.1007/s10811-020-02133-0
- Food everyday with seaweed (n.d.) Phyco Health. Retrieved February 18, 2022 from https://www.phycohealth.com/collections/food
- Ramu Ganesan, A., Subramani, K., Shanmugam, M., Seedevi, P., Park, S., Alfarhan, A. H., Rajagopal, R., & Balasubramanian, B. (2020). A comparison of nutritional value of underexploited edible seaweeds with recommended dietary allowances. *Journal of King Saud University Science*, 32(1), 1206-1211. https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.11.009
- RTVE Cocina. (2021, Julio 21). *Platos con algas Vamos a cocinar con José Andrés | RTVE Cocina*. [Video]. Youtube. https://youtu.be/iT4VKHuoMRc
- Sarker, S., Akter, M., Rahman, M. S., Islam, M. M., Hasan, O., Kabir, Md. A., & Rahman, M. M. (2021). Spatial prediction of seaweed habitat for mariculture in the coastal area of Bangladesh using a Generalized Additive Model. *Algal Research*, *60*, 102490. https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102490
- Silcock, E. (n.d.) *Barbecued surf & turf.* Good food. https://www.bbcgoodfood.com/recipes/barbecue-surf-turf
- Simon, S. (2016, January 22) *11 Delicious Seaweed Recipes That Aren't Sushi.* Brit+Co https://www.brit.co/living/healthy-eating/seaweed-recipes/
- Tebbani, S., Lopes, F., Filali, R., Dumur, D., & Pareau, D. (2014). *CO2 Biofixation by Microalgae: Modeling, Estimation and Control.* John Wiley y Sons, Ltd. https://doi.org/10.1002/9781118984475
- Venkatesan, J., Manivasagan, P., & Kim, S.-K. (2015). Marine Microalgae Biotechnology: Present Trends and Future Advances. En S.-K. Kim (Ed.), *Handbook of Marine Microalgae* (pp. 1-9). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800776-1.00001-7
- Wells, M. L., Potin, P., Craigie, J. S., Raven, J. A., Merchant, S. S., Helliwell, K. E., Smith, A. G., Camire, M. E., & Brawley, S. H. (2017). Algae as nutritional and functional food sources: Revisiting our understanding. *Journal of Applied Phycology*, 29(2), 949-982. https://doi.org/10.1007/s10811-016-0974-5
- Your friendly neighborhood seaweed store (n.d.) Heritage seaweed. Retrieved February 18, 2022 from https://www.heritageseaweed.com/

El siguiente artículo se encuentra en proceso de escritura:

Adición de espirulina (*Arthrospira platensis*) en un sistema de fermentación controlada, efecto sobre la velocidad de fermentación, color, compuestos volátiles y comportamiento de la levadura // Addition of spirulina (*Arthrospira platensis*) on a controlled fermentation system, effect on the fermentation's rate, color, volatile compounds, and yeast behavior.

Alexa Pérez-Alva<sup>a</sup>, Santiago Cárdenas-Pinto<sup>b</sup>, Skylar Kaplan Moreno<sup>b</sup>, Katherine A. Thompson-Witrick<sup>b</sup>, Melissa M. Ramírez-Rodrigues<sup>c</sup>, Milena M. Ramírez-Rodrigues<sup>d</sup>, Andrew J. MacIntosh<sup>b</sup>\*.

<sup>a</sup>Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla, Ex Hacienda Sta. Catarina Mártir. 72810. Cholula, Puebla, México

<sup>b</sup>Departamento de Ciencia de los Alimentos y Nutrición Humana, Universidad de Florida, Gainesville, EE.UU.

<sup>c</sup>Laboratorio de Análisis de Alimentos, Intema S.A. de C.V., 31 Sur 2901, Col. Santa Cruz Los Ángeles, Puebla, Puebla, 72400, México

<sup>d</sup>Tecnológico de Monterrey, Departamento de Bioingeniería, Vía Atlixcáyotl 5718, Reserva Territorial Atlixcáyotl, 72453, Puebla, Puebla, México

#### Resumen

**Palabras clave:** Spirulina (Arthrospira platensis), Saccharomyces pastorianus, fermentation

#### Introducción

La espirulina (Arthrospira platensis) es una cianobacteria multicelular filamentosa que se ha ganado una popularidad increíblemente positiva como complemento alimenticio debido a su alta concentración de macro y micronutrientes, aminoácidos esenciales, proteínas, lípidos, antioxidantes, minerales y vitaminas (Soni et al., 2017). Más concretamente, la espirulina es conocida por ser una proteína completa, lo que significa que contiene todos los aminoácidos esenciales; además, vitaminas del grupo B como tiamina y riboflavina (Mathew & Mary Saral, 2023). Las propiedades organolépticas de la cerveza (es decir, la sensación en boca, el color, el sabor y el olor) vienen determinadas por una amplia gama de características tanto de las materias primas como de las condiciones en las que tiene lugar la fermentación; a modo de ejemplo, se considera que la composición del mosto tiene una gran influencia en el sabor de la cerveza terminada. El mosto actúa como un medio de cultivo que incluye importantes sustratos que la levadura necesita para funcionar correctamente; entre estos sustratos se encuentran azúcares fermentables y materiales nitrogenados, vitaminas, minerales y otros compuestos importantes (Lekkas et al., 2005). Las concentraciones de aminoácidos específicos como isoleucina, valina, fenilalanina, glicina, alanina, tirosina, lisina, histidina, arginina y leucina son importantes ya que forman

<sup>\*</sup> andrewmacintosh@ufl.edu

parte del complejo de sustratos que regula la biosíntesis de volátiles que imparten sabor a la cerveza y que son producidos por la levadura (He et al., 2014). El objetivo de este estudio era analizar el efecto de la espirulina en la velocidad de una fermentación controlada de levadura.

# Materiales y métodos

### 1. Materiales de ensavo

La cebada malteada utilizada para estos experimentos fue Skagit Valley malting, Copeland pale B05-071 (Burlington, Washington, EE.UU.). El polvo de *Arthrospira platensis* (espirulina) se adquirió a Carlyle Nutritionals LLC (Melville, NY, EE.UU.) y el extracto de levadura se compró a Becton Dickinson and Company (Franklin Lakes, NJ, EE.UU.). La levadura utilizada para todos los experimentos fue una levadura Diamond lager (*Saccharomyces pastorianus*) de Lallemand (DISTILAMAX SR-Montreal, QC, CAN).

#### 2. Maceración

Para empezar, se molieron 450 g de cebada malteada utilizando una FOSS Cyclotec 1093 (Hillerød, DNK). Una vez molida, la cebada se repartió a partes iguales en nueve vasos de vidrio de 500 ml. A continuación, se añadieron 2.5 g de espirulina (5 % (p/p)) a tres vasos (SP), 2.5 g de extracto de levadura a otros tres vasos (YE), y los tres restantes se dejaron como control (CTRL). El régimen de maceración se realizó según lo descrito por el método Analytica-European Brewing Convention (EBC) Malt 4.5.1. Tras la maceración, el mosto se filtró con papel de filtro P8 de Fisherbrand (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EE.UU.) y, tras ajustar la densidad a 12 °Plato, se congeló hasta que se realizó el ensayo de fermentación.

## 3. Rehidratación y propagación de la levadura

Antes del pitching, se añadieron 0.1 g de levadura Diamond lager a tres vasos de vidrio con 50 mL de caldo YEPD previamente preparado y esterilizado en autoclave. El cultivo de levadura se incubó durante 48 h como se describe en el método Yeast-14 de la American Society of Brewing Chemists (ASBC).

## 4. Fermentación

Antes del lanzamiento, se determinó el recuento de células de levadura siguiendo el método ASBC Yeast-4. A continuación, se separó el mosto en los tres tratamientos distintos y se inoculó la levadura a concentraciones idénticas de 1.5x 10<sup>7</sup> células/mL en cada recipiente, tal como se indica en el método ASBC Yeast-14. Por último, se transfirieron asépticamente 15 ml de cada mosto a tubos de ensayo de vidrio estériles.

A continuación, cada mosto fue inoculado con una concentración inicial de  $1.5 \times 10^7$  células/mL siguiendo el método ASBC Yeast-14, y se transfirieron asépticamente 15 mL de mosto a tubos de fermentación estériles. Los tubos se taponaron con un tapón de esponja estéril y se colocaron en un baño de agua a 21 °C hasta la toma de muestras. Se tomaron muestras a las 0, 1.5, 6.5, 20.5, 22.5, 25.5, 28.5, 31.5, 44.5, 47.5, 50.5, 53.5, 69.5 y 100 horas. Se midieron tres tubos de fermentación por mosto (CTRL, YE y SP) en cada

momento, y los análisis realizados fueron densidad, pH, color, nitrógeno amino libre (FAN), células totales y células en suspensión. Las células totales y las células en suspensión se midieron con un contador celular automatizado (TC20 automated cell counter, Bio-Rad, Hercules, CA, EE.UU.).

## 5. Densidad

La densidad se determinó en muestras filtradas utilizando un densímetro DMA 35 (Anton Paar, Graz, AUT), siguiendo el método oficial ASBC Beer-4 (Instrumental).

6. pH

El pH se midió con un pH-metro Accumet® AB15 (Thermo Fisher scientific, Waltham, MA, EE.UU.). El instrumento se calibró utilizando una curva de tres puntos antes de su uso.

7. Free amino nitrogen (FAN)

El free amino nitrogen (FAN) se midió siguiendo el método ASBC Wort-12.

## 8. Análisis estadístico

Los resultados de densidad, pH y FAN se analizaron utilizando el modelo logístico de 4 parámetros descrito en el método ASBC Yeast-14, que se muestra en la ecuación 1:

Ecuación 1: 
$$P_t = P_e + \frac{P_i - P_e}{1 + e^{(-B(t-M))}}$$

Donde P(t) es la densidad, expresada como °Plato, pH, o FAN, expresado como mg/L, en un tiempo determinado (t), P(e) es la asíntota inferior de la curva, P(i) es la asíntota superior de la curva, P(i) es la pendiente de la curva, y P(i) es la asíntota superior de la curva, P(i) es la pendiente de la curva, y P(i) es el tiempo para alcanzar el punto de inflexión (h) (Guadalupe-Daqui et al., 2021).

Mientras que los resultados del recuento total de células y de células en suspensión se analizaron utilizando un modelo de ajuste "gausiano inclinado", tal y como se describe en el método ASBC Yeast-14, que se muestra en la Ecuación 2:

Ecuación 2: 
$$\log cell \ count = R \times t + Ae^{-\frac{1}{2}(\frac{t-\mu}{\sigma})^2}$$

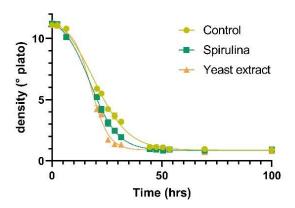
Donde los resultados se expresan como el Log del recuento celular (células / mL), R es la pendiente, t es el tiempo (h), Ae es la amplitud absoluta,  $\mu$  es el punto medio y  $\sigma$  es el factor de amplitud.

Después de modelar los resultados, se ejecutó una comparación entre las medias para determinar diferencias significativas ( $\alpha$  = 0.05). Todos los análisis se realizaron con GraphPad Prism 9 (Dotmatics Inc, Bishop's Stortford, GBR).

## Resultados y discusión

1. Densidad y pH

Las tres muestras (CTRL, YE y SP) empezaron y terminaron con la misma densidad (11.2 y 0.9 °Plato, respectivamente), lo que puede observarse en la Figura 20. Sin embargo, la velocidad a la que las muestras alcanzaron la densidad final fue significativamente diferente (p < 0.05). Sin embargo, la velocidad a la que las muestras alcanzaron la densidad final fue significativamente diferente (p < 0.05). Mientras que el valor M (tiempo para alcanzar el punto de inflexión) (Guadalupe-Daqui et al., 2021) del control fue de 19.04 h, para el extracto de levadura fue de 17.83 h, y para la espirulina fue de 17.37 h; el Pe, que es cuando la curva alcanza la asíntota inferior para el control fue de 12.46, para el extracto de levadura fue de 11.11, y para la espirulina fue de 11.95.



**Figura 20.** Cambio de la densidad en el tiempo, muestra una representación de la disminución de la densidad a través de la actividad fermentativa de *Saccharomyces pastorianus* entre los diferentes tratamientos del mosto (N=3).

En la figura 21 se representan los cambios de pH durante la fermentación. El análisis estadístico mostró que cada conjunto de datos tenía una curva diferente. Al principio de la fermentación, el pH del control era de 5.14, el de la muestra de extracto de levadura era de 5.43 y el de la muestra de espirulina era de 5.54. El punto de inflexión (M) para el pH era de 11.23, 9.466 y 5.54, respectivamente. El punto de inflexión (M) para el pH fue de 11.23, 9.466 y 8.467, para el control, el extracto de levadura y las muestras de espirulina, respectivamente; y después de este tiempo, el pH final fue de 3.74  $\pm$  0.03, 3.94  $\pm$  0.025 y 3.77  $\pm$  0.036, para el control, el extracto de levadura y la espirulina, respectivamente.

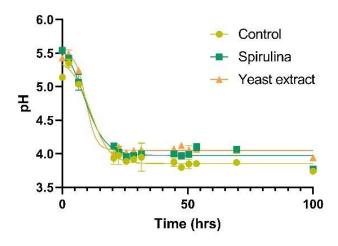
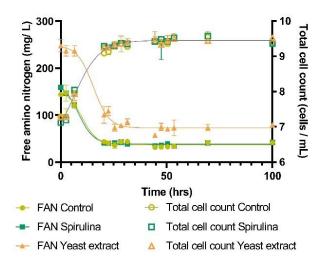


Figura 21. Cambio del pH en el tiempo muestra una representación de los cambios del pH a través de la actividad fermentativa de Saccharomyces pastorianus entre los diferentes tratamientos del mosto (N=3)

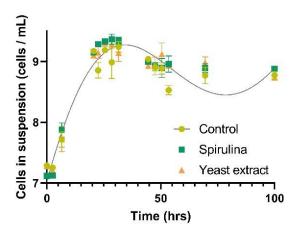
## 2. Recuento celular y free amino nitrogen (FAN)

El recuento celular inicial (células/ mL) fue de 7.28 log, 7.28 log y 7.12 log para el control, el extracto de levadura y la espirulina, respectivamente. El análisis estadístico mostró que una curva se ajustaba a todas las muestras, lo que significa que no había diferencias significativas (p > 0.05) en el recuento celular total (Figura 22). Tras 100 h de fermentación, el recuento final de células fue de 9.413 ± 0.027 log, 9.340 ± 0.059 log y 9.522 ± 0.003 log célula/ mL, para el control, el extracto de levadura y la espirulina, respectivamente. En la Figura 3 también se presenta el contenido de free amino nitrogen (FAN) de todas las muestras. Puede observarse que el crecimiento exponencial de la levadura S. pastorianus corresponde al momento en que disminuye el FAN. El análisis estadístico mostró que una curva no se ajustaba a los datos de las tres muestras, pero sí a los del control y la espirulina, lo que indica que no había diferencias estadísticas entre estas muestras (p > 0.05). La muestra de extracto de levadura presentó una mayor concentración de FAN (248.02 ± 13.43 mg/L), en comparación con el control (143.79  $\pm$  5.36 mg/L), y la espirulina (158.78  $\pm$  4.37 mg/L), respectivamente. Una vez finalizada la fermentación, el contenido de FAN fue de 41.42 ± 2.18, 79.47 ± 3.38 y 41.78 ± 4.80 mg/ L, para el control, el extracto de levadura y la espirulina, respectivamente.



**Figura 22.** Variación del *free amino nitrogen* (FAN) y del recuento celular total (células/ mL) por la actividad fermentativa de *Saccharomyces pastorianus* entre los diferentes tratamientos del mosto (N=3)

Finalmente, una curva ajustó todos los datos para las células en suspensión, lo que indica que no había diferencias significativas (p > 0.05), lo que puede observarse en la Figura 23.



**Figura 23.** Cambios en las células en suspensión por la actividad fermentativa de *Saccharomyces pastorianus* entre los diferentes tratamientos del mosto (N=3)

## Conclusión

 Se demostró que la espirulina podía añadirse a una fermentación de cebada (tradicional) dando lugar a una cinética de fermentación positiva

- La adición de espirulina dio lugar a una mayor tasa de fermentación en comparación con el control.
- La espirulina, cuando se añadió inicialmente, mostró un cambio significativo en la longitud de onda del color (método de medición); sin embargo, se degradó durante las fases de maceración, esterilización y fermentación. El producto acabado presentaba una diferencia de color estadística, pero no significativa, con respecto al control.
- Diferencia en el consumo de aminoácidos; probablemente explica la velocidad de fermentación.

#### Referencias

- Guadalupe-Daqui, M., Chen, M., Thompson-Witrick, K. A., & MacIntosh, A. J. (2021). Yeast Morphology Assessment through Automated Image Analysis during Fermentation. *Fermentation*, 7(2), Article 2. https://doi.org/10.3390/fermentation7020044
- He, Y., Dong, J., Yin, H., Zhao, Y., Chen, R., Wan, X., Chen, P., Hou, X., Liu, J., & Chen, L. (2014). Wort composition and its impact on the flavour-active higher alcohol and ester formation of beer a review: Wort composition and impact on higher alcohol and ester formation. *Journal of the Institute of Brewing*, 120(3), 157–163. https://doi.org/10.1002/jib.145
- Lekkas, C., Stewart, G., Hill, A., Taidi, B., & Hodgson, J. (2005). The Importance of Free Amino Nitrogen in Wort and Beer. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 42.
- Mathew, F., & Mary Saral, A. (2023). Chapter 27 Fucoidans: A marine antioxidant. In S.-K. Kim, K.-H. Shin, & J. Venkatesan (Eds.), *Marine Antioxidants* (pp. 355–363). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95086-2.00016-3
- Soni, R. A., Sudhakar, K., & Rana, R. S. (2017). Spirulina From growth to nutritional product: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *69*, 157–171. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.010



Contents lists available at ScienceDirect

#### Algal Research

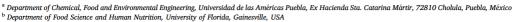
journal homepage: www.elsevier.com/locate/algal



#### Review article

#### Fermentation of algae to enhance their bioactive activity: A review

A. Pérez-Alva<sup>a</sup>, A.J. MacIntosh<sup>b</sup>, D.K. Baigts-Allende<sup>a</sup>, R. García-Torres<sup>c</sup>, M.M. Ramírez-Rodrigues <sup>a</sup>,

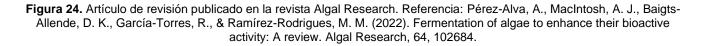


#### ARTICLE INFO

#### Keywords: Fermentation Bioactive compounds Microalgae Macroalgae

#### ABSTRACT

Fermentation is among the oldest recorded preservation methods; originally, it was used to enhance the organoleptic profile and stability of food. More recent applications have focused on the presence of various compounds, including polyphenols and polyunsaturated fatty acids, which are valuable for the food and pharmaceutical industries. Both micro and macroalgae have gained attention as fermentation substrates, as they are considered a rich and sustainable source of bioactive compounds. Fermentation of algae has generally focused either on producing biofuel or on obtaining compounds with bioactive properties, such as antioxidant capacity, antimicrobial properties, anti-inflammatory potential, among others. This article will focus on the collection of desirable compounds with bioactive properties. The objective of this article is to provide an overview of algae fermentation to obtain different added-value compounds with bioactive properties. Moreover, the types of fermentation, the different species of algae used for fermentation, as well as the employed microorganisms, fermentation conditions, and bioactive effects of the obtained bioactive compounds are presented and discussed.



c Family & Consumer Sciences, California State University, Northridge, USA



Contents lists available at ScienceDirect

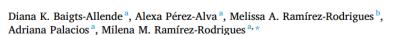
#### Journal of Food Composition and Analysis

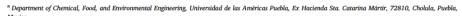
journal homepage: www.elsevier.com/locate/jfca



Original Research Article

# A comparative study of polyphenolic and amino acid profiles of commercial fruit beers





Mexico <sup>b</sup> Food Analysis Laboratory, Intema S.A. de C.V., 31 Sur 2901, Col. Santa Cruz Los Ángeles, Puebla, Puebla, 72400, Mexico

#### ARTICLE INFO

Keywords:
Fruit beers
Polyphenolic profile
Amino acid profile
Principal component analysis
Physicochemical analysis

#### ABSTRACT

The individual polyphenols, free amino acid (AA) profiles, and pigments (β-carotene and monomeric anthocyanins) concentration of twenty-nine commercial beers were quantified. Additionally, a physicochemical characterization consisting of density, "Brix, color, and % alcohol content (ABV), was performed. The ABV ranged from 2 to 9 %, "Brix from 2 to 12, and a broad color spectrum, ranging from yellow (4 °SRM) to black (39 °SRM) was observed. Total free amino acids (TAA) content ranged from 49–3,902 mg/L. The concentrations of nineteen quantified polyphenols ranged between 4–298 mg/L, being catechin (38–298 mg/L) and epicatechin (19–354 mg/L) the most abundant compounds, while the pigments content ranged between 4–35 mg/L. The observed differences were mainly attributed to the brewing style as well as the type and amount of added fruit. Principal component analysis (PCA) showed five different groups for polyphenols, pigments, and AA related to their chemical structure. This allowed clustering samples according to the proportion in which each category contributed to the total phenolic + pigments content or TAA. It was noted that "Fruit Lambic" beers were the only brewing style that showed similar trends in the performed analysis.

**Figura 25.** Artículo de investigación publicado en Journal of Food Composition and Analysis. Referencia: Baigts-Allende, D. K., Perez-Alva, A., Ramirez-Rodrigues, M. A., Palacios, A., & Ramirez-Rodrigues, M. M. (2021). A comparative study of polyphenolic and amino acid profiles of commercial fruit beers. Journal of Food Composition and Analysis, 100, 103921.





Articl

# Spirulina platensis Protein as Sustainable Ingredient for Nutritional Food Products Development

Milena M. Ramírez-Rodrigues, Carolina Estrada-Beristain, Jorge Metri-Ojeda, Alexa Pérez-Alva and Diana K. Baigts-Allende \*

Department of Chemical, Food and Environmental Engineering, Universidad de las Américas Puebla, San Andrés Cholula, Puebla 72810, Mexico; milena.ramirez@udlap.mx (M.M.R.-R.); carolina.estradabn@udlap.mx (C.E.-B.); jorge.metrioa@udlap.mx (J.M.-O.); alexa.perezaa@udlap.mx (A.P.-A.) \* Correspondence: diana.baigts@udlap.mx

Abstract: Spirulina platensis, microalgae, is emerging as a sustainable source for highly nutritional food ingredient production to cover the food demands of the global population. This study aimed to characterize food prototypes supplemented with microalgae protein isolate to develop health-promoting food products. The nutritional composition (proximate composition, fatty acids, and mineral content) of the spirulina biomass, the structural characterization of spirulina platensis protein (SPP) isolates, and the physicochemical properties of SPP- developed food products were evaluated. High protein (47%), Y-Linolenic acid (24.45 g/100 g of fat), iron (16.27 mg/100 g), calcium (207 mg/100 g), and potassium (1675 mg/100 g) content in the spirulina biomass was found. SPP (76% of purity) with sodium alginate produced stable emulsions (>90%) during storage (14 days). Amaranth + SPP pasta resulted in good appearance, texture, color, and high nutritional value in protein (above 30%) and minerals, mainly iron (9–10 mg/100 g) and magnesium (300 mg/100 g), meeting the daily intake recommendations. In addition, the amino acid profile of the pasta was in line with the amino acid pattern requirements for adults. SPP can be considered as potential additive for emulsions stability and provided nutritional and physicochemical desired in the elaborated pasta.

Keywords: sustainable ingredients; spirulina platensis protein; food products development

check for

Citation: Ramírez-Rodrigues, M.M.; Estrada-Beristain, C.; Metri-Ojeda, J.; Pérez-Alva, A.; Baigts-Allende, D.K. Spirulina platensis Protein as Sustainable Ingredient for Nutritional Food Products Development. Sustainablity 2021, 13, 6849. https://doi.org/10.3390/su13126849

**Figura 26.** Artículo de investigación publicado en Sustainability. Referencia: Ramírez-Rodrigues, M. M., Estrada-Beristain, C., Metri-Ojeda, J., Pérez-Alva, A., & Baigts-Allende, D. K. (2021). Spirulina platensis protein as sustainable ingredient for nutritional food products development. Sustainability, 13(12), 6849

#### ORIGINAL PAPER



# Use of *Hibiscus sabdariffa* by-Product to Enhance the Nutritional Quality of Pasta

Diana K. Baigts-Allende  $^1$  · Alexa Pérez-Alva $^2$  · Jorge C. Metri-Ojeda $^2$  · Carolina Estrada-Beristain  $^2$  · Melissa A. Ramírez-Rodrigues  $^3$  · Anita Arroyo-Silva $^3$  · Milena M. Ramírez-Rodrigues  $^4$  ©

Received: 6 April 2022 / Accepted: 17 September 2022 © The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2022

#### Abstract

**Purpose** Spent *Hibiscus sabdariffa* calyxes contain significant amounts of fiber, vitamins, minerals, and phenolic compounds, which can be used to enhance the nutritional quality of pasta. The objective of this study was to prepare pasta with different concentrations of *Hibiscus sabdariffa* by-product powder (HBP).

**Methods** Spent calyxes were dried and milled to obtain a powder incorporated into pasta in different concentrations (10–20% (w/w)). The chemical composition, mineral and vitamin content, amino acid and polyphenol profiles, color, and texture of the pasta samples were determined.

Results There were no significant differences in fat, protein, and carbohydrate content among all analyzed samples. The increase in HBP led to a significant increase in soluble, insoluble, and total dietary fiber, mineral content (Na, K, Mg, and P) and Vitamin C. However, Fe was higher in the control sample. HBP pasta showed significant decrease in lysine, histidine, sulfur and aromatic amino acids, contrary to threonine, alanine and asparagine which increased. Pasta with higher content of HBP showed a higher content of phenolic compounds, mainly gallic acid and anthocyanins like cyanidin 3-sambubioside. The control sample showed a higher hardness, which decreased with the increase of HBP, while changes in L\*, a\*, b\*, Chroma, Hue and  $\Delta E$  were observed among samples.

Conclusion Spent Hibiscus sabdariffa calyxes can be used to prepare an enriched pasta, containing good proportion of fiber and nutritionally important minerals without compromising the content and quality of protein.

**Figura 27.** Artículo de investigación publicado en Waste and Biomass Valorization. Referencia: Baigts-Allende, D. K., Pérez-Alva, A., Metri-Ojeda, J. C., Estrada-Beristain, C., Ramírez-Rodrigues, M. A., Arroyo-Silva, A., & Ramírez-Rodrigues, M. M. (2022). Use of Hibiscus sabdariffa by-Product to Enhance the Nutritional Quality of Pasta. Waste and Biomass Valorization, 1-13.



Figura 28. Artículo de investigación en proceso de revisión en el journal Food and Humanity

```
Skin-contact white wines phenolic profile and antioxidant activity
 3
      Names and e-mail addresses for all authors
      M. M. Ramírez-Rodrigues<sup>1</sup> milena.ramirez@tec.mx
 5
      A. Pérez-Alva<sup>2</sup>
                                 alexa.perezaa@udlap.mx
      R. García-Torres<sup>3</sup>
                                 rosalia.garciatorres@csun.edu
 8
      Author affiliation(s)
        Department of Bioengineering, Instituto Tecnologico y de Estudios Superiores de Monterrey – Campus Puebla,
10
        Via Atlixcáyotl 5718, Reserva Territorial Atlixcáyotl, 72453, Puebla, Puebla, México
      Department of Chemical, Food and Environmental Engineering, Universidad de las Américas Puebla, Ex Hacienda
12
        Sta. Catarina Mártir, 72810, San Andrés Cholula, Puebla, México
        Department of Family and Consumer Sciences, California State University Northridge, 18111 Nordhoff St.,
13
14
        Northridge, CA, 91330
15
16
      Contact information for Corresponding author <u>rosalia.garciatorres@csun.edu</u>
17
18
19
      -PAGE BREAK-
```

Figura 29. Artículo de investigación en proceso de revisión en el journal Food and Humanity

#### IntechOpen

# Addition of brown algae *Macrocystis pyrifera* to white corn tortillas

Alexa Pérez-Alva<sup>a</sup>, Diana K. Baigts-Allende<sup>a</sup>, Milena M. Ramírez-Rodrigues<sup>a,\*</sup>

a Department of Chemical, Food and Environmental Engineering, Universidad de las Americas Puebla, Ex Hacienda Sta. Catarina Mártir. 72810. Cholula, Puebla, Mexico

#### Abstract

This study aimed to analyze the effect of incorporating different concentrations (10, 20 and 30 % (w/w)) of the brown seaweed *Macrocystis pyrifera* into white corn tortillas in terms of chemical composition, color, texture, phenolic compounds, and antioxidant capacity. The moisture and lipid content decreased with the addition of seaweed, while the ash, protein and fiber content increased. The changes in carbohydrates were not significant. The concentration of Na, K, Mg and P increased significantly with the incorporation of the algae. Higher percentage of seaweed led to massa and tortillas with greener tones as it affected  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , hue and chroma and to bigger differences between the control samples and the samples with seaweed. Total phenolic content increased linearly with the incorporation of seaweed, as well as FRAP values. While the massa with 20 % of seaweed showed the highest percentage of ABTS inhibition. Finally, the control sample of massa presented the lowest values of adhesiveness and hardness, while the control sample of tortilla showed the highest hardness value.

Keywords: Seaweed, Macrocystis pyrifera, corn tortilla

**Figura 30**. Capítulo de libro. Referencia. Hernández, L. R., & Meneses, M. A. S. (2023). Technology, Science and Culture: A Global Vision, Volume IV. In Technology, Science and Culture-A Global Vision, Volume IV. IntechOpen.

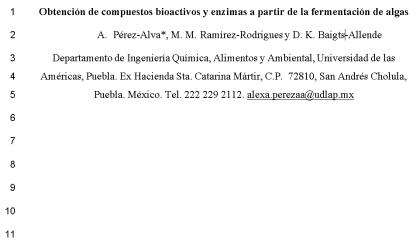


Figura 31. Artículo de revisión publicado en la revista TSIA

<sup>\*</sup> milena.ramirez@udlap.mx



Figura 32. Constancia de participación



Figura 33. Constancia de participación



# White maize tortillas fortified with brown algae *Macrocystis pyrifera*

A. PÉREZ-ALVA1, D. K. BAIGTS-ALLENDE1, and M. M. RAMÍREZ-RODRIGUES1

<sup>1</sup> Department of Chemical, Food and Environmental Engineering, Universidad de las Américas —Puebla, Mexico

Contact Information:

Milena M. Ramírez Rodrigues, PhD Alexa Pérez-Alva m.ramirez@intema.com.mx alexa.perezaa@udlap.mx

# UDLAP

#### **INTRODUCTION**

Seaweeds have gained attention as a source of valuable compounds; however, they are not fully exploited. While maize tortillas are a widely consumed product in several countries of Latin America.

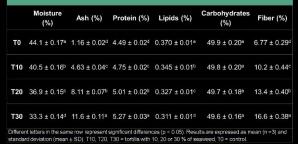
#### ΔIM

Analyze the effect of the incorporation of the brown seaweed *Macrocystis pyrifera* to white maize tortillas.

#### **METHOD**

- Seaweed preparation: dried, milled, and sieved to obtain a homogeneous powder
- Tortilla elaboration: The powder was incorporated to white maize masa in three concentrations: 0, 10, 20 and 30 %
- Proximal composition (AOAC official methods)
- · Color (CIELab) of tortillas
- Mineral content (ICP-OES)
- Texture: hardness

#### RESULTS



Chemical composition of tortillas with different concentrations of seaweed

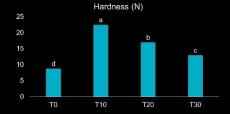


Figure 1. - Hardness of tortillas supplemented with different concentrations of seaweed. Results are expressed as N. Different letters represent significant differences (p < 0.05). Results are expressed as mean (n = 3) and standard deviation (mean ± SD). T10, T20, T30 = tortilla with 10, 20 or 30 % of seaweed. T0 = control.

#### 

Figure 2.- Color of tortillas supplemented with different concentrations of seaweed. Different letters represent significant differences (p < 0.05). Results are expressed as mean (n = 3) and standard deviation (mean  $\pm$  SD). T10, T20, T30 = tortilla with 10, 20 or 30 % of seaweed. T0 = control.

	Sodium (Na)	Calcium (Ca)	Phosphorus (P)	Potassium (K)	Magnesium (Mg)
T0	$10.4 \pm 0.26^d$	363 ± 3.11d	315 ± 3.60d	331 ± 0.11d	84.7 ± 0.019
T10	335 ± 0.52°	500 ± 2.91°	330 ± 3.24°	1852 ± 1.94°	184 ± 0.70°
T20	661 ± 0.94b	636 ± 2.93b	344 ± 2.88b	3374 ± 3.87b	284 ± 1.39 <sup>b</sup>
T30	986 ± 1.39°	773 ± 3.19a	359 ± 2.52°	4895 ± 5.81°	384 ± 2.09a

All results are expressed as mg/100 g. Different letters in the same row represent significant differences  $(p \circ 0.05)$ . Results are expressed as mean  $(n \circ 3)$  and standard deviation (mean  $\pm$  SD). T10. T20, T30 = tortifia with 10, 20 or 30 % of seaweed. T0 = control.

#### CONCLUSIONS

The addition of *M. pyrifera* to white maize tortillas increased the minerals, fiber, and protein, leading to a product with an improved nutritional profile.

#### **ACKNOWLEDGEMENTS**

Universidad de las Américas Puebla, México,

The Mexican National Council of Science and Technology (CONACYT), under project grant FOINS 4950.

#### REFERENCES

- Leyton A, Flores L, Mäki-Arvela P, Lienqueo ME, Shene C. Macrocystis pyrifera source of nutrients for the production of carotenoids by a marine yeast Rhodotorula mucilaginosa. J Appl Microbiol. 2019;127(4):1069-79.
- Astorga-España MaS, Mansilla A, Ojeda J, Marambio J, Rosenfeld S, Mendez F, et al. Nutritional properties of dishes prepared with sub-Antarctic macroalgae—an opportunity for healthy eating. J Appl Phycol. 2017;29(5):2399-406.
- Escalante-Araiza F, Gutiérrez-Salmeán G. Traditional Mexican foods as functional agents in the treatment of cardiometabolic risk factors. Crit Rev Food Sci Nutr. 2021;61(8):1353-64.

Figura 34. Cartel presentado en el congreso del IFT, first 2022



# PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION

- Department of Chemical, Food and Environmental Engineering, Universidad de las Américas -Puebla, Mexico
- <sup>2</sup> Department of Family and Consumer Sciences, California State University, Northridge, USA

#### Contact Information:

Milena M. Ramírez Rodrigues, PhD Alexa Pérez-Alva

milenam.ramirezrs@udlap.mx alexa.perezaa@udlap.mx

#### INTRODUCTION

Hibiscus sabdariffa, also known as Roselle is an herbaceous shrub from the Malvaceae family. The plant is mainly cultivated for its calyxes, which are used to prepare different beverages. Roselle is rich in phenolic compounds that posse's antioxidant properties as well as anti-inflammatory and antimicrobial activities.

#### AIM

- · To prepare a Roselle liquor
- · Perform a physicochemical characterization of the liquour
- · Measure the antioxidant capacity and anthocyanin
- · Determine the amino acid and phenolic profiles

#### **METHOD**

- · Liquor preparation: infusion of Roselle calvxes in water (1:10 (w/v)) followed by dilution in sugar-
- · Characterization: pH, alcohol % (v/v), density (g/cm3), °brix, color (CIElab)
- · Anthocyanin content
- · Antioxidant capacity (ORAC)
- · Phenolic and amino acid profiles

#### **RESULTS**

The pH of the liquor was 2.4 ± 0.0, while the alcohol % was 10.34 ± 0.06, density 1.03 ± 0.01 g/cm3 and \*Brix were 22.6 ± 0.0. The Roselle calyxes extract led to a lightness (L) value of 22.63 ± 0.01, a\* of 1.55 ± 0.01 and b\* -1.70 ± 0.02. While the Hue (H) was 2.30 ± 0.03, Chroma -47.69 ± 0.55, Color density (CD) 4.24 ± 0.11 and Hue tint (HT) 0.84 ± 0.0.

Total anthocyanin content was 48.50 ± 1.60, while 47.99 ± 1.62 % were polymeric, 47.73 ± 1.40 % were monomeric and 4.27 ± 0.21 % were co-pigmented The antioxidant capacity was 42.61 ± 1.65 µmol of

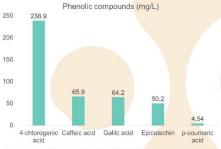
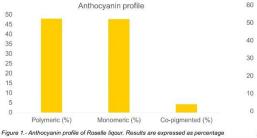
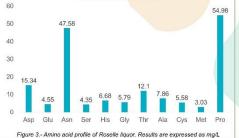


Figure 2.- Phenolic compounds profile of Roselle liquour. Results are axpressed as mg/L

Amino acid profile (mg/L)





#### CONCLUSIONS

Roselle calyxes are rich in polyphenols with antioxidant capacity, as well as different amino acids, which can be extracted into different beverages conferring this their functional properties to the final product.



#### **ACKNOWLEDGEMENTS**

Universidad de las Américas Puebla, México

#### REFERENCES

- Gómez-Aldapa, C.A., Díaz-Cruz, C.A., Castro-Rosas, J., Jiménez-Regalado, E.J., Velazquez, G., Gutierrez, M.C., Aguirre-Loredo, R.C.: Development of Antimicrobial Biodegradable Films Based on Corn Starch with Aqueous Extract of Hibiscus sabdariffa L. Starch -Stärke. 73(1-2), 2000096 (2020). https://doi.org/10.1002/star.202000096
- Sáyago-Ayerdi, S.G., Velázquez-López, C., Montalvo-González, E., Goñi, I.: By-product from decoction process of Hibiscus sabdariffa L. calyces as a source of polyphenols and dietary fiber. J Sci Food Agric. 94(5), 898-904 (2013), https://doi.org/10.1002/isfa.6333
- Moyano, G., Sáyago-Ayerdi, S.G., Largo, C., Caz, V., Santamaria, M., Tabernero, M.: Potential use of dietary fibre from Hibiscus sabdariffa and Agave tequilana in obesity management. J Funct Foods. 21, 1-9 (2016). https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.11.011
  Ramirez-Rodrigues, M.M., Plaza, M.L., Azeredo, A.,
- Balaban, M.O., Marshall, M.R.: Physicochemical and Phytochemical Properties of Cold and Hot Water Extraction from Hibiscus sabdariffa. J Food Sci. 76(3), C428-C435 (2011). https://doi.org/10.1111/j.1750-

Figura 35. Cartel presentado en el congreso del IFT, first 2022



Figura 36. Constancia de participación





# High-value compounds from Canary (*Phalaris* canariensis) and amaranth (*Amaranthus cruentus*) seeds

Pérez-Alva, A.1\*, Metri-Ojeda J. C.1, Baigts-Allende D. K.2 & Ramírez-Rodrigues M. M.3

¹\*Universidad de las Américas, Puebla, México. ²Czech University of Life Sciences Prague, Praga, República Checa. ³Tecnológico de Monterrey. Monterrey, Puebla, México. Email: alexa.perezaa@udlap.mx

#### INTRODUCTION

Canary seed (*Phalaris canariensis*), mainly used as bird feed, is now considered as a novel food ingredient that can be used in bakery products, and snacks (among others); additionally, it can be used to mitigate celiac disease, obesity and diabetes (Abdel-Aal, 2021). While amaranth (*Amaranthus cruentus*), which is used for human consumption, is also recognized for its health-promoting properties, like decreasing plasma cholesterol levels, and blood glucose levels, as well as stimulating the immune system (Caselato-Sousa & Amaya-Farfán, 2012).

#### **OBJECTIVE**

The objective was to characterize both seeds in terms of chemical composition, mineral content, phenolic and carotenoid content.

#### **MATERIALS AND METHODS**

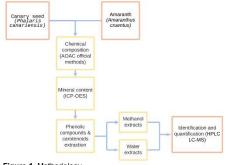
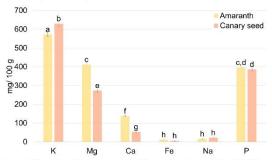


Figure 1. Methodology

#### RESULTS AND DISCUSSION

Table 1. Chemical composition of Canary seed and Amaranth

%	Amaranth	Canary seed
Moisture	11.23 ± 0.53°	$8.77 \pm 0.65$ <sup>d</sup>
Ash	$3.29 \pm 0.09^{f}$	5.85 ± 0.11e
Protein	15.30 ± 1.32b	17.17 ± 0.32b
Lipids	5.65 ± 0.10e	5.26 ± 0.54°
Carbohydrates	64.53 + 0.60a	63.62 ± 1.05a



**Figure 1.** Minerals in Canary seed and Amaranth. Superscripts with different letters indicate significant difference (p < 0.05). Results are expressed as mean (n = 3)  $\pm$  standard deviation.

Table 2. Phenolic compounds and carotenoids in Canary seed and Amaranth

	Amaranth		Canary seed	
Compound	Water	Methanol1	Water2	Methanol3
Epigallocatechin gallate	17.1 ± 0.72°	$11.4 \pm 0.23^{\circ}$	nd	nd
Caffeic acid	$3.42 \pm 0.11^{j/k}$	$3.43 \pm 0.10^{j,k}$	$3.49 \pm 0.15^{h,i,j,k}$	$3.48\pm0.17^{i,j,k}$
3-Caffeoylquinic acid	17.7 ± 0.35°	10.0 ± 0.22 <sup>f</sup>	44.6 ± 0.77°	33.5 ± 1.03°
p-Coumaric acid	4.51 ± 0.16 <sup>h,i</sup>	$4.47 \pm 0.04$ h, i, j	4.56 ± 0.08 <sup>h</sup>	$4.45\pm0.07^{\text{hij}}$
Epicatechin	< 2.00	$2.76 \pm 0.09^{k}$	$4.18 \pm 0.09^{h,i,j}$	$3.54 \pm 0.08^{h,i,j,k}$
β-Carotene	9.08 ± 0.25	15.1 ± 0.44°	6.32 ± 0.169	2.48 ± 0.11k

Superscripts with different letters indicate significant difference (p < 0.05). Results are expressed as mean (n = 3)  $\pm$  standard deviation.

#### CONCLUSION

- · Both seeds presented a high protein content
- K, Mg, and P were also high in both seeds, which can cover an important percentage of the RDA
- Canary seed presented higher values of phenolic compounds, specially of 3-Caffeoylquinic acid, while amaranth presented a higher content of ßcarotene

#### REFERENCES

Abdel-Aal, E.-S. M. (2021). Nutritional and functional attributes of hairless canary seed groats and components and their potential as functional ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 680-687. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.029

Caselato-Sousa, V. M., & Amaya-Farfán, J. (2012). State of Knowledge on Amaranth Grain: A Comprehensive Review. *Journal of Food Science*, 77(4), R93-R104

https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02645.x

Figura 37. Cartel presentado en el congreso de AMECA, Latin Food 2022



Figura 38. Constancia de participación



**Figura 39.** Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 1 de 8



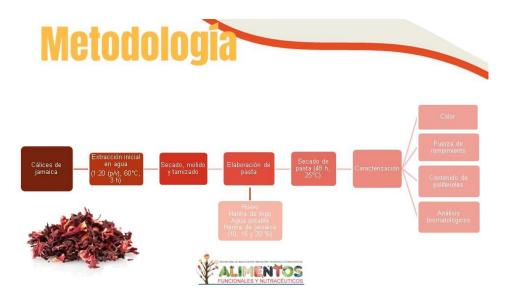
- . Hibiscus sabdariffa L. → flor de jamaica
- · Arbusto tropical anual
- México, China, Tailandia, Tanzania, Egipto y Senegal
- · Los cálices tienen importancia comercial
  - Compuestos fenólicos y antocianinas
  - Infusiones
  - Subproductos



**Figura 40.** Figura 39. Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 2 de 8



**Figura 41.** Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 3 de 8



**Figura 42**. Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 4 de 8



**Figura 43.** Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 5 de 8



**Figura 44.** Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 6 de 8



**Figura 45.** Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 7 de 8



**Figura 46.** Presentación desarrollada para la presentación oral del 4to Congreso Internacional Digital de Alimentos funcionales y nutracéuticos. Diapostiva 8 de 8

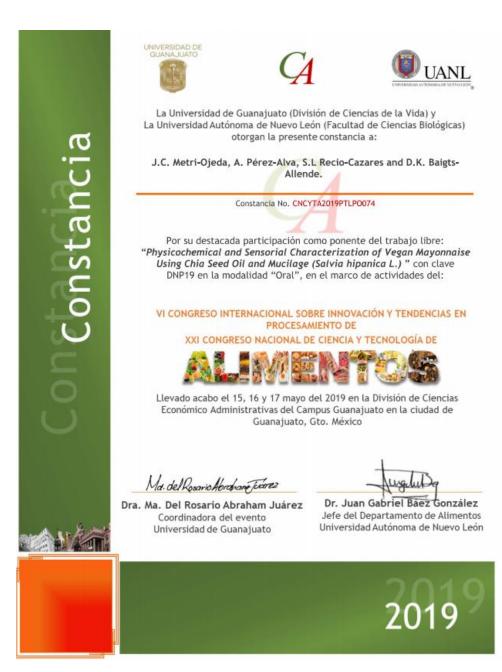


Figura 47. Constancia de participación

# Physicochemical and sensorial characterization of vegan mayonnaise using chia seed oil and mucilage (Salvia hipanica L.)

J.C. Metri-Ojeda, A. Pérez-Alva, S.L Recio-Cazares y D.K. Baigts-Allende



**Figura 48**. Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 1 de 10

#### INTRODUCCIÓN

- · La mayonesa es uno de los condimentos más consumidos en el mundo
- Varios compuestos de diferente naturaleza se utilizan como emulgentes, estabilizantes y agentes espesantes en productos basados en emulsiones
  - En el caso de las gomas, se debe a su afinidad por el agua y al aumento de la viscosidad de la fase dispersante
- Chia (Salvia hispanica L.) es una fuente rica de ácidos grasos esenciales, especialmente ácido α-linolénico, fibra soluble e insoluble y proteínas
  - Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 se asocian con numerosos beneficios potenciales para la salud cuando se consumen a niveles adecuados
  - El mucílago se ha asociado a la reducción del riesgo de diabetes (tipo 2) y tiene efecto prebiótico al aumentar las cepas de Lactobacillus y Bifidobacteria

Fernandes & Mellado, 2017; Kostansek, 2012; Julio et al., 2018; Razavi, 2019; Soukoulis et al., 2018

## **UDLAP**

**Figura 49.** Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 2 de 10

#### **OBJETIVO**

El objetivo de este trabajo fue estudiar las características fisicoquímicas y sensoriales de una mayonesa vegana rica en ácidos grasos omega 3 utilizando aceite de semilla de chía (Salvia hispanica L.)

# UDLAP

**UDLAP**®

**Figura 50.** Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 3 de 10

# MATERIALES Y MÉTODOS Chia seeds were obtained in a local supermarket located in San Andrés Cholula, Puebla Commercial mayonnaise, standard and vegan were used as a control sample Extracción de mucílago de chía Extracción de aceite de chía Extracción de las propiedades físicas Exaluación de las propiedades físicas Exaluación sensorial

# **Figura 51.** Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 4 de 10

#### RESULTADOS. VISCOSIDAD 9000 8000 Las emulsiones mostraron un 7000 comportamiento pseudoplástico no 6000 (CP) newtoniano, disminuyendo la viscosidad al 5000 aumentar las tasas de corte VISCOSITY 4000 En un estudio similar, la sustitución parcial 3000 <u></u> ←CM de la yema de huevo con mucílago de chía redujo significativamente la viscosidad en 1000 comparación con una mayonesa regular 60 20 -1000 SHEAR RATE (RPM) Fernandes & Mellado, 2017

**UDLAP** 

**Figura 52.** Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 5 de 10

#### RESULTADOS. COLOR · La CM es más opaca con un color amarillo predominante SM 75.32 ± 0.10<sup>A</sup> -4.06 ± 0.08<sup>A</sup> 17.09 ± 0.18<sup>A</sup> (b\*) 78.56 ± 0.96<sup>B</sup> -1.01 ± 0.31<sup>B</sup> 12.15 ± 0.55<sup>B</sup> · Estos resultados están de VM acuerdo con los valores CM 69.20 ± 1.59° -3.14 ± 0.28° 19.70 ± 1.23° reportados en la literatura L: 70.05 a 86.43 La misma letra en la misma fila indica que no hay diferencia significativa (p> 0.05) • a\*: -3,25 a 1.05 • b\*: 20.80 a 28.46 Fernandes & Mellado, 2017 **UDLAP**

**Figura 53**. Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 6 de 10

## RESULTADOS. ESTABILIDAD DE LA EMULSIÓN

- · Los productos comerciales tienen más aditivos en su composición en contraste con la CM
- La CM en el presente trabajo mostró una mayor estabilidad que un estudio anterior (38-40%)

Estabilidad de las mayonesas				
SM	99.37 % ± 0.7			
VM	99.1 % ± 0.9			
СМ	49.16 % ± 1.1			

\*Mayonesa estándar (SM)
\*Mayonesa vegana (VM)
\*Mayonesa de aceite de chia (CM)

**Figura 54.** Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 7 de 10



**Figura 55.** Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 8 de 10

#### CONCLUSIÓN

- Se desarrolló una mayonesa vegana utilizando diferentes componentes de la semilla de chía
- El producto obtenido sustituyó a la yema de huevo (mucílago + aceite)
- Eliminación del uso de grasas saturadas e ingredientes animales
- · Buscar mayor aceptación y mejor estabilidad



# **UDLAP**

**Figura 56.** Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 9 de 10

#### REFERENCIAS

- Bin Wang, Yulan Jiang, Jing Liu, Wenqin Zhang, Saikun Pan & Yin Mao. 2014. Physicochemical and Functional Properties of Tea Protein. International Journal of Food Properties, 17(10). 2275-2283. Doi.org/10.1080/10942912.2013.787537
- Fernandes, S. S., & Mellado, M. de las M. S. 2017. Development of Mayonnaise with Substitution of Oil or Egg Yolk by the Addition
  of Chia (Salvia Hispánica L.) Mucilage. Journal of Food Science, 83(1), 74–83. Doi:10.1111/1750-3841.13984
- Cornelia, M., Siratantri, T., & Prawita, R. 2015. The Utilization of Extract Durian (Durio zibethinus L.) Seed Gum as an Emulsifier in Vegan Mayonnaise. Procedia Food Science, 3, 1–18. Doi: 10.1016/j.profoo.2015.01.001
- Julio, L. M., Copado, C. N., Diehl, B. W. K., Ixtaina, V. Y., & Tomás, M. C. 2018. Chia bilayer emulsions with modified sunflower lecithins and chitosan as delivery systems of omega-3 fatty acids. LWT - Food Science and Technology 89, 581–590. Doi:10.1016/j.lwt.2017.11.044
- Kostansek, E. 2012. Emulsions. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. Doi:10.1002/0471238961.0513211206180902.a01.pub3
- McClements, D. J. 2015. Food emulsions: Principles, practices, and techniques. CRC press.
- Razavi, S. M. A. 2019. Introduction to Emerging Natural Hydrocolloids. Emerging Natural Hydrocolloids, 1–52. Doi:10.1002/9781119418511.ch1
- Soukoulis, C., Gaiani, C., & Hoffmann, L. 2018. Plant seed mucilage as emerging biopolymer in food industry applications. Current Opinion in Food Science, 22, 28–42. Doi:10.1016/j.cofs.2018.01.004

# **UDLAP**

**Figura 57**. Presentación desarrollada para la presentación oral del XXI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Diapostiva 10 de 10