



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

---

**Caracterización de compuestos químicos de semilla de  
guayaba mexicana para generar alternativas  
tecnológicas de aprovechamiento como ingredientes  
funcionales en alimentos.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
INGENIERA EN ALIMENTOS**

**P R E S E N T A:  
YOLANDA HERRERA TRUJILLO.**

**A S E S O R A:  
M. EN C. SELENE PASCUAL  
BUSTAMANTE.**

**C O A S E S O R A:  
DRA. MARÍA ANDREA TREJO  
MÁRQUEZ.**

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. MÉXICO

2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U.N.A.M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA**  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis.**

**Caracterización de compuestos químicos de semilla de guayaba mexicana para generar alternativas tecnológicas de aprovechamiento como ingredientes funcionales en alimentos.**

Que presenta la pasante: Yolanda Herrera Trujillo

Con número de cuenta: 311218552 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

**ATENTAMENTE**

**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 01 de Marzo de 2019.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
<b>VOCAL</b>	I.A. Miriam Alvarez Velasco	
<b>SECRETARIO</b>	M. en C. Selene Pascual Bustamante	
<b>1er. SUPLENTE</b>	M. en C. Ana Elvia Sánchez Mendoza	
<b>2do. SUPLENTE</b>	Dra. Alma Adela Lira Vargas	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga\*



El presente trabajo fue financiado por el proyecto PAPIIT:  
«Desarrollo Tecnológico para el Aprovechamiento Integral  
de Frutas y Hortalizas» (IT201216) de la Dirección General  
de Asuntos del Personal Académico, UNAM.

---



Para alguien que le hubiera gustado ver mi más grande sueño hecho realidad...

Hasta el cielo, con amor.

Para ti Mando.

---



## AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por todo lo que he recibido en el pasado, por lo que me da día a día y por todo lo que está por llegar.

A mis papás **Alfredo y Consuelo**, porque siempre han sido un ejemplo para mí. Gracias a ello estoy alcanzado mis metas con mucho orgullo. Les debo un eterno agradecimiento y mi retribución total por su gran amor.

A mis hermanos **Yessi y Jona** por hacerme sentir tan orgullosa, tan valorada y tan querida, gracias por ser un pilar fundamental en mi vida, por siempre estar para mí. Los quiero.

A mis sobrinos **Deni e Ian** por ser mi más grande motivación ya que honestamente encontré nuevos caminos para elegir lo que quiero en mi futuro. Estar bien, estar feliz, haber realizado mis metas y tener la oportunidad de ayudar a que nada les falte.

A mis **familias Herrera y Trujillo** por su apoyo incondicional, por estar a mi lado, por haberme enseñado cómo vivir correctamente y por brindarme todo su cariño.

A **Gonzalo** por llegar a mi vida en el momento indicado y regalarme cada instante de felicidad que vivo y ser conmigo la persona que jamás imaginé que podría tener.

A **Asgard** por tantos años de amistad y por siempre motivarme e inspirarme a ser mejor persona, por tener las palabras adecuadas cuando necesito ser escuchada y sobre todo por creer en mí. Te voy a querer eternamente.

A **Zaid** por brindarme su amistad, aconsejarme y motivarme siempre de principio a fin a realizar el primer gran logro de mi vida, mi tesis.

A la **UNAM** por forjarme como una persona íntegra, por creer en mí y por brindarme las mejores oportunidades de mi vida, por respaldarme en cada paso que doy; todo esto sin pedir mucho a cambio.

---



A mis *profesores* por todas sus enseñanzas y por ayudarme a desarrollar todas mis habilidades, en especial a la **I.A. Laura Cortázar** por siempre apoyarme en los momentos más difíciles de mi vida y no dejarme sola.

A mis *amigos* nacionales e internacionales, por sembrar en mí esas ganas inquebrantables de vivir todo lo que me toque vivir.

A la **Dra. Andrea** y a **Selene** por su apoyo incondicional en la realización de mi tesis, por creer en mí, por escucharme y sobre todo por permitirme tener las más grandiosas experiencias de vida.

A mis *sinodales* por el tiempo dedicado a la revisión de mi tesis, por los consejos y por compartir sus conocimientos a lo largo de mi trayectoria universitaria.

A mi *familia postcosecha*, a **David** y **Adela** por compartir sus conocimientos, por alentarme y creer en mí; y a todos los chicos del laboratorio por compartir aventuras extraordinarias enseñarme el significado de la amistad.

---

# ÍNDICE

RESUMEN .....	1
1. INTRODUCCIÓN .....	2
2. ANTECEDENTES .....	4
2.1 Generalidades de la guayaba .....	4
2.1.1 Taxonomía, morfología y variedades.....	4
2.1.2 Producción y comercialización internacional y nacional.....	7
2.1.3 Composición química y valor nutritivo .....	8
2.1.4 Industrialización de la guayaba .....	9
2.1.5 Residuos de la guayaba .....	10
2.2 Descripción y función de macronutrientes y micronutrientes.....	12
2.2.1 Lípidos .....	12
2.2.2 Proteínas.....	14
2.2.3 Carbohidratos .....	16
2.2.4 Fibra cruda.....	16
2.2.5 Cenizas.....	19
2.3 Compuestos bioactivos .....	20
2.3.1 Propiedades de los compuestos polifenólicos .....	20
2.3.2 Aplicaciones de los extractos vegetales. ....	21
2.4 Ingredientes funcionales utilizados en alimentos.....	22
3. OBJETIVOS .....	24
3.1 Objetivo General .....	24
3.2 Objetivos Particulares.....	24
4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	25
4.1 Cuadro metodológico .....	25
4.2 Material biológico y tratamiento de la muestra.....	26
4.3 Caracterización química de la semilla de guayaba mexicana .....	26
4.4 Identificación del perfil de ácidos grasos presente en el aceite de semilla de guayaba.....	26
4.5 Caracterización de las proteínas presentes en la semilla de guayaba.....	27
4.5.1 Caracterización de la fracción proteica glutelina.....	29
4.6 Evaluación de la actividad inhibitoria de los extractos de semilla de guayaba sobre las bacterias <i>Salmonella typhi</i> y <i>Escherichia coli</i> . ....	29

4.6.1 Obtención del extracto etanólico .....	29
4.6.2 Activación de las cepas de <i>Salmonella typhi</i> y <i>Escherichia coli</i> . .....	30
4.6.3 Pruebas <i>in-vitro</i> de <i>Salmonella typhi</i> y <i>Escherichia coli</i> . .....	31
4.7 Técnicas analíticas empleadas .....	32
4.7.1 Cuantificación de fenoles totales del extracto etanólico.....	32
4.7.2 Determinación de extracto etéreo .....	33
4.7.3 Determinación de Nitrógeno total por método de MicroKjedahl .....	34
4.7.4 Determinación de cenizas.....	35
4.7.5 Determinación de fibra cruda .....	35
4.7.6 Determinación de humedad .....	37
4.7.7 Cuantificación de carbohidratos .....	38
4.8 Tratamiento estadístico empleado .....	38
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	39
5.1 Evaluación de la composición química y cuantificación de la fibra dietética de la semilla de guayaba mexicana .....	39
5.2 Identificación del perfil de ácidos grasos que se encuentra presente en la semilla de guayaba mexicana. ....	42
5.3 Fraccionamiento y cuantificación de la proteína de la semilla de guayaba. ....	44
5.3.1 Caracterización la fracción mayoritaria de glutelinas mediante un perfil de aminoácidos.....	45
5.4 Evaluación del contenido de fenoles en los extractos obtenidos de la semilla de guayaba.....	47
5.5 Pruebas de sensibilidad antimicrobiana.....	49
5.6 Propuesta tecnológica para la aplicación y uso de aceites, proteínas, fibra y compuestos bioactivos obtenidos de la semilla de guayaba como ingredientes funcionales en el desarrollo y conservación de alimentos. ....	53
6. CONCLUSIONES .....	56
7. PERSPECTIVAS.....	57
8. ANEXOS .....	58
8.1 Cromatograma de aceite de semilla de guayaba. ....	58
9. REFERENCIAS .....	59

# ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Estructura de una guayaba.
- Figura 2.** Producción en toneladas de guayaba de los principales estados de la República.
- Figura 3.** Principales productos industrializados elaborados con guayaba.
- Figura 4.** Resumen de desperdicio de guayaba en México.
- Figura 5.** Estructuras químicas de los principales componentes de la fibra.
- Figura 6.** Estructuras químicas de los ácidos elágico, clorogénico y *P*-cumárico, respectivamente.
- Figura 7.** Cuadro metodológico.
- Figura 8.** Tratamiento de la muestra de semilla de guayaba.
- Figura 9.** Cromatógrafo de gases Trace GC 2000 series, empleado para la determinación del perfil de ácidos grasos.
- Figura 10.** Secuencia de extracción empleada para el fraccionamiento de Osborne.
- Figura 11.** Diagrama de proceso para la obtención de extracto etanólico de la harina de semilla de guayaba.
- Figura 12.** Simulación del procedimiento de diluciones.
- Figura 13.** Procedimiento empleado para las pruebas in-vitro.
- Figura 14.** Espectro Velab empleado para la determinación de fenoles totales.
- Figura 15.** Montaje de destilador Soxhlet, donde realiza la extracción de manera automática, con el mismo solvente que se evapora y condensa.
- Figura 16.** Filtración al vacío con un embudo Büchner en un matraz kitasato.
- Figura 17.** Termobalanza BM utilizada para la determinación de humedad.
- Figura 18.** Contenido de fenoles en la semilla de guayaba en muestra con partícula fina (<800 micras) y con partícula gruesa (>800 micras) obtenidos por ultrasonido a 30 y 60 minutos.
- Figura 19.** Contenido de fenoles en los extractos de la semilla de guayaba en muestra con partícula fina (<800 micras) y con partícula gruesa (>800 micras) obtenidos por maceración en frío.
- Figura 20.** Prueba de sensibilidad antimicrobiana del extracto de semilla en el estado maduro e inmaduro de guayaba frente a *Salmonella typhi* (A) y *E. coli* (b), con diferentes concentraciones 50, 100 y 150 ppm de extracto.



**Figura 21.** Propuestas tecnológicas de la semilla de guayaba mexicana.

**Figura 22.** Cromatograma general de una muestra de aceite de semilla de guayaba mexicana y de una mezcla de estándares.



# ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** Morfología del guayabo.

**Tabla 2.** Variedades de guayaba obtenidas por el método de selección individual de huertas comerciales de la región Calvillo-Cañones.

**Tabla 3.** Composición química de la guayaba en estado maduro e inmaduro por 100 gramos de porción comestible.

**Tabla 4.** Contenido nutricional de la semilla de guayaba.

**Tabla 5.** Ácidos grasos más comunes en alimentos.

**Tabla 6.** Clasificación de las proteínas por sus propiedades físicas y su solubilidad.

**Tabla 7.** Función de los nutrimentos inorgánicos.

**Tabla 8.** Componentes químicos de la semilla de guayaba.

**Tabla 9.** Fracciones proteicas de la semilla de guayaba mexicana.

**Tabla 10.** Análisis de aminoácidos presentes en la fracción proteica glutelinas de la semilla de guayaba.

**Tabla 11.** Prueba *in-vitro* del extracto de semilla de guayaba en *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*.

# RESUMEN



## RESUMEN

En la industrialización de la guayaba se obtienen hasta 120 kg de semilla por tonelada de fruta procesada; la cual es desechada sin darle ningún valor. Por lo que el objetivo de este trabajo fue caracterizar las semillas de guayaba mexicana (*Psidium guajava*) evaluando su composición química, perfil de ácidos grasos, solubilidad de proteínas y capacidad antimicrobiana para generar propuestas de aprovechamiento como ingrediente en el desarrollo de alimentos funcionales. Para la obtención de semillas se emplearon guayabas maduras, a las cuales se les retiraron las semillas que posteriormente fueron secadas a 60°C por 48h y así evitar reacciones de pardeamiento enzimático, se molieron a tamaño (<800 micras) de partícula, se evaluó la capacidad antimicrobiana obteniendo un extracto etanólico; del cual se determinó su potencial como agente inhibitorio de bacterias (*Escherichia coli* y *Salmonella typhi*), así como el análisis bromatológico para identificar cuáles eran los componentes de mayor presencia en las semillas y con ello poder determinar sus posibles aplicaciones. También a estas fracciones mayoritarias se les determinaron los componentes presentes en ellas. De los resultados obtenidos se observó que el componente mayoritario en la semilla fue la fibra cruda con un 61 y 50% de fibra dietética, mientras que el contenido de lípidos fue de alrededor del 12% y los ácidos grasos en mayor proporción que los componentes son el oléico y el esteárico, y de las proteínas (3%), la fracción mayoritaria fueron las glutelinas, las cuales se consideran proteínas de reserva y cuyos aminoácidos principales son el ácido glutámico y la tirosina. En cuanto a la evaluación de la capacidad antibacteriana el extracto de semilla de guayaba, inhibió el crecimiento de *Salmonella typhi*, pero no de *Escherichia coli*. Concluyendo que la semilla es una buena fuente de compuestos funcionales.

# INTRODUCCIÓN



# 1. INTRODUCCIÓN

La guayaba (*Psidium guajava*) es una fruta que se encuentra ampliamente distribuida a través de toda América tropical, así como en parte de Asia y África (Nivia *et al.*, 2007). Tiene forma globosa, ovoide o piriforme, de color amarillo-verdoso en su exterior o amarillo claro en plena madurez. El fruto es muy rico en fibra del tipo pectina, con propiedades para prevenir el cáncer digestivo. Contiene polifenoles, antocianinas y flavonoides y 183 mg por 100 g de vitamina C (Pamplona, 2003).

En 2015, las exportaciones en México de este fruto alcanzaron los 14 millones 694 mil dólares, además de que es el quinto productor mundial de este fruto y en el último trienio aumentó 8.2% la producción de guayaba, en México se produce en 18 estados de la república. (SAGARPA, 2017).

Con el desarrollo de la agroindustria se han encontrado muchos productos alimenticios que se pueden elaborar de este fruto, pero cabe señalar que de la transformación de la guayaba se obtienen hasta 120 kilogramos de semillas por tonelada de fruta procesada la cual es desechada sin darle ningún valor (Serna, 2013). Siendo uno de los problemas con los que se enfrenta la industria alimentaria pues los desperdicios generados durante el procesamiento de productos representan una fuente de contaminación.

La semilla de guayaba presenta una composición del 12% de grasa, 1% de cenizas, 68% de fibra cruda, 6% de carbohidratos, 8% de proteína y 5% de agua (Bernardino *et al.*, 2001). Además, las semillas de guayaba producen bacterias ácido-lácticas, extractos y metabolitos, que sirven para controlar diversos microorganismos no deseados, lo que alarga la vida útil de los alimentos (Serna, 2013).

Existen trabajos de investigación en los cuales se busca darle un uso a este residuo y convertirlo en subproducto, por ejemplo: El Tinay *et al.* (2003) y Yassen (1997) proponen que la harina de la molienda de la semilla de guayaba se utilice en la preparación de galletas sustituyendo parte de la harina de trigo; mientras que Bourgeois *et al.* (1998) estudiaron el aceite de la semilla y su utilidad. Por otra parte, Jiménez *et al.* (2001) indican que la fibra de la semilla de guayaba es una fuente de fibra dietaria con actividad antioxidante. También



Bernardino *et al.* (2001) reportan una caracterización bioquímica de la proteína de la semilla y sus características funcionales. Vasco *et al.* (2002) reportan el perfil de ácidos grasos de la semilla de guayaba y Soria *et al.* (2004) realizaron la determinación de proteínas de reserva en semillas de selecciones de guayaba (*Psidium guajava* L.).

Pese a que se han realizado investigaciones relacionadas con la caracterización de la semilla de guayaba, existen factores que pueden inferir en los resultados de dichos trabajos, tales como el lugar de procedencia, la variedad y el estado fisiológico del fruto; así como el tratamiento de la muestra y los métodos empleados para la obtención de los diferentes componentes químicos. Además, es de gran utilidad para la industria alimentaria ampliar los resultados que se han obtenido sobre este tema y contar con un mapa tecnológico que describa las diferentes opciones de uso como ingredientes funcionales a los componentes químicos identificados y caracterizados de la semilla de este fruto de gran importancia en México.

Por lo anteriormente mencionado, el objetivo de esta investigación es caracterizar las semillas de guayaba mexicana (*Psidium guajava*) evaluando su composición química, perfil de ácidos grasos, solubilidad de proteínas y aminoácidos presentes, fibra dietética y capacidad antimicrobiana para generar propuestas de aprovechamiento como ingrediente funcional en el desarrollo y conservación de alimentos.

# ANTECEDENTES



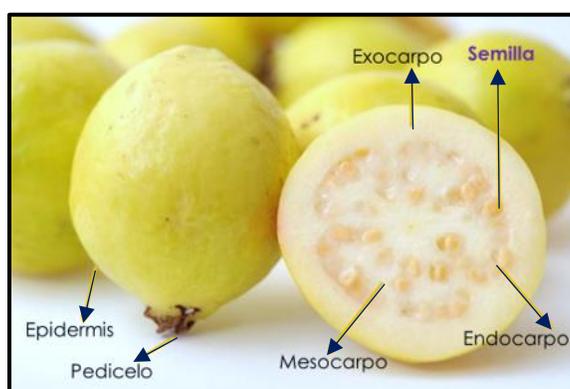
## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Generalidades de la guayaba

#### 2.1.1 Taxonomía, morfología y variedades

El guayabo o árbol de guayaba pertenece al Reino Vegetal, División *Magnoliophyta*, Clase *Angiospermae* o *Magnoliopsida*, Subclase *Dicotyledonea*, Orden *Mirtales* o *Myrtiflorae*, Familia *Myrtaceae*, Género *Psidium*, Especie *Psidium guajava* L. (Morton, 1987). El nombre genérico de *Psidium* proviene del griego *psidion* que significa granada, por la aparente semejanza de los frutos. El nombre específico de *guajava* es una palabra indígena originada de la voz haitiana *gyayaba*, la cual fue tomada por los españoles y luego, con algunas modificaciones, pasó a otros idiomas (Gómez, 2009).

Es un arbusto o árbol de cuatro a diez metros de altura, con la corteza lisa y de color café. Tiene las hojas duras, ovadas, con el reverso vellosa y las nervaduras realzadas. Las flores son solitarias, blancas o crema, olorosas y con muchos estambres. Sus frutos son globosos, con olor fragante y la pulpa es de color amarillo o rosa, con numerosas semillas (Figura 1), en la Tabla 1 se muestra una amplia descripción de los componentes del guayabo. Cada parte del árbol de guayaba puede ser aprovechada (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).



**Figura 1. Estructura de una guayaba.**

La guayaba se considera una planta medicinal considerada de calidad caliente, tiene gran importancia en la actualidad. De hecho, se usa en el tratamiento de más de 40 padecimientos que afectan la salud de los mexicanos en diferentes áreas del país, entre ellos se pueden citar

las enfermedades gastrointestinales (principalmente la diarrea) y las afecciones de la piel (como caída del cabello, granos, salpullido, jiotos, acné, prurito, sarampión, escarlatina y sarna) (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).

**Tabla 1. Morfología del guayabo.**

Componente	Descripción
<p><b>Raíz</b></p> 	<p>Raíz que proporciona un buen anclaje, esta da origen a las raíces secundarias, las cuales proliferan en gran cantidad y se encuentran cerca de la superficie del suelo. Las raíces de la planta de guayaba puede soportar la humedad durante periodos cortos, si el tiempo se prolonga pueden morir por asfixia.</p>
<p><b>Tallo</b></p> 	<p>Al principio es herbáceo, presentando aristas y un color verde, a medida que madura se vuelve leñoso y desaparecen las aristas y es de color café, alcanza alturas entre los 3 y 9 metros. La corteza es delgada y lisa que cuando envejece se desprende en láminas, contiene entre un 13 a 15% de taninos.</p>
<p><b>Ramas</b></p> 	<p>En cada nudo existe un par de hojas, y en la base de estas se encuentra una yema vegetativa, la cual, tras un estímulo, brota y se transforma en rama, estas son de color verde o rojizo y posteriormente toman un color café.</p>
<p><b>Hojas</b></p> 	<p>Son de color verde oscuro, se desarrollan en pares cada nudo y están dispuestas en forma opuesta. Las hojas tiernas se encuentran en la posición vertical con lo que reducen el daño a la exposición solar, y cuando maduran se vuelven horizontales para tener una mayor exposición al sol.</p>
<p><b>Flores</b></p> 	<p>Son flores hermafroditas reunidas en inflorescencias racimosas.</p>
<p><b>Fruto</b></p> 	<p>Es una baya, que según la variedad puede ser redondo o en forma de pera, cáscara de color verde amarillo a amarillo rosado, pulpa de color blanco, amarilla o rosada, pesan entre 50 gramos hasta 1 kilogramo. Presenta un crecimiento doble sigmoide o sea que tiene dos puntos máximos de crecimiento: al inicio del desarrollo y después de la maduración de las semillas. Internamente el fruto posee de cuatro a cinco lóbulos, en los cuales se encuentran las semillas, en total un fruto puede tener de 218 a 375, la viabilidad de la semilla se pierde rápidamente, pudiendo perder en un año hasta un 60%. Por su tasa de respiración se clasifica como un fruto climatérico.</p>

**Fuente: García (2010).**

Existen diferentes variedades de guayaba en México. Actualmente se han desarrollado cinco nuevas: Calvillo Siglo XXI, Huejucar, Hidrozac, Caxcana y Merita (Tabla 2), registradas en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (CNVV) del Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS) (INIFAP, 2016).

**Tabla 2. Variedades de guayaba obtenidas por el método de selección individual de huertas comerciales de la región Calvillo-Cañones.**

Variedad	Descripción
<p><b>Calvillo Siglo XXI</b></p> 	<p>Pulpa crema, de forma ovoide de 60 a 80 g, de 4.5 a 5.0 cm de diámetro ecuatorial, 6 a 8 mm de grosor de casco, con un promedio de 190 a 210 semillas por fruto y de 12 a 14 °Brix. La época de producción es de octubre a diciembre y un período de 145 a 155 días de flor a inicio de cosecha. Produce frutos similares a los del tipo “media china”.</p>
<p><b>Huejucar</b></p> 	<p>Pulpa jaspeada rosa pálido-crema, de forma ovoide de 80 a 100 g, de 4.8 a 5.5 cm de diámetro ecuatorial; 7 a 8 mm de grosor de pulpa, con un promedio de 175 a 200 semillas por fruto y de 12 a 14 °Brix. La época de producción es de octubre a diciembre, con un periodo de 135 a 145 días de flor a inicio de cosecha.</p>
<p><b>HidroZac</b></p> 	<p>Pulpa rosa, de forma truncada-aperada de 90 a 110 g, de 5.0 a 5.5 cm diámetro ecuatorial, 10 a 12 mm de grosor de pulpa, de 200 a 230 semillas por fruto y de 11 a 13 °Brix. La época de producción es de noviembre a diciembre, con un período de cosecha más tardío de 170 a 185 días de flor a inicio de cosecha.</p>
<p><b>Caxcana</b></p> 	<p>Pulpa blanca, de forma redonda, de 75 a 95 g, de 4.8 a 5.5 cm de diámetro ecuatorial, 8 a 9 mm de grosor de casco, con un promedio de 300 a 310 semillas por fruto y de 11 a 13 °Brix. La época de cosecha es de octubre a diciembre, con un período de 145 a 155 días de flor a inicio de cosecha.</p>
<p><b>Merita</b></p> 	<p>Pulpa crema, de forma ovoide, de 60 a 80 g, de 4.5 a 5.0 cm de diámetro ecuatorial, 7 a 8 mm de grosor de casco, con un promedio de 150 a 170 semillas por fruto y de 12 a 14 °Brix. La época de cosecha es de octubre a diciembre, con un período de 145 a 155 días de flor a inicio de cosecha. La variedad Merita, produce frutos similares a los del tipo “media china”.</p>

**Fuente: INIFAP (2016).**

## 2.1.2 Producción y comercialización internacional y nacional

La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) en el año 2017 informó que de los años 2014 a 2017, la producción de guayaba en México aumentó en 8.2 %, lo que permite consolidar al país como el quinto productor mundial de este fruto.

Durante el periodo de enero a octubre de 2017, la producción de guayaba en el país alcanzó las 224 mil 841 toneladas, lo que representa un incremento en términos de volumen de aproximadamente 17 mil toneladas, en comparación con el mismo lapso de 2014. En términos anuales, la producción de este fruto se incrementó 3.8%, al pasar de 216 mil 649 toneladas en 2015 a más de 224 mil reportadas en los primeros 10 meses de este año. También informó que de 2014 a 2016 (enero-octubre), la producción registró una Tasa Media de Crecimiento Anual (TMCA) de 3.8%, derivado de una mayor actividad y productividad en entidades del centro del país.

Con respecto a la producción de guayaba, ésta se efectúa principalmente en 18 estados de la República Mexicana, estos son: Aguascalientes, Baja California Sur, Colima, Chiapas, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Puebla, Querétaro, Tabasco, Veracruz y Zacatecas (SAGARPA, 2017). En la Figura 2, se representa la producción de los cuatro principales estados.



**Figura 2. Producción en toneladas de guayaba de los principales estados de la República.**

**Fuente: SAGARPA (2017).**

En volumen, los cuatro más importantes son Michoacán con una producción de 117 mil 322 toneladas, Aguascalientes con 53 mil 536 toneladas, Zacatecas con 36 mil 949 toneladas y Estado de México con 10 mil 430 toneladas. Estas cuatro entidades tienen una participación cercana al 97% de la producción y sólo Michoacán aporta más del 50 por ciento del volumen nacional, lo que equivale a 218 mil 237 toneladas (SAGARPA, 2017).

Así mismo, las exportaciones de este fruto alcanzaron los 14 millones 694 mil dólares al distribuirse a diversos destinos como Canadá, Estados Unidos, Guatemala, Rusia, Japón, Inglaterra, Francia y España, entre otros. Los meses de mayor disponibilidad de guayaba en México son de octubre a noviembre, cuando se obtiene alrededor del 41 por ciento de la producción nacional.

### 2.1.3 Composición química y valor nutritivo

La guayaba es una fruta fresca muy hidratada, por lo que contiene un alto porcentaje de agua y menor de nutrientes, aunque estos no sean muy abundantes, da una proporción muy equilibrada.

A continuación, en la Tabla 3 se presenta la composición química del fruto de la guayaba.

**Tabla 3. Composición química de la guayaba en estado maduro e inmaduro por 100 gramos de porción comestible.**

Componente	Guayaba madura	Guayaba verde
Agua (%)	83.10	71.20
Proteína (g)	0.80	1.0
Grasa Total (g)	0.60	1.20
Carbohidratos (g)	8.90	20.9
Fibra Dietética Total (g)	5.68	4.90
Ceniza (g)	0.92	0.80

**Fuente: INCAP (2012).**



La guayaba es una excelente fuente de ácido ascórbico con valores arriba de 100 mg/100 g. También es una excelente fuente de niacina, la porción comestible contiene más de 1 mg/100 g. Contiene calcio, hierro, fósforo, vitaminas como la riboflavina y fibra (Jagtiani *et al.*, 1988). Este fruto destaca por su alto contenido de Vitamina C y de Potasio, como se muestra en las Tablas de Composición de Alimentos de Centro América 2012 del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS).

En 2007, el artículo denominado Great Guava, publicado en la revista *Agricultural Research* por investigadores del Servicio de Investigación Agrícola (ARS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, muestran que la carambola, pitahaya roja y mamey tienen niveles muy altos de compuestos antioxidantes llamados "fenólicos"; concluyendo que la fruta que tiene los niveles más altos de antioxidantes es la guayaba, habiéndose descrito que poseen diversos efectos biológicos, como: antialérgicas, antiinflamatorias, hepatoprotectoras, anticancerígenas, entre otras. Estudios de índole experimental muestran que el consumo de frutas y verduras está relacionado a una menor incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles y envejecimiento (Palomino *et al.*, 2009).

#### **2.1.4 Industrialización de la guayaba**

Debido a que el fruto de la guayaba es altamente perecedero, su comercialización como fruta fresca presenta cierta dificultad en cuanto a su manejo ya que la guayaba madura es muy frágil y se deteriora muy fácilmente por daños mecánicos, sobre maduración, siendo la alternativa más viable su industrialización (Marín, 1998).

Por motivo de que una vez cosechada el proceso de respiración continúa, es conveniente que el período entre la cosecha y el procesamiento se lo más corto posible a fin de preservar las características organolépticas del producto. El primer paso es la selección por lo que conviene uniformar el producto de acuerdo a los criterios que la planta procesadora tenga variedad.

En cuanto a la clasificación los factores más importantes son tamaño, uniformidad, color, composición química, superficies cortadas o no, enfermedades, mohos, contenido de humedad y textura (Marín, 1998). Algunos productos que se podrían elaborar industrialmente se muestran en la Figura 3:



**Figura 3. Principales productos industrializados elaborados con guayaba.**

### 2.1.5 Residuos de la guayaba

Los frutos de guayaba que no fueron comercializados en fresco ni industrializados, son desperdiciados. Datos del Índice de Desperdicio de Alimentos en México de la Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL) muestran que la guayaba es el alimento más desperdiciado, pues el 57.7 por ciento de la fruta se pierde. En la Figura 4 se puede observar los kilogramos de guayaba que se le podría dar a la gente por semana a partir de las toneladas de desperdicio generadas.



**Figura 4. Resumen de desperdicio de guayaba en México.  
Fuente: SEDESOL (2017).**

Cabe señalar que se obtienen 1275 toneladas anuales de fruta procesada (González *et al.*, 2002) y de la transformación de estas se obtienen hasta 120 kilogramos de semillas por tonelada (Serna, 2013) las cuales solo son desechadas. Siendo uno de los problemas con los

que se enfrenta la industria alimentaria pues los desperdicios generados durante el procesamiento de productos representan una fuente de contaminación.

### 2.1.5.1 Semillas de guayaba

Las semillas representan 12g/100g de peso de la fruta y la mayoría de las veces se descartan; sin embargo, este material vegetal tiene un alto valor nutricional, proteína cruda de 9.7% y una digestibilidad mayor que la de soya (Bernardino *et al.*, 2001).

Las semillas contienen cantidades variables de nutrientes que las plantas utilizan para su germinación y establecimiento en suelo. Estos nutrientes pueden ser utilizados por el hombre en lugar de ser desechados sin ninguna utilidad (Lawrence *et al.*, 1990)

La longevidad de la semilla de guayaba está determinada por su constitución genética, las características fisiológicas y por daños previos o durante el almacenamiento (Willan, 1991).

#### 2.1.5.1.1 Composición química de la semilla de guayaba

Vasco *et al.*, (2002) caracterizaron bioquímicamente los principales nutrientes presentes en la semilla de guayaba con la finalidad de buscarle alternativas de utilización a la semilla y en la Tabla 4 se muestran los datos que obtuvieron.

**Tabla 4. Contenido nutricional de la semilla de guayaba.**

Fibra	Lípidos	Proteína	Cenizas	Carbohidratos	Humedad
70%	11%				
<b>Fibra total</b>	<b>Ácidos grasos</b>				
Lignina (25%)	Linoléico (79%)	8%	1%	6%	4%
	Palmítico (8%)				
	Oleico (7%)				
Hemicelulosa (65%)	Esteárico (5%)				
	<b>Triglicérido en abundancia</b>				
	Trilinoleína (60%)				

**Fuente: Vasco (2002).**

## 2.2 Descripción y función de macronutrientes y micronutrientes

El consumo de agua y diversos nutrientes es fundamental para el crecimiento, la reproducción y la buena salud (Organización Mundial de la Salud OMS, 2018).

El organismo necesita una mayor cantidad de macronutrientes (gramos) que de micronutrientes para funcionar correctamente. Generalmente, en la categoría de macronutrientes se incluyen el agua, los carbohidratos, las grasas, los ácidos grasos y las proteínas. Los macronutrientes (excepto el agua) también pueden ser llamados nutrientes proveedores de energía. La energía se mide en calorías y es esencial para el crecimiento, reparación y desarrollo de nuevos tejidos, conducción de impulsos nerviosos y regulación de procesos corporales. Los micronutrientes (también llamados oligonutrientes) incluyen los minerales y las vitaminas. A diferencia de los macronutrientes, el organismo los requiere en cantidades muy pequeñas. Estos son extremadamente importantes para la actividad normal del cuerpo y su función principal es la de facilitar muchas reacciones químicas que ocurren en el cuerpo. Los micronutrientes no le proporcionan energía al cuerpo (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO, 2015).

### 2.2.1 Lípidos

La palabra lípido proviene del griego *lipos*, que significa grasa y cuya aplicación no ha sido bien establecida. Los lípidos son grupos de compuestos constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno que integran cadenas hidrocarbonadas alifáticas o aromáticas, aunque también contienen fósforo y nitrógeno. Desempeñan muchas funciones en los tejidos, además de que son la fuente energética más importante, ya que cada gramo genera 9 kcal (38.2 kJ) porque en su estructura contienen más átomos de carbono que las proteínas y los hidratos de carbono que producen 4 kcal/g (17 kJ/g) cada uno; muchos cumplen una actividad biológica, unos son parte estructural de las membranas celulares y de los sistemas de transporte de diversos nutrimentos, otros son ácidos grasos indispensables, vitaminas y hormonas, algunos son pigmentos, etcétera (Badui, 2006).

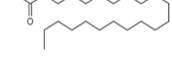
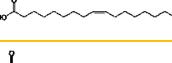
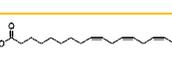
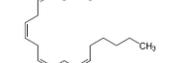
Las grasas y los aceites son los principales lípidos que se encuentran en los alimentos, y contribuyen a la textura y, en general, a las propiedades sensoriales y de nutrición; no hay una distinción entre ambos grupos, aun cuando algunos consideran que las grasas son de origen animal y los aceites de origen vegetal, o bien, las grasas son sólidas a “temperatura ambiente”, mientras que los aceites son líquidos (Badui, 2006).

### 2.2.1.1. Ácidos grasos

Ácidos grasos es el nombre común de los ácidos orgánicos con un único grupo carboxilo (COOH) en el extremo de la cadena y generalmente de cadena lineal. Se conocen unos 70 ácidos grasos (Tabla 5) que se pueden clasificar en dos grupos: saturados (hidrogenados) producidos por la hidrólisis de las grasas e insaturados que tienen una gran reactividad química, ya que son propensos a la saturación y a transformaciones oxidativas y de isomerización (Velázquez y Ordorica, 2000).

Los ácidos grasos son los principales constituyentes de los triglicéridos que son los lípidos alimentarios a los que comúnmente denominamos grasa.

**Tabla 5: Ácidos grasos más comunes en alimentos.**

Nombre trivial	Nombre científico	Fórmula	Estructura
<b>Mirístico</b>	Tetradecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	
<b>Palmítico</b>	Hexadecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	
<b>Estearico</b>	Octadecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	
<b>Araquídico</b>	Eicosanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	
<b>Behénico</b>	Docosanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	
<b>Oleico</b>	Octadeca-9-enoico	$\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOH}$	
<b>Linoleico</b>	Octadeca-9:12-dienoico	$\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOH}$	
<b>Linolénico</b>	Octadeca-9:12:15-trienoico	$\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOH}$	
<b>Araquidónico</b>	Eicosa-5:8:11:14-tetraenoico	$\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{COOH}$	

**Fuente: Badui (2006).**

### 2.2.2 Proteínas

Las proteínas son grandes moléculas de aminoácidos, y se encuentran en los alimentos de origen animal y vegetal. Constituyen los principales componentes estructurales de las células y tejidos del cuerpo. Los músculos y los órganos están formados en gran medida por proteínas. Éstas son necesarias para el crecimiento, el desarrollo y el mantenimiento del cuerpo y para reparar y reemplazar los tejidos gastados o dañados, así como para producir enzimas metabólicas y digestivas. Son, además, un componente esencial de ciertas hormonas (FAO, 2018).

La funcionalidad de una sustancia se define como toda propiedad, nutricional o no, que interviene en su utilización. Este comportamiento depende de las propiedades físicas y químicas que se afectan durante el procesamiento, almacenamiento, preparación y consumo del alimento. Las propiedades funcionales permiten el uso de las proteínas como ingredientes en alimentos, aunque generalmente se incorporan en mezclas complejas. Las características sensoriales resultan de más importancia para el consumidor que el valor nutricional, el que frecuentemente se altera para lograr buenas cualidades organolépticas, como textura, sabor, color y apariencia, las que a su vez son el resultado de interacciones complejas entre los ingredientes (Badui, 2006).

Las proteínas son componentes esenciales de todas las células vivas. Su misión en el organismo es de dos tipos: una de tipo estructural, formando parte del propio organismo y otra de tipo funcional. Por ello no existe un sistema universal para su clasificación, pueden clasificarse atendiendo a su composición, a sus propiedades físicas y su solubilidad en soluciones acuosas u orgánicas (Tabla 6), su forma global, su estructura tridimensional o su función biológica (Garrido y Teijón, 2009).

La industria alimentaria se encuentra a la búsqueda de proteínas alternativas que puedan competir con las que actualmente dominan el mercado y que posean características nutritivas, funcionales y sensoriales adecuadas para utilizarse en el desarrollo de nuevos productos alimenticios (Pszczola, 2004). Esta búsqueda se centra más hacia las proteínas vegetales, que tradicionalmente han desempeñado un papel importante en la nutrición humana,

particularmente en países en desarrollo donde el consumo promedio de proteína es menor al requerido para garantizar un buen estado nutricional (Khalid *et al.*, 2003).

**Tabla 6. Clasificación de las proteínas por sus propiedades físicas y su solubilidad.**

Subclase	Descripción
<b>Albúminas</b>	Son solubles en agua y soluciones salinas diluidas. Coagulan por el calor. Precipitan en disolución con sulfato amónico a saturación.
<b>Globulinas</b>	Coagulan por el calor. Precipitan con sulfato amónico por semisaturación. Solubles en soluciones de ácidos y bases fuertes.
<b>Glutelinas</b>	<b>Solubles en soluciones de ácidos y bases diluidas. Insolubles en disolventes neutros. Coagulan por el calor. Se encuentran en el trigo.</b>
<b>Prolaminas</b>	Solubles en alcohol al 70 o 80%. Insolubles en agua, disolventes neutros y alcohol absoluto. No son coagulables por el calor. Son ricas en prolina, de ahí su nombre.
<b>Protaminas</b>	Solubles en agua y en amoniaco diluido. No coagulan por el calor. Son polipéptidos básicos.
<b>Histonas</b>	Solubles en agua y ácidos diluidos. Insolubles en amoniaco diluido. No coagulan por el calor. Son muy básicas.
<b>Escleroproteínas</b>	Insolubles en agua, soluciones salinas, ácidos y bases diluidos y alcohol. Forman parte de los tejidos de sostén y revestimiento, poseen una estructura fibrosa.

**Fuente: Garrido y Teijón (2009).**

La industria alimentaria se encuentra a la búsqueda de proteínas alternativas que puedan competir con las que actualmente dominan el mercado y que posean características nutritivas, funcionales y sensoriales adecuadas para utilizarse en el desarrollo de nuevos productos alimenticios (Pszczola, 2004). Esta búsqueda se centra más hacia las proteínas vegetales, que tradicionalmente han desempeñado un papel importante en la nutrición humana, particularmente en países en desarrollo donde el consumo promedio de proteína es menor al requerido para garantizar un buen estado nutricional (Khalid *et al.*, 2003).



La forma más común de comercializar estas fuentes proteicas es la producción de aislados proteicos que tienen diversas aplicaciones como ingredientes y aditivos alimentarios y cuyas propiedades dependen del número y tipo de proteínas presentes, así como de su pureza (Badui, 2006).

### 2.2.3 Carbohidratos

Como indica su nombre, los carbohidratos (CHO) son compuestos formados por carbono, hidrógeno y oxígeno, presentan la fórmula general  $C_x(H_2O)_n$ , y tienen estructura de polihidroxialdehído o de polihidroxiacetona; además, todos los carbohidratos presentan grupos funcionales  $C=O$  u  $-OH$ ; son los compuestos orgánicos más abundantes en la naturaleza, y también los más consumidos por los seres humanos (Badui, 2006).

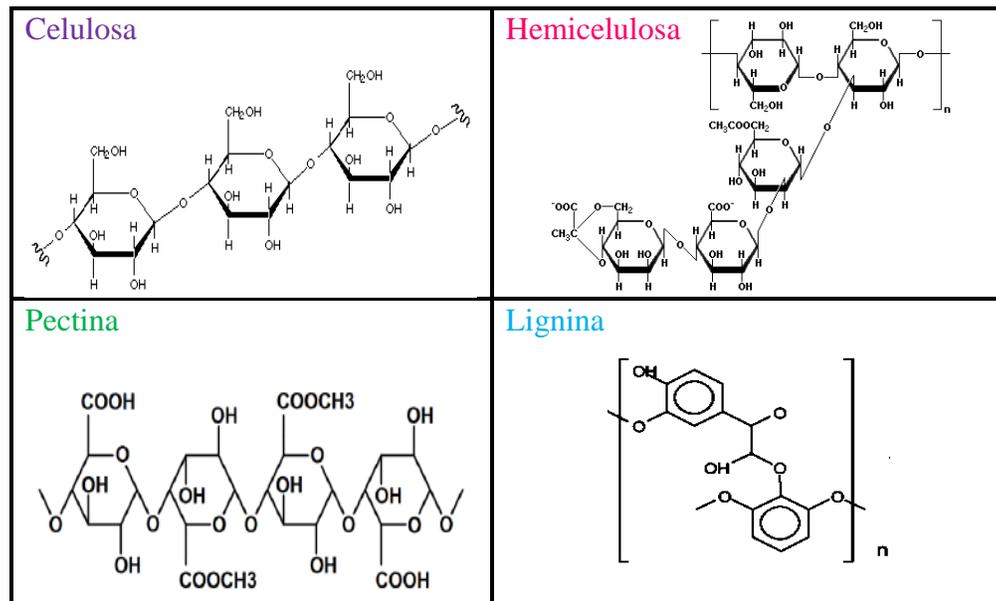
Los hidratos de carbono que provienen del reino vegetal son más variados y abundantes que los del reino animal; se originan como producto de la fotosíntesis y son los principales compuestos químicos que almacenan la energía radiante del Sol. Existe un gran número de hidratos de carbono; los más conocidos son la sacarosa, la glucosa, la fructosa, el almidón y la celulosa. También hay otros que, aunque se encuentran en menor concentración en los productos que consumimos diariamente, tienen mucha importancia por sus propiedades físicas, químicas y nutrimentales. Si bien en la antigüedad gran parte de estos carbohidratos se consideraba un desperdicio, en la actualidad se les utiliza para elaborar un sinnúmero de alimentos (fibras y gomas) (Badui, 2006).

Es recomendable preferir los alimentos que contienen hidratos de carbono complejos, como cereales, pastas y legumbres. Estos además contienen fibra, que tiene efectos beneficiosos para la digestión, disminuye el aporte energético total de la alimentación y ayuda a disminuir los niveles de colesterol y de azúcar en la sangre. Por estas razones se considera que los alimentos ricos en fibra ayudan a prevenir la obesidad, las enfermedades cardiovasculares y algunos cánceres (FAO, 2015).

### 2.2.4 Fibra cruda

La fibra está constituida por los componentes estructurales de las paredes celulares de los vegetales, entre los que destacan la celulosa, la hemicelulosa y las pectinas; también se

incluye entre estos compuestos la lignina que, aun cuando no es un hidrato de carbono, sino más bien una cadena de compuestos fenólicos como la vanilina, el aldehído siríngico y los alcoholes coniferílico, sinapílico y cumarílico, siempre se encuentra asociada a ellos y es un compuesto no digerible por el tracto digestivo (Badui, 2006), las estructuras químicas de estos se observan en la Figura 5.



**Figura 5. Estructuras químicas de los principales componentes de la fibra.**

Además de estos compuestos se incluyen dependiendo del material de origen gomas, polisacáridos de algas, pectinas y almidón resistente (normalmente dextrinas límite). El término “fibra” implica insolubilidad, pero la solubilidad de las anteriores sustancias es muy variable. De este modo, la celulosa es totalmente insoluble, las hemicelulosas escasamente solubles y las gomas completamente solubles (Micó, 2014).

De manera general, las fibras se suelen clasificar en función de dos de sus propiedades que son responsables de la mayoría de sus beneficios fisiológicos: comportamiento en contacto con el agua y capacidad de fermentación.

La fibra insoluble o escasamente fermentable y no viscosa cuya característica principal es que sus compuestos debido a su composición química presentan una escasa capacidad para retener agua, formando mezclas de baja viscosidad tanto en el estómago como en el intestino delgado, está compuesta principalmente de lignina (fibras no fermentables, <10%), celulosa



y algunas hemicelulosas (fibras parcialmente fermentables 10-70%), cuyas principales funciones en el tracto intestinal (estómago, intestino delgado y colon) son aumentar el peso y el volumen de las heces, provocar una aceleración del tránsito intestinal teniendo efecto laxante, prevenir estreñimiento, divertículos y hemorroides y aumentar la producción de ácidos grasos de cadena corta (Ramírez, 2017).

La fibra soluble o fermentable y viscosa, son compuestos que forman soluciones muy viscosas en agua en el estómago y en el intestino delgado. La propiedad que presenta de retener agua le proporciona sus efectos fisiológicos, una vez que abandona el estómago y llega al colon, es un sustrato altamente fermentable por la microbiota colónica desencadenando varios efectos beneficiosos, sus componentes son variados como lo son gomas, mucílagos, pectinas, determinadas hemicelulosas, almidón resistente, inulina, fructooligosacáridos y galactooligosacáridos cuyo porcentaje de fibras fermentables >70% (Ramírez, 2017).

La fibra funcional incluye, además: otros polisacáridos no amiláceos o hidratos de carbono análogos como el almidón resistente, diversos oligosacáridos como la inulina y disacáridos, compuestos asociados a las estructuras vegetales, macronutrientes como proteínas y grasa resistentes al ataque de enzimas digestivas y compuestos bioactivos como carotenos, fitoesteroles o polifenoles (Zarzuelo y Gálvez, 2010).

#### **2.2.4.1 Fibra dietética**

Se conoce como fibra dietética a los componentes endógenos de las plantas, polisacáridos no almidón y lignina, que son resistentes a la digestión por las enzimas digestivas de los humanos. La fibra dietética se puede clasificar según diferentes criterios: origen botánico, naturaleza química de sus componentes, relación con la estructura de las paredes celulares, por las distintas características que las definen, por su composición química, por su situación en la planta o sus propiedades físico-químicas (Fernández, 2010).

De acuerdo con el Comité de Expertos FAO/OMS, la recomendación diaria de fibra dietética total para adultos es de 25 g/día debido a que tiene diversas aplicaciones entre las que se encuentran ser un coadyuvante de la salud pública, incidiendo particularmente en los problemas de nutrición actuales (Secretaría de Salud, 2016).

Existen fuentes convencionales de las cuales se pueden obtener fibra dietética insoluble, tal es el caso de productos como cereales comerciales y de grano entero; pero en la actualidad se han estudiado fuentes no convencionales de fibra dietética, tales como los desechos de frutas, hortalizas y otros vegetales (Ramírez, 2017).

Actualmente también son empleados tratamientos como extrusión, autoclavado e hidrólisis en medios ácidos o alcalinos, que se aplican en fuentes con alto contenido de fibra dietética con el fin de hidrolizar parte de esta fracción para obtener una mejor relación de fibra dietética soluble e insoluble y para inducir a los residuos de fibra propiedades funcionales deseables para un sistema alimenticio específico (Priego *et al.*, 2007).

### 2.2.5 Cenizas

Algunos elementos químicos son nutrimentos indispensables para el buen funcionamiento del organismo humano y su carencia puede provocar serios problemas de salud; la alimentación variada, cuando es viable, es la forma de evitar cualquier deficiencia de éstos y de otros nutrimentos (FAO, 2001). La manera en la que actúan los nutrimentos inorgánicos varía dependiendo la acción requerida, como se puede apreciar en la Tabla 7.

**Tabla 7: Función de los nutrimentos inorgánicos.**

Componentes	Función
<b>Calcio, Fósforo, Flúor, Magnesio.</b>	Actúan de diversas maneras en la formación de tejidos rígidos del cuerpo
<b>Manganeso, Zinc, Cobre, Molibdeno, Sodio.</b>	Como cofactores de enzimas.
<b>Cobalto, Yodo, Hierro.</b>	Como integrantes de vitaminas, hormonas, mioglobina y hemoglobina.
<b>Sodio, Potasio, Cloro.</b>	Para controlar la presión osmótica de fluidos celulares y del pH.
<b>Azufre, Fósforo, Hierro.</b>	Como parte constitutiva de algunas macromoléculas.
<b>Sodio, Potasio y Cloro.</b>	Forman compuestos sencillos que existen en disolución, por lo que forman iones libres fácilmente absorbibles.
<b>Calcio, Hierro, Fósforo y Magnesio.</b>	Integran compuestos insolubles, son más difíciles de asimilar.

**Fuente: Badui (2006).**

## 2.3 Compuestos bioactivos

Una amplia variedad de vegetales es altamente apreciada por su potencial terapéutico atribuido al contenido de componentes conocidos como fitoquímicos bioactivos (Foster *et al.*, 2005).

Los compuestos bioactivos o fitoquímicos pueden definirse como compuestos biológicamente activos presentes en alimentos vegetales que tienen un efecto protector frente a enfermedades degenerativas en humanos, por lo que su ingesta es beneficiosa para la salud (Monzón, 2012).

A pesar de su alto valor nutritivo, los niveles compuestos bioactivos en la guayaba están sujetos a una amplia variación debido a factores como la localización geográfica, prácticas hortícolas, estaciones y cultivares (Wilson *et al.*, 1982). Variables tales como el proceso fotosintético, la temperatura ambiental, la exposición al sol, la humedad relativa, el estrés oxidativo y la exposición a contaminantes pueden contribuir a la variación en el contenido de algunos componentes (Lee y Kader, 2000).

### 2.3.1 Propiedades de los compuestos polifenólicos

Los polifenoles constituyen un grupo de compuestos que desempeñan una importante función en prácticamente todas las interacciones que una planta establece con su entorno (Haslam, 1988). Estudios epidemiológicos han puesto en evidencia el papel que tienen los alimentos de origen vegetal en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer y enfermedades neurodegenerativas. Los antioxidantes naturales presentes en estos alimentos, entre los que destacan los polifenoles, pueden ser responsables de esta actividad (Barberán, 2003).

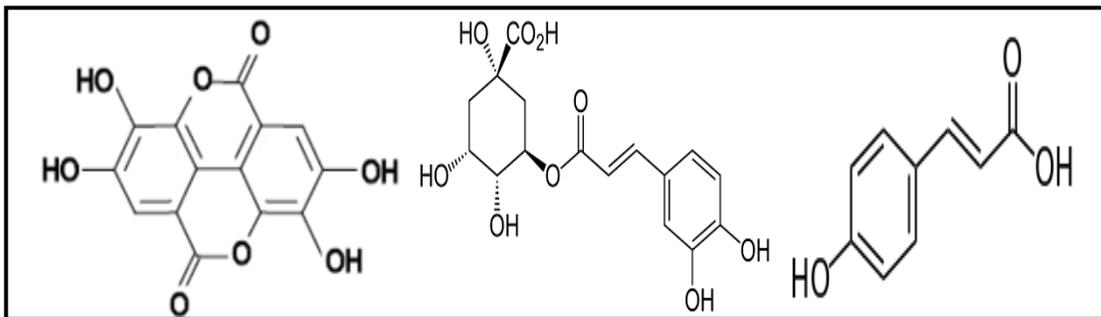
#### 2.3.1.1 Fenoles

Los fenoles son una amplia familia que posee más de 4.500 miembros. Dentro del grupo de los fenoles están los ácidos fenólicos y la amplia familia de los flavonoides entre otros. Los fitoquímicos fenólicos son metabolitos secundarios que regulan la actividad metabólica, siendo estos esenciales para el desarrollo (crecimiento y reproducción) de las plantas. La importancia de los fenoles radica en que producen soporte mecánico a las plantas,

contribuyen en la coloración de las flores y frutos, protegen contra patógenos y herbívoros y tienen una gran efectividad protegiendo los tejidos frente a la radiación ultravioleta (Strack, 1997); además, estos compuestos presentan propiedades relacionadas con la salud humana, debido a su actividad antioxidante (Cartaya y Reynaldo, 2001; Kuskoski *et al.*, 2005).

Los compuestos fenólicos en especies vegetales pueden variar, dentro de un mismo individuo, en respuesta a factores genéticos, ontogénicos, bióticos y abióticos, presentando diferentes concentraciones en los diversos órganos de la planta (Matsuki, 1996).

Algunos de los compuestos fenólicos reportados en guayaba son los ácidos elágico, clorogénico y *p*-cumárico, cuyas estructuras se observan en la Figura 6 (Zapata *et al.*, 2013).



**Figura 6: Estructuras químicas de los ácidos elágico, clorogénico y *p*-cumárico, respectivamente.**

### 2.3.2 Aplicaciones de los extractos vegetales.

Un extracto vegetal es un preparado que permite extraer de las plantas o semillas determinadas sustancias útiles.

Debido a sus propiedades los extractos vegetales se han utilizado en diversas aplicaciones en la industria en alimentos, muchos de los beneficios de las plantas y subproductos agroalimentarios son conocidos y utilizados desde la antigüedad como antimicrobianos, insecticidas, antioxidantes, etc. Estos efectos son debidos a compuestos sintetizados por las células de las plantas que no son estrictamente necesarios para el crecimiento o reproducción, pero cuya presencia ha sido demostrada genéticamente, fisiológicamente o bioquímicamente. Se denominan metabolitos secundarios (López, 2011).



En el caso de la guayaba, se ha reportado efectos inhibitorios de los extractos acuosos y alcohólico de las hojas de *Psidium guajava* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Proteus spp.*, *Shigella spp.* y *Escherichia coli*, causantes de infecciones intestinales. A lo largo de diferentes estudios sobre las hojas se ha encontrado la presencia de tres sustancias con propiedades antibacterianas que son derivados de la quercetina (Prabu *et al.*, 2006; Arima y Danno, 2002; Espinosa *et al.*, 2012; Martínez *et al.*, 1997; Souza *et al.*, 2011).

## 2.4 Ingredientes funcionales utilizados en alimentos

Los ingredientes funcionales aportan a los alimentos propiedades específicas, tales como textura, fluidez, hidratación y sabor, estos cubren una amplia gama de productos encargados de mejorar otras características del alimento, tales como la eliminación de algún componente que tenga efectos fisiológicos negativos, aumento o adición de algún componente que tenga un efecto fisiológico positivo o incluso sustitución parcial de un componente con efecto negativo por otro con efecto positivo. Por su parte, los sabores encapsulados aportan un interesante realce del sabor (Clextral, 2018).

Estos ingredientes funcionales pueden producirse de diferentes maneras: tratamiento térmico, hidrólisis enzimática o química, emulsificación, prensado, etc. Los mismos también les permiten a los procesadores elaborar nuevos alimentos de manera más eficiente, dando como resultado recetas mejor controladas y más productivas (Clextral, 2018).

Los componentes más destacables que hacen a un alimento funcional son: la fibra dietética, azúcares alcoholes, o azúcares de baja energía, aminoácidos, ácidos grasos insaturados como los omega-3 y el ácido linoléico conjugado (CLA), fitoesteroles, vitaminas y minerales, antioxidantes, bacterias ácido-lácticas y otras sustancias excitantes o tranquilizantes (Cadaval *et al.*, 2005).

Algunas de las oportunidades de innovación para la introducción de ingredientes funcionales en alimentos pueden ser: Ingredientes para la reducción de sal, reducción de azúcar, reducción de materia grasa, que aporten nuevas texturas al producto y nuevos sabores,



incorporación de ingredientes con denominación de origen y naturales para la eliminación de conservantes y colorantes, investigación sobre ingredientes milenarios, productos libres de alérgenos, proteínas vegetales en sustitución de proteína animal, sustitución de ingredientes de origen animal por ingredientes de origen vegetal, investigación de nuevos componentes bioactivos, incorporación de ingredientes con denominación de origen y naturales para la eliminación de conservantes y colorantes.

Los consumidores buscan alimentos cada vez más saludables, más naturales y que presenten elevadas propiedades sensoriales.

# OBJETIVOS



## 3. OBJETIVOS

### 3.1 Objetivo General

Caracterizar las semillas de guayaba mexicana “media china” (*Psidium guajava*) evaluando su composición química, perfil de ácidos grasos, solubilidad de proteínas y aminoácidos presentes, fibra dietética y compuestos bioactivos para generar propuestas de aprovechamiento como ingrediente funcional en el desarrollo y conservación de alimentos.

### 3.2 Objetivos Particulares

**Objetivo Particular 1.** Evaluar la composición química de la semilla de guayaba mexicana y el contenido de fibra dietética para determinar su potencial de aprovechamiento tecnológico.

**Objetivo Particular 2.** Identificar el perfil de ácidos grasos que se encuentra presente en las semillas de guayaba mexicana mediante cromatografía de gases para conocer su posible uso en la industria alimentaria.

**Objetivo Particular 3.** Fraccionar la proteína de las semillas de guayaba mexicana según la solubilidad de Osborne para obtener las albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas que la conforman y caracterizar la fracción mayoritaria con un perfil de aminoácidos para sugerir su empleo en la industria alimentaria.

**Objetivo Particular 4.** Extraer compuestos bioactivos procedentes de la semilla de guayaba para evaluar su actividad antimicrobiana y determinar su empleo en la conservación de alimentos.

**Objetivo Particular 5.** Realizar una propuesta tecnológica para la aplicación y uso de aceites, proteínas, fibra y compuestos bioactivos obtenidos de la semilla de guayaba como ingredientes funcionales en el desarrollo y conservación de alimentos.

# METODOLOGÍA

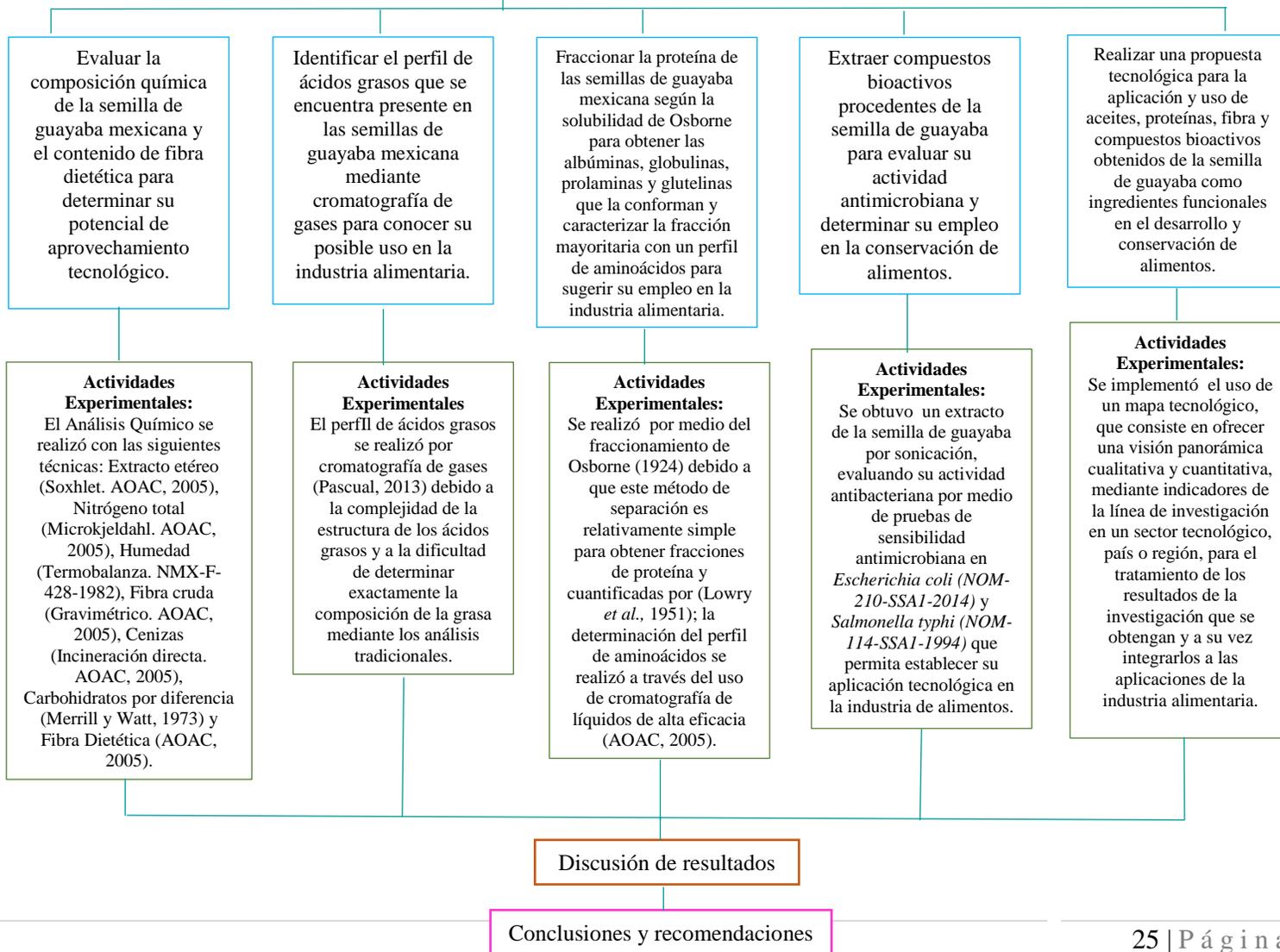


## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Cuadro metodológico

Caracterizar las semillas de guayaba mexicana “media china” (*Psidium guajava*) evaluando su composición química, perfil de ácidos grasos, solubilidad de proteínas y aminoácidos presentes, fibra dietética y compuestos bioactivos para generar propuestas de aprovechamiento como ingrediente funcional en el desarrollo y conservación de alimentos.

- Recolección, selección y limpieza de las semillas de guayaba.
- Secado de las semillas a temperatura de 60°C en estufa por 48 hrs.
- Molienda en molino de discos y posteriormente separación de las partículas más finas atravesando tamiz #20 (partícula fina) y siendo retenidas en el mismo tamiz (partícula gruesa).



## 4.2 Material biológico y tratamiento de la muestra

Para realizar la simulación de los residuos que se obtienen de la industria alimentaria, los frutos de guayaba (*Psidium guajava*) fueron adquiridos en el mercado local de Cuautitlán Izcalli (“Mercado del Carmen”), los cuales fueron seleccionados, descartando aquellos que presentaron daños físicos, químicos y en estado maduro para posteriormente ser lavados y desinfectados, después se cortaron por la mitad, para realizar la extracción de las semillas, como se puede apreciar en la Figura 8.



**Figura 8: Tratamiento de la muestra de semilla de guayaba.**

## 4.3 Caracterización química de la semilla de guayaba mexicana

Una vez obtenida la harina de las semillas de guayaba se procedió a realizar la caracterización química de las mismas, en donde se determinaron parámetros como: humedad, grasa, proteínas, cenizas y fibra cruda. Los métodos correspondientes se describen en el apartado 4.7 que se muestra más adelante.

## 4.4 Identificación del perfil de ácidos grasos presente en el aceite de semilla de guayaba

Una vez caracterizada químicamente la semilla de guayaba se procedió a determinar los posibles componentes funcionales presentes en las macromoléculas de mayor importancia

dentro de la semilla de guayaba. Dentro de ellos se encontró la fracción lipídica, por lo que se procedió a identificar los ácidos grasos presentes en dicha fracción. Esto se llevó a cabo por medio de cromatografía de gases.

Para que las muestras se pudieran inyectar, fue necesario trans-esterificarlas, esto se realizó de la siguiente manera: A 25 mg de aceite se le adicionó 1.5 mL de solución 0.5M de NaOH, se calentaron a 100°C en parrilla eléctrica por 5 minutos hasta formar una sola fase, posteriormente se enfriaron y agregaron 2 mL de BCl<sub>3</sub>, se realizó un segundo calentamiento por 30 minutos a 100°C hasta que se generaron unas gotas; se enfrió y agregó Iso-octano (2 mL) para poder extraer la fase orgánica; a la cual se le adicionó NaCl para poder retirarle la humedad, se realizó una segunda extracción de la fase orgánica adicionando 2 mL más de Iso-octano y se volvió a recuperar la fase, posteriormente se inyectó al cromatógrafo de gases (Figura 9) bajo las siguientes condiciones, se empleó un detector de ionización de flama utilizando una columna capilar SLB®-5ms de 30 m de largo, diámetro de 0.25 mm, espesor de película de 0.25 µm, la inyección se realizó a 250 °C con 1µL de muestra, la temperatura del horno fue de 270 °C, usando como gas portador Nitrógeno, split de 50 y un flujo de 1 mL/min (Pascual, 2013).



**Figura 9: Cromatógrafo de gases Trace GC 2000 series, empleado para la determinación del perfil de ácidos grasos.**

## **4.5 Caracterización de las proteínas presentes en la semilla de guayaba**

Ya identificados los ácidos grasos se procedió a caracterizar la fracción proteica de la semilla de guayaba. Para ello primero se realizó un fraccionamiento de Osborne (1924); el cual

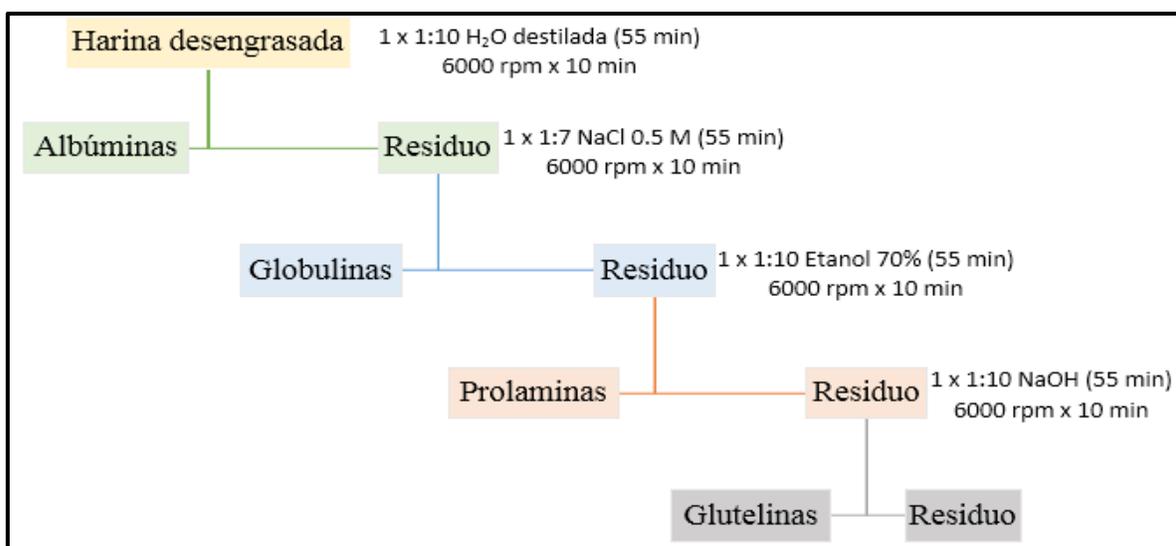
consiste en una serie de extracciones consecutivas con: agua, solución de sal diluida, solución de alcohol y solución de ácidos o álcalis diluidos. Usando esta secuencia de separación, las proteínas se pueden clasificar en albúminas, globulinas, prolaminas y gluteninas, respectivamente (Figura 10).

Para separar las albúminas se pesaron 150 mg de harina desengrasada en un tubo Eppendorf y se agregó 1.5 mL de agua destilada (relación masa:volumen, 1:10), se mezcló por 55 minutos agitando con Vortex a temperatura ambiente. Después se centrifugó a 6000 r.p.m en una centrifuga (marca Daigger®; modelo 4350) por 10 minutos a temperatura ambiente y se recolectó el sobrenadante.

Para extraer las globulinas, el residuo se redisolvió con 1.05 mL de una solución de NaCl 0.5M (relación masa: volumen, 1:7) para posteriormente mezclar y centrifugar bajo las mismas condiciones.

En el caso de las prolaminas, el residuo se re disolvió en etanol al 70% (relación masa: volumen, 1:10) siguiendo el mismo procedimiento anterior.

Finalmente, para extraer las gluteninas, el residuo se re disolvió en NaOH 0.1N (relación masa: volumen, 1:10) siguiendo el mismo procedimiento para las fracciones anteriores.



**Figura 10: Secuencia de extracción empleada para el fraccionamiento de Osborne.**



Una vez realizado el fraccionamiento se procedió a cuantificar las proteínas presentes en las fracciones por el método de Lowry (1951) el cual se describe en el apartado “Cuantificación de proteínas” de esta tesis, para con ello determinar aquella que presentara mayor contenido y proceder a realizar la identificación de aminoácidos de la misma.

#### **4.5.1 Caracterización de la fracción proteica glutelina.**

Este análisis se efectuó en el Laboratorio de Química y Análisis de Alimentos del Departamento de Alimentos y Biotecnología, de la Facultad de Química empleando la técnica de cromatografía de líquidos de alta eficacia por AOAC (2005), donde la muestra se distribuyó entre dos fases, una estacionaria y la otra móvil, de tal forma que cada uno de los componentes de la mezcla, fueron selectivamente retenidos por la fase estacionaria.

### **4.6 Evaluación de la actividad inhibitoria de los extractos de semilla de guayaba sobre las bacterias *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*.**

#### **4.6.1 Obtención del extracto etanólico**

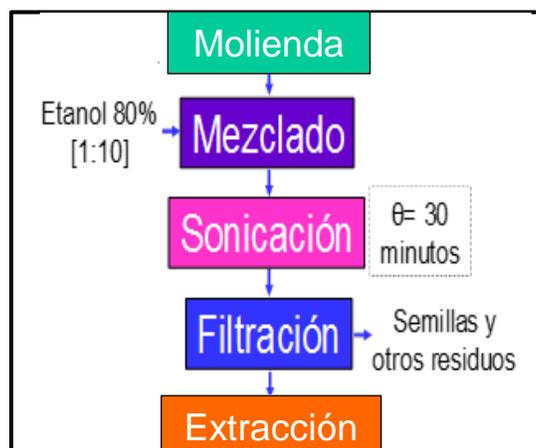
##### **4.6.1.1 Extracción por Maceración en Frío**

Para la extracción por el método de maceración en frío se colocó una muestra de 5 g del material vegetal seco y pulverizado con 25 mL de la solución extractora etanol:agua en una relación 1:1 dentro de un matraz Erlenmeyer y posteriormente se dejó el soluto macerando con agitación dentro de la cámara de refrigeración a 10° C hasta completar las 24 horas de maceración, se extrajeron 2 mL de la muestra cada 3, 12 y 24 horas.

##### **4.6.1.2 Extracción Asistida por Ultrasonido**

Para la obtención de los extractos fenólicos de la semilla de guayaba se propuso inicialmente colocar 5 gramos de muestra en contacto con 25 mL de la solución extractora que en este caso fue una mezcla etanol-agua en una relación 1:1 dentro de un matraz Erlenmeyer, posteriormente se realizó la extracción ultrasónica con periodos de 15 minutos y descansos de 5 minutos hasta completar los 30 y 60 minutos de sonicación establecidos, se procedió a filtrar la muestra para recuperar el sobrenadante obtenido en una probeta y finalmente se almacenó en un frasco protegido de la luz a -4°C.

Cabe señalar que a partir de los resultados obtenidos se propuso cambiar las condiciones de extracción a las siguientes: 2 gramos de harina de semilla de guayaba se pesaron en un tubo para cultivo con tapa de 25 mL de capacidad y se le adicionaron 20 mL de etanol al 80%, posteriormente se sumergió en un baño ultrasónico por 30 minutos con periodos de 15 minutos y descansos de 5 minutos, se filtró para retirar los residuos de semilla y recuperar el sobrenadante, finalmente se almacenó en un frasco ámbar a  $-4^{\circ}\text{C}$  (Figura 11).



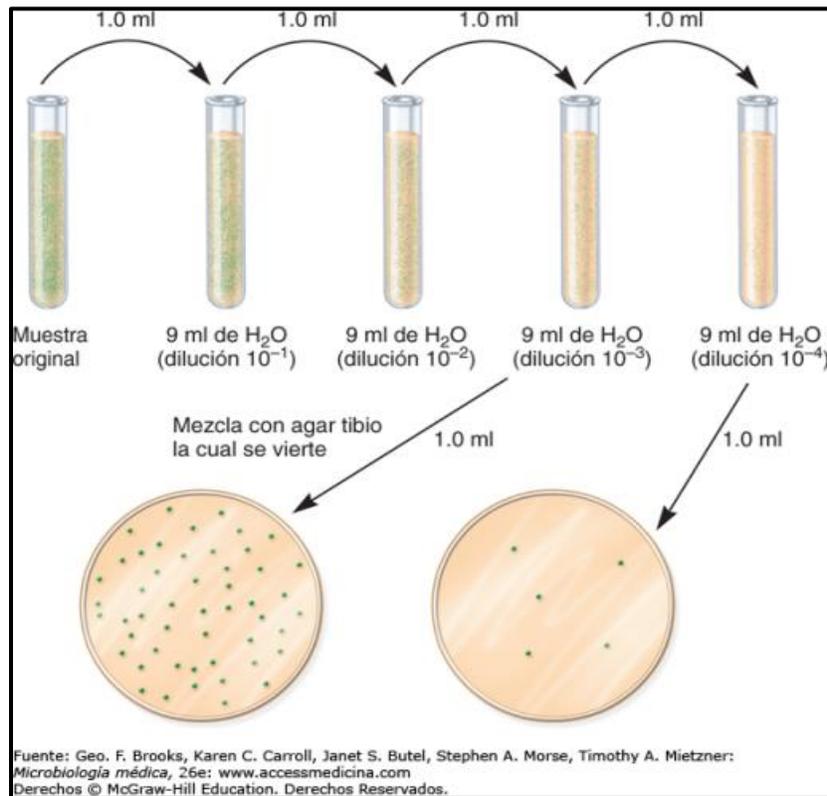
**Figura 11: Diagrama de proceso para la obtención de extracto etanólico de la harina de semilla de guayaba.**

A los extractos obtenidos por ambos métodos se les cuantificó el contenido de fenoles totales (Fogliano *et al.*, 1999) para conocer la concentración de estos y aplicarlos en el desarrollo de las pruebas *in vitro*, como se puede revisar en el apartado 4.7.1 de las técnicas analíticas empleadas.

#### **4.6.2 Activación de las cepas de *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*.**

Para realizar las pruebas *in vitro* fue necesario realizar una activación de la cepa de *Salmonella typhi* y *Escherichia Coli*, para ello se prepararon 120 mL de caldo lactosa (13 g/1 L) y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL de capacidad y se esterilizaron junto con el material que se emplearía para la prueba. Posteriormente pasada la esterilización se colocaron 20 mL de caldo lactosa en 6 tubos de cultivo con tapa y para cada bacteria se utilizaron 3 tubos a los cuales se trasvasó una pequeña cantidad de inóculo de bacteria ya identificada con ayuda de un asa bacteriológica. Las condiciones de crecimiento fueron a

30°C por 24 horas. Para conocer la concentración del inoculo se realizó un conteo en placa (Figura 12).



**Figura 12: Simulación del procedimiento de diluciones.**  
**Fuente: Brooks *et al.*, (2019)**

### 4.6.3 Pruebas *in-vitro* de *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*.

Las evaluaciones para *Escherichia Coli* se realizaron en cajas Petri estériles, añadiendo aproximadamente 20 mL de agar nutritivo (23 g/ 1 L) previamente esterilizado, mientras que para la evaluación de *Salmonella typhi* se realizó en cajas Chromagar de la marca BD®, después se adicionaron 200  $\mu$ L de  $2.42 \times 10^{11}$  UFC/mL (Valor estimado) de *Salmonella typhi* y  $2.00 \times 10^{11}$  UFC/mL (Valor estimado) de *Escherichia coli*, en cada una de las cajas y se realizó un estriado de la misma por todas ellas, a manera de que quedara uniformemente distribuida, en seguida se colocó en un biodisco de papel al centro de cada caja con 100  $\mu$ L de extracto a 3 concentraciones (200, 300 y 400 ppm) se evaluó el halo de inhibición que obtuvo el extracto frente a las bacterias en un periodo de 24 horas para *Escherichia coli* (NOM-210-SSA1-2014) y de 48 horas para *Salmonella typhi* (NOM-114-SSA1-1994), llevando a

cabo un registro fotográfico durante el tiempo asignado a la prueba. En la Figura 13 se resume el procedimiento empleado para las pruebas *in-vitro*.



**Figura 13: Procedimiento empleado para las pruebas *in-vitro*.**

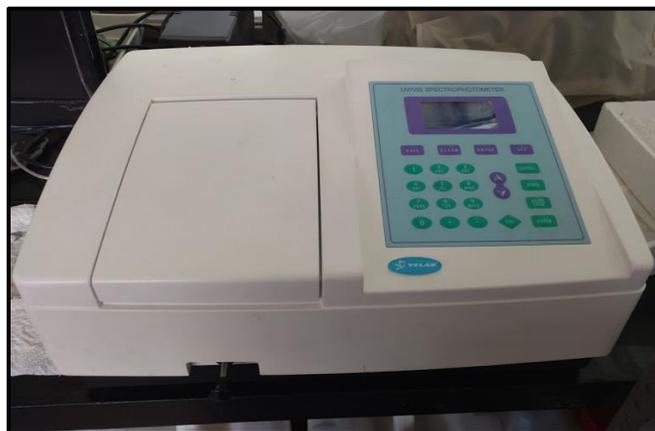
## 4.7 Técnicas analíticas empleadas

### 4.7.1 Cuantificación de fenoles totales del extracto etanólico

El reactivo de Folin-Ciocalteu utiliza un mecanismo de reacción de oxidación/reducción. Mide la capacidad para reducir el reactivo de ácido fosfomolibdico/ fosfotúngstico a un complejo azul que es monitoreado espectrofotométricamente a 765 nm, donde el molibdeno en reducido en el complejo y se da la reacción de transferencia de electrones (Tovar del Río, 2013). Se usa un buffer de carbonato para ajustar el pH (Singleton, 1999). A 200 µL de extracto etanólico de las semillas de guayaba fueron colocados en un tubo de ensaye, después se adicionaron 1500 µL de agua, 100 µL del reactivo Folin- Ciocalteu, 200 µL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y se agitaron en Vortex y se dejó reposar por 30 minutos la muestra en un espacio carente de luz y finalmente se leyó en el espectro marca Velab® (Figura 14) a 765 nm (Fogliano *et al.*,1999).

La absorbancia final de cada muestra se comparará con una curva estándar de ácido gálico a una concentración de 1mg/mL. Esta prueba se realizó para determinar la concentración de

compuestos bioactivos que contenía el extracto etanólico de semilla de guayaba y sería empleada para conocer las concentraciones con las cuales se trabajarían las pruebas *in-vitro*. Los resultados se expresaron como mg Ac.Gálico/g de muestra.



**Figura 14: Espectro Velab empleado para la determinación de fenoles totales.**

#### **4.7.2 Determinación de extracto etéreo**

La determinación de extracto etéreo se basa en la extracción semicontinua de grasa con un disolvente orgánico. En este método el disolvente se calienta, se volatiliza y condensa, goteando sobre la muestra, la cual queda sumergida en el disolvente. Posteriormente este es sifoneado al matraz de calentamiento para empezar de nuevo el proceso. El contenido de grasa se cuantifica por diferencia de peso (AOAC, 2005).

Para la determinación se pesaron 3 g de muestra seca y colocaron en un cartucho Soxhlet. El cartucho se introdujo en el extractor del equipo, el cual fue conectado con el matraz bola de fondo plano (previamente puesto a peso constante) y se adicionó hexano como solvente, posteriormente fue calentado en parrilla en ebullición suave durante 4 horas hasta extraer toda de grasa posible (Figura 15). Una vez realizado lo anterior, se retiró el cartucho con la muestra desengrasada y el solvente fue recuperado. El residuo en el fondo del matraz correspondió al extracto etéreo, el cual fue secado en la estufa a 100°C hasta peso constante. Los resultados se expresaron como g/100g.



**Figura 15: Montaje de destilador Soxhlet, donde realiza la extracción de manera automática, con el mismo solvente que se evapora y condensa.**

### **4.7.3 Determinación de Nitrógeno total por método de MicroKjedahl**

El método se basa en la destrucción de la muestra orgánica con ácido sulfúrico concentrado, formándose sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio libera amoníaco, el que se destila recibiendo en ácido bórico. El borato de amonio formado se valora con ácido sulfúrico. El método comprende 3 fases: digestión, destilación y titulación (AOAC, 2005).

Para la determinación se pesaron 250 mg de muestra; los cuales se colocaron en un tubo de digestión. A su vez se colocó la mezcla catalizadora, compuesta de  $K_2SO_4$  y de  $HgO$  de  $H_2SO_4$ , el cual nos ayuda a la digestión. Los tubos con la solución resultante se colocaron en el aparato de digestión a  $350^\circ C$  hasta llevar a una completa digestión. Posteriormente se procedió a realizar la destilación del nitrógeno. Una vez recuperado en nitrógeno se realizó una titulación con  $HCl$  al 0.1 N. Los resultados se expresaron como g/100g.

#### 4.7.3.1 Cuantificación de proteínas

Es un método colorimétrico de valoración cuantitativa de las proteínas. Bajo condiciones alcalinas el  $\text{Cu}^{++}$  forma un complejo con los enlaces peptídicos de las proteínas y se reduce a  $\text{Cu}^+$ . El  $\text{Cu}^+$  así como los grupos R de Tirosina, Triptofano y Cisteína reaccionan con el reactivo de Folin. Este reactivo reacciona primero produciendo un producto inestable que se reduce lentamente a azul de molibdeno/tungsteno esta reacción ocurre en medio ácido (Lowry *et al.*, 1951).

A 100  $\mu\text{L}$  de muestra se le agregó 0.5 ml de solución (50 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2% P/V en NaOH 0,1N + 1 mL de  $\text{CuSO}_4$  0.5% P/V en tartrato de sodio y potasio 1% P/V) se mezcló bien y fue incubada 10 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se agregaron 50  $\mu\text{L}$  de solución Folin diluido al medio con  $\text{H}_2\text{O}$ , se homogeneizaron inmediata y vigorosamente en Vortex. Para finalizar se incubó 30 minutos a temperatura ambiente, se leyó la absorbancia a 700 nm en el espectro (marca Velab®). Para la cuantificación se realizó una curva patrón con BSA como estándar a partir de una solución con una concentración de 1.0 mg/mL. Los resultados se expresaron como mg/g de semilla de guayaba.

#### 4.7.4 Determinación de cenizas

Los alimentos contienen pequeñas cantidades de materiales inorgánicos que varían en composición y en concentración. Estos se determinan en conjunto como residuo después de calcinar la muestra a 550-600 °C.

Para la determinación se pesaron 500 mg de muestra en un crisol de aluminio a peso constante. La muestra se carbonizó lentamente con ayuda de un mechero Fisher hasta que las cenizas tomaron un color gris claro. Posteriormente se colocó la muestra carbonizada en una mufla (marca Lindberg® modelo 51891) a 550 °C hasta que las cenizas se tornaron blancas, se colocaron en el desecador y se pesaron. Los resultados se expresaron como g/100g (AOAC, 2005).

#### 4.7.5 Determinación de fibra cruda

La fibra cruda es la pérdida de masa que corresponde a la incineración del residuo orgánico que queda después de la digestión con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio en condiciones específicas.

A 2 gramos de muestra desengrasada se colocaron en un vaso de precipitados de 600 mL, para mezclarlo con 200 mL de ácido sulfúrico al 1.25%, posteriormente se colocó en calentamiento hasta ebullición dejándolo por 30 minutos, después de esto se procedió a filtrar, con la torta de filtrado se procedió a realizar la segunda hidrólisis, esta vez con 200 mL de hidróxido de sodio al 1.25% y nuevamente se dejó ebullición por 30 minutos. Posteriormente se retiró el vaso y se filtró al vacío (Figura 16), se lavó con agua destilada hirviendo hasta que el pH de las aguas del lavado fue igual al del agua. El residuo se transfirió a una cápsula de porcelana a peso constante y se secó a una temperatura de 100 °C durante 2 horas. Para finalizar, los residuos se calcinaron en mufla a 550 °C durante 30 minutos, se enfriaron en desecador y se pesó. Los resultados se expresaron como g/100g (AOAC, 2005).



**Figura 16: Filtración al vacío con un embudo Büchner en un matraz kitasato.**

#### **4.7.5.1 Determinación de fibra dietética**

La fibra dietética se conoce como a la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos que son resistentes a la digestión y la absorción en el intestino delgado humano y que sufren una fermentación total o parcial en el intestino grueso. La fibra dietética incluye: polisacáridos, oligosacáridos, lignina y otras sustancias asociadas a las plantas.

Para la determinación se utilizaron crisoles Gootch con 500 mg de Celita puestos a peso constante, previamente. Un gramo de muestra fue pesada y colocada en un vaso de precipitados de 250 mL. Se adicionaron 50 mL de buffer fosfato 0.08 M a pH de 6.0 y 0.10 mL de  $\alpha$ -Amilasa mezclándose muy bien y fue colocado en un baño de agua a 95°C, pasados

15 min se enfrió para posteriormente ajustar el pH a  $7.5\pm 0.2$  utilizando NaOH. Inmediatamente se adicionó 0.1 mL de una solución de Proteasa en buffer fosfato (50 mg/mL) y se colocó a  $60^{\circ}\text{C}$  en un baño de agua con agitación continua, se incubó por 30 minutos, se enfrió la solución a temperatura ambiente y se ajustó el pH entre 4 y 4.6 agregando HCl a 0.325 M. Se agregó 0.1 mL de Amiloglucosidasa y se colocó a  $60^{\circ}\text{C}$  en un baño de agua con agitación continua, se incubó por 30 minutos. Una vez terminadas las hidrólisis enzimáticas se agregaron 4 volúmenes de etanol al 95% en el vaso y se dejaron fraguar por una noche a temperatura ambiente para permitir la posterior filtración. Los crisoles secos que contienen los residuos fueron secados en una estufa (marca Luzeren®) se llevó a peso contante. También fue necesario realizar a la par un “blanco”. Los resultados se expresaron como g/100g (AOAC, 2005).

#### 4.7.6 Determinación de humedad

La humedad es tomada como la pérdida de peso al secado, usando un instrumento de humedad, el cual emplea una balanza de torsión sensible para pesar la muestra y una lámpara infrarroja para secar.

La muestra (5g) se colocó en el equipo (marca BM®, modelo BM-50-10) (Figura 17) y distribuida cuidadosa y uniformemente en el platillo. Con la fuente de potencia debidamente ajustada, se bajó la tapa de la balanza. La muestra comenzó a perder humedad y pasado un tiempo de 10 a 20 minutos, se tomó la lectura, y se registró como porcentaje total de humedad. Los resultados se expresaron como g/100g (NMX-F-428-1982).



**Figura 17: Termobalanza BM utilizada para la determinación de humedad.**



### **4.7.7 Cuantificación de carbohidratos**

El contenido total de carbohidratos se evaluó por diferencia, con respecto al resto de componentes. Este método de cálculo se describe en el Manual USDA 74 (Merrill y Watt, 1973). Los resultados se expresaron como g/100g.

### **4.8 Tratamiento estadístico empleado**

Se diseñaron análisis estadísticos de dos factores con dos y tres niveles de variación para determinar si existía o no diferencia significativa entre tamaños de partícula, así como en tiempos de maceración y se llevó a cabo un análisis ANOVA con un nivel de confianza del 95%. Este análisis estadístico se realizó en IBM SPSS Statistics 22.

# DISCUSIÓN DE RESULTADOS



## 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 5.1 Evaluación de la composición química y cuantificación de la fibra dietética de la semilla de guayaba mexicana

El realizar un estudio sobre la composición química de la semilla de guayaba permite generar propuestas de aprovechamiento como ingrediente funcional en el desarrollo de alimentos para la industria alimentaria y reducir los desperdicios generados durante el procesamiento de productos.

A continuación, en la Tabla 8, se presentan los resultados de los componentes químicos que constituyen la semilla de guayaba mexicana, se presentan en g/100g.

**Tabla 8: Componentes químicos de la semilla de guayaba.**

Componente	Base seca (g/100g)	Base húmeda (g/100g)
<b>Fibra cruda</b>	63.58 ± 1.95	61.43 ± 1.88
↳ <b>Fibra dietética</b>	51.95 ± 0.47	50.20 ± 0.46
<b>Carbohidratos*</b>	17.92	17.29
<b>Lípidos</b>	13.35 ± 0.10	12.90 ± 0.10
<b>Proteínas</b>	3.72 ± 0.22	3.60 ± 0.21
<b>Humedad</b>	-	3.39 ± 0.00
<b>Cenizas</b>	1.43 ± 0.08	1.39 ± 0.08

\*Los carbohidratos se calcularon por diferencia

En la harina de semilla de guayaba se presenta como componente mayoritario la fibra cruda con más del 50% de su composición, este dato es común para una semilla, ya que requiere presentar una estructura resistente. Silva *et al.*, (2017) reportan que el porcentaje de fibra cruda que presenta la harina de semilla de guayaba es de 46.96 (±4.20), un valor muy cercano al que se obtuvo experimentalmente, lo que indica que la harina de semilla de guayaba además de ser una buena fuente de fibra, es considerada como antioxidante, debido al



contenido de polifenoles extraíbles, asociados a la matriz de los componentes de la fibra de esta fruta.

También Bernardino *et al.* (2001), reportan un porcentaje aún más cercano al valor obtenido que es de 69.3% donde atribuyen que las variaciones encontradas en el análisis proximal pueden ser causadas por la diferencia de la variedad de la planta, el clima, el estado de maduración del fruto y las semillas.

Un porcentaje importante consiste en fibra dietética, la cual se considera formada por componentes estructurales de la pared de las células vegetales, tales como, celulosa, hemicelulosa, sustancias pécticas y lignina y no estructurales, como gomas, mucílagos, polisacáridos de algas y celulosa modificada. Presentando alrededor del 50% de la composición de la semilla de guayaba. La semilla de guayaba es básicamente fibra y por lo que señala el resultado anterior es una fuente importante de fibra dietética recordando que este tipo de fibra es de suma importancia en la dieta porque promueven efectos beneficiosos, fisiológicos como laxante, y/o atenúa los niveles de colesterol y la glucosa en sangre (American Association of Cereal Chemist, 2001).

El resultado obtenido es similar a lo reportado por Jiménez *et al.* (2001) y Bernardino *et al.* (2001) donde se considera que la fibra dietética de la semilla de guayaba es antioxidante y podría ser incluida en alimentos para así aumentar la porción de fibra en la dieta.

El segundo componente en mayor presencia son los carbohidratos, debido a que en semillas son importantes estos compuestos pues son los que proporcionaran la energía necesaria para el crecimiento y desarrollo de la planta.

Bernardino *et al.* (2001) en su estudio sobre la obtención de un aislado proteínico a partir de la semilla de guayaba (*Psidium guajava*) reportaron que la semilla de guayaba contenía un 6% de carbohidratos, el cual es diferente al obtenido en esta investigación, siendo este último de 17.29% debido probablemente a una diferencia en el contenido de otros componentes



como lo son la proteína bruta, grasa total, humedad y ceniza del peso total del alimento ya que como se mencionó en el apartado de metodología, este valor fue calculado por diferencia. También la semilla de guayaba presenta una buena cantidad de lípidos alrededor de 12.9%, brindándole la oportunidad de ser una fuente de este tipo de compuestos.

El análisis proximal realizado a 12 selecciones de semillas reportado por Vasco y colaboradores en 2005, señala que la fracción lipídica va de 8 a 12.75%, valores muy parecidos al que se obtuvo en la semilla de guayaba mexicana.

En los últimos años, el interés por las grasas monoinsaturadas ha hecho que se hayan seleccionado variedades de distintas oleaginosas cuyos aceites tienen contenidos especialmente altos en ácido oleico, reduciéndose la presencia de saturados o de poliinsaturados (Calvo, 2004). El aceite de semilla de guayaba puede ser aprovechado como componente alimenticio debido a que es una buena alternativa para contribuir a que las personas consuman parte de la ingesta diaria de lípidos recomendada al contener propiedades nutritivas.

La semilla de guayaba representa aproximadamente el 12% del peso total del fruto, y de este material de un 6 a un 10 % es proteína, cuenta con un valor alto de digestibilidad “*in vitro*” (94.8 %), así como la presencia de aminoácidos que cubren los requerimientos que el patrón FAO/WHO establece para adultos (Bernardino *et al.* 2001 y Vasco *et al.* 2005).

Los resultados de esta investigación señalan que la semilla de guayaba mexicana obtuvo un 3.6% de proteína, inferior al rango de porcentajes que reportan Bernardino *et al.* (2001) y Vasco *et al.* (2005) y es que, aunque se han desarrollado diferentes métodos para cuantificar proteínas totales, o alguna en particular, es importante mencionar que ninguno de estos son específicos para proteínas, lo que significa que componentes no proteicos pueden interferir, no uniformemente precisos y compatibles con todas las proteínas.

También el valor biológico nutritivo de una proteína depende, por una parte, de su composición en aminoácidos esenciales, lo que se traduce en una puntuación química (del 0 a 100). Por otra parte, de su digestibilidad (del 0 al 1), por lo que un comité de expertos de la



FAO/OMS recomendó expresar el valor nutritivo de una proteína en forma de índice DISCO que es el producto de la digestibilidad por la puntuación química. Así, por ejemplo, respecto a un máximo de 100 las proteínas vegetales (de menor valor nutritivo que las animales) de guisantes poseen un valor 68, las de lentejas 52 y las de habas 47 (Lozano, 2012).

La harina de semilla de guayaba mexicana obtuvo un 3.39% de humedad, por lo que señala la Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, “Productos y Servicios. Cereales y sus productos. Cereales, sémolas o semolinas”, las harinas provenientes de granos o semillas, deben contener un 15% de humedad como límite máximo permitido para poder ser analizadas y posteriormente aplicadas como materia prima en la elaboración de algún producto objeto, de tal manera que la harina de semilla de guayaba cumplió con este parámetro.

El valor en el porcentaje de cenizas de harina de semilla de guayaba es de 1.39%, las cenizas corresponden a materias minerales y salinas de la muestra, por lo que este porcentaje se encuentra dentro del intervalo reportado por Vasco *et al.* (2002) en el cual señalan que la semilla de guayaba es aproximadamente 1.5% de cenizas.

Los resultados obtenidos también son similares a los reportados por Bernardino *et al.* (2001) donde aseguran que las semillas presentan una concentración del 1% de cenizas.

El contenido de macronutrientes es afectado por factores genéticos relacionados con la especie y variedades o poblaciones nativas, el estado de madurez del fruto, prácticas agrícolas de manejo (orgánico o convencional), el ambiente de crecimiento de la planta, incluyendo los métodos de cuantificación de estas propiedades (Ramírez, 2017), a consecuencia de esto, pueden existir variaciones del contenido de algún nutriente entre variedades de guayaba.

## **5.2 Identificación del perfil de ácidos grasos que se encuentra presente en la semilla de guayaba mexicana.**

Como se mencionó anteriormente, la fracción lipídica de la semilla de guayaba presenta un buen aporte con el 12.9% de la composición, por tal motivo se decidió realizar un análisis



específico de identidad del aceite obtenido, como lo es el perfil de ácidos grasos, para sugerir una aplicación de acuerdo a los compuestos de interés que están en mayor proporción.

Vasco *et al.*, en 2005 señalaron que el aceite de semilla de guayaba contenía 80 % de ácido Linoleico, seguido de Palmítico con 7.7 % y Oleico con 6.6 %, el ácido Esteárico se encuentra en menor concentración con 4.8 %, y queda un remanente de ácidos grasos no identificados.

Los ácidos grasos presentes en la semilla de guayaba mexicana identificados por cromatografía de gases son Esteárico (12.04%), Oléico (72.69%), Eláidico (7.29%), Linoleico (0.23%), Linolénico (0.61%) y otros no identificados (7.14%). En el Anexo 1, se pueden observar los cromatogramas correspondientes.

Con el estudio del perfil de ácidos grasos, se pudo conocer el tipo y la cantidad de ácidos grasos presentes en el aceite de semilla de guayaba, los ácidos grasos que se identificaron en mayor proporción fueron: Oleico y Esteárico.

La importancia del ácido graso oleico también conocido como omega-9 radica en que estos provienen de una familia de grasas insaturadas que normalmente se encuentran en las grasas vegetales y animales. Esta grasa monoinsaturada está clasificada como omega-9 porque el doble enlace se encuentra en la novena posición desde la punta omega. También se conocen como ácidos oleicos o grasas monoinsaturadas (>70%) y, en general, se encuentran en el aceite de canola, girasol, oliva y nuez. A diferencia de los omegas 3 y 6, el cuerpo los produce y aun así son beneficiosos en los alimentos. El ácido graso oleico se utiliza principalmente para reducir las grasas malas en los aceites de cocina, es decir, los aceites provenientes de estas fuentes han surgido como una alternativa más saludable y altamente funcional a los aceites de cocina parcialmente hidrogenados, que a menudo tienen un alto contenido de grasas trans y saturadas no saludables, con esto se busca reducir los factores claves que contribuyen a las enfermedades cardiovasculares y accidentes cerebrovasculares. Se ha comprobado que aumentan el nivel de colesterol HDL ("bueno") y disminuyen el nivel de colesterol LDL ("malo"); por lo tanto, facilitan la eliminación de la acumulación de placas



en las paredes arteriales, que pueden ser la causa de un ataque cardíaco o accidente cardiovascular (The Dow Chemical Company, 2018).

Los ácidos grasos esteáricos tratan de ácidos grasos saturados que poseen dieciocho átomos de carbono, el cual es sólido cuando se encuentra a temperatura ambiente, de un color blanquecino y no tiene olor. A pesar de que el ácido esteárico está de igual manera en las grasas de origen vegetal y animal, en la grasa vegetal se encuentra en una menor cantidad al 5%. Sin embargo, existen grasas vegetales que poseen un mayor contenido de este ácido, las cuales son la manteca de karité y la de cacao, ambas teniendo aproximadamente un 28-45% de ácido esteárico. El ácido esteárico se encuentra en el segundo lugar en cuando a ingesta de grasas saturadas dentro de la dieta, siendo consumido en un 25,8%, después del ácido palmítico, que es ingerido en un 56,3% (Ideg, 2017).

Por otro lado, el ácido graso esteárico no eleva los niveles séricos de colesterol o de LDL, aunque presenta otros efectos sobre la salud, hasta ahora indefinidos (FAO, 2018). Es decir, a pesar de ser un ácido graso saturado, este ácido no parece contar con ninguno de los efectos perjudiciales que normalmente son vinculados a esta clase de grasa y de igual forma, parece ser que este ácido produce un efecto neutro en los triglicéridos, al igual que en el colesterol LDL, en el colesterol total o en el colesterol HDL (Ideg, 2017).

### **5.3 Fraccionamiento y cuantificación de la proteína de la semilla de guayaba.**

La principal importancia de extraer varios compuestos bioquímicos como lo son las proteínas solubles, reside en el hecho de que pueden ser recuperadas de este subproducto y utilizadas en la alimentación humana o animal.

En la Tabla 9, se pueden observar los resultados obtenidos al llevar a cabo el fraccionamiento de la proteína soluble de la semilla de guayaba mexicana.

**Tabla 9: Fracciones proteicas de la semilla de guayaba mexicana.**

<b>FRACCIÓN PROTEICA</b>	<b>mg/g</b>
<b>Albúminas</b>	107 ± 10.54
<b>Globulinas</b>	192 ± 13.02
<b>Prolaminas</b>	135 ± 25.43
<b>Glutelinas</b>	566 ± 80.09

En el fraccionamiento de la proteína que desarrollaron Bernardino *et al.* (2001) se encontró que con el método de Osborne se obtienen concentraciones de: albúminas (2.63 g fracción/100g de proteína), globulinas (9.47 g fracción/100g de proteína) y prolaminas (1.85 g fracción/100g de proteína), lo cual indica que los datos experimentales obtenidos no son similares debido a que las condiciones a las que se llevaron a cabo las extracciones no fueron las mismas. Soria *et al.* (2004) reportan que las glutelinas constituyen la fracción mayoritaria de las proteínas de reserva en semillas de selecciones de guayaba (*Psidium guajava L.*), lo que concuerda con los resultados obtenidos en esta investigación.

Cabe destacar que las glutelinas son el tipo de proteínas que más se encuentra en cereales, ya que son las que representan a las proteínas de reserva. Las proteínas de reserva en embriones y células vegetativas de plantas, son sintetizadas durante el desarrollo de la semilla e hidrolizadas durante la maduración, imbibición y germinación de éstas, proporcionando de las principales fuentes de carbono, nitrógeno y azufre para el subsiguiente crecimiento y desarrollo. Estas proteínas de reserva en células vegetativas proporcionan una base para las semillas y frutos durante el crecimiento reproductivo y para una rápida expansión de las estructuras vegetativas después del periodo de dormancia, durante la germinación (Bewley & Black, 1994).

### **5.3.1 Caracterización la fracción mayoritaria de glutelinas mediante un perfil de aminoácidos.**

El análisis de aminoácidos en alimentos es utilizado para la caracterización nutricional y/o sensorial de los mismos. A través del estudio de los aminoácidos esenciales presentes en un alimento se pueden definir las características nutricionales y por medio de los aminoácidos

aromáticos libres, se puede inferir el impacto que podría llegar a producir sobre el flavor del alimento (INTA, 2018).

Al ser las glutelinas la fracción mayoritaria en el fraccionamiento proteico por Osborne, se decidió ampliar su caracterización y se realizó la identificación de los aminoácidos que se encuentran en mayor presencia, dando como resultado los datos que muestra la Tabla 10.

**Tabla 10: Análisis de aminoácidos presentes en la fracción proteica glutelinas de la semilla de guayaba.**

<b>AMINOÁCIDOS</b>	<b>g aa/100 g proteína</b>
Ácido aspártico	9.88
Ácido glutámico	30.99
Serina	2.12
Glicina	1.23
Lisina	1.31
Histidina	0.88
Treonina	0.47
Arginina	7.67
Alanina	0.37
Prolina	0.31
Cisteína	2.15
Tirosina	17.1
Valina	5.65
Metionina	1.02
Isoleucina	8.23
Leucina	1.99
Fenilalanina	7.57
Amoníaco residual	0.27

El ácido glutámico es el aminoácido que se encuentra en mayor proporción (30.99%) en las glutelinas, este es un aminoácido no esencial, es un neurotransmisor que aumenta la excitabilidad de las neuronas en el sistema nervioso central. Es uno de los neurotransmisores excitatorios más importantes del cerebro y la medula espinal. Este aminoácido es importante para el metabolismo de los azúcares y de las grasas, y ayuda a transportar el potasio, a través de la barrera hematoencefálica. El cerebro puede utilizarlo como combustible. El ácido glutámico puede hacer que el amoníaco pierda su carácter tóxico recogiendo átomos de

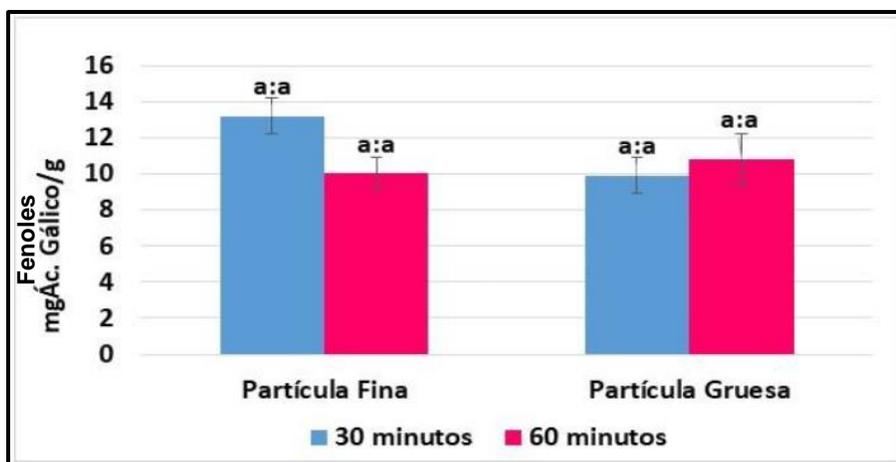


nitrógeno. Durante ese proceso, el ácido glutámico crea glutamina, otro aminoácido. La conversión de ácido glutámico en glutamina es la única manera de desintoxicar el amoníaco del cerebro (Balch, 1997). Entre los alimentos, el glutamato es un potenciador de los sabores y, además, ayuda en la síntesis de las proteínas. Está contenido de forma natural en el alga kombu y otros alimentos proteicos. Es responsable de que las legumbres se ablanden en la cocción (L&S, 2009).

La Tirosina se encuentra en el 17.1% de la composición de las glutelinas, es uno de los precursores de los neurotransmisores norepinefrina y dopamina, los cuales regulan el estado anímico, entre otras cosas. La tirosina eleva el estado de ánimo y la falta de una cantidad suficiente lleva a deficiencia de norepinefrina en el cerebro, lo que puede dar por resultado depresión. La tirosina suprime el apetito y ayuda a reducir la grasa corporal. Además, contribuye a la producción de melanina (el pigmento responsable del color de la piel y el cabello) y al funcionamiento de las glándulas suprarrenales, tiroides y pituitaria. También interviene en el metabolismo del aminoácido fenilalanina. La fenilcetonuria es cuando el organismo no tiene la capacidad producir tirosina a partir de la fenilalanina. Sin embargo, cuando la ingesta de tirosina es baja, el organismo necesita recibirlos de la dieta, de ahí radica la importancia de tener fuentes alternativas para obtenerla. En este caso este aminoácido llega a ser condicionalmente esencial (Balch, 1997).

## **5.4 Evaluación del contenido de fenoles en los extractos obtenidos de la semilla de guayaba.**

Dentro de las semillas es común encontrar compuestos fenólicos, actualmente se ha observado que estos compuestos tienen diversas actividades, como es aprovechar sus propiedades como agentes antibacterianos. De ahí la importancia que se ha venido dando a través de los años. En la Figura 18 se presentan los resultados obtenidos, en la cuantificación de fenoles de los extractos de semilla de guayaba.

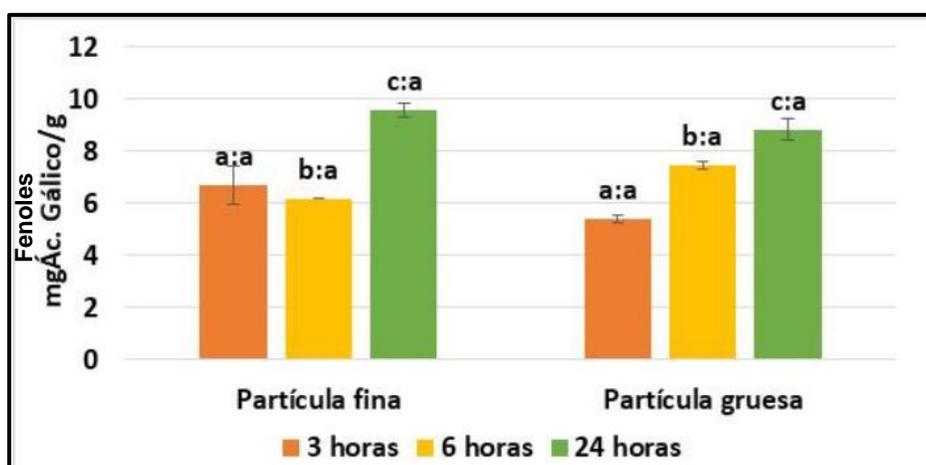


**Figura 18: Contenido de fenoles en la semilla de guayaba en muestra con partícula fina (<800 micras) y con partícula gruesa (>800 micras) obtenidos por ultrasonido a 30 y 60 minutos. La primera letra representa diferencia significativa por tiempo de extracción la segunda letra representa diferencia por tamaño de partícula.**

En la figura del contenido de fenoles se puede apreciar que no hay diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) respecto al tamaño de partícula, del mismo modo no se presenta efecto por parte del tiempo de residencia en el ultrasonido, sin embargo, el extracto obtenido con un tamaño de partícula fino con 30 min de extracción fue el que presentó mayor concentración de fenoles con 13.24 mg Ac. Gálico/g de muestra, seguido de la muestra sometida por 60 minutos y partícula fina con 10.06 mg Ac. Gálico /g, posteriormente la muestra de partícula gruesa a 30 minutos con un contenido de 9.90 mg Ác. Gálico/g, cabe señalar que en partícula fina se tiene mayor contenido de fenoles porque al reducir el tamaño se amplía la superficie de contacto permitiendo que la solución extractora etanol: agua 1:1 tenga mayor contacto con la muestra y así una mejor extracción de los fenoles.

En la literatura se ha encontrado que en contenido de fenoles en guayaba regional blanca de Colombia extraída por ultrasonido es de 198.62 mg Ác. Gálico/g en el estado inmaduro, pero a condiciones de proporción masa de fruta-etanol de 1:10 con un tiempo de 30 minutos y una temperatura de 50 °C (Olaya y Restrepo, 2012). En la figura 19 se muestra el contenido de fenoles en el extracto de semillas de guayaba obtenido por maceración en frío en donde se puede apreciar que no hay diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre las muestras con respecto al tamaño de partícula, sin embargo, si presenta diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con respecto al tiempo que estuvieron sometidas las muestras con las soluciones extractoras. Las muestras que tienen un mayor contenido de fenoles en ambos casos son las muestras sometidas por 24

horas con 9.56 mg Ác. Gálico/g en partícula fina y 8.82 mg Ác. Gálico/g en partícula gruesa, seguido de la muestra sometida por 6 horas con 7.44 mg Ác. Gálico/g en partícula gruesa y en partícula fina con 6.18 mg Ác. Gálico/g, posteriormente la muestra de partícula gruesa a 3 horas con un contenido de 5.40 mg Ác. Gálico/g y finalmente la muestra con partícula fina a 3 horas con un 6.69 mg Ác. Gálico/g. En la literatura no se han reportado datos del contenido de fenoles de las semillas de guayaba por maceración en frío, pero se ha encontrado el dato de que las hojas de guayabo fenológicamente jóvenes presentaron mayor contenido de fenoles totales (9,071.46 mg Ác. Gálico/100 g de muestra seca) (Pérez *et al.*, 2014).

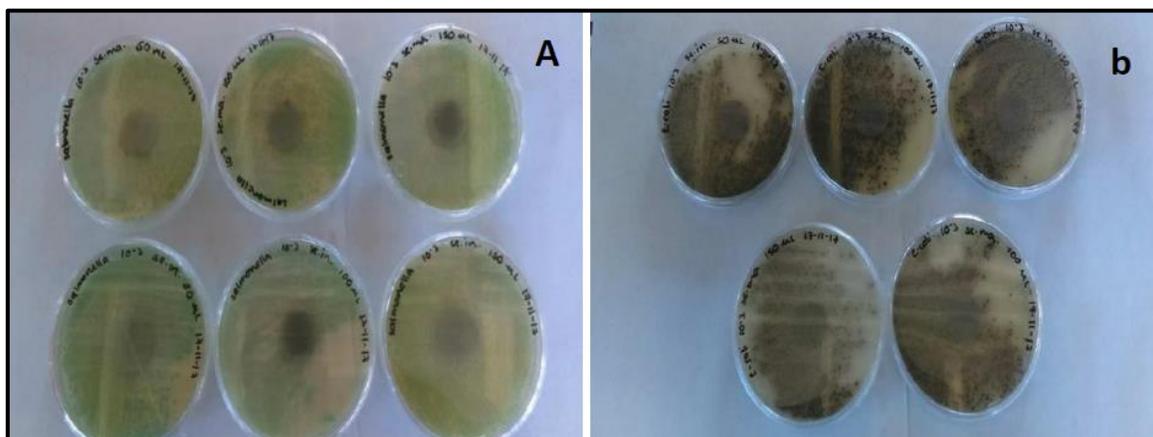


**Figura 19: Contenido de fenoles en los extractos de la semilla de guayaba en muestra con partícula fina (<800 micras) y con partícula gruesa (>800 micras) obtenidos por maceración en frío. La primera letra representa diferencia significativa por tiempo de extracción la segunda letra representa diferencia por tamaño de partícula.**

## 5.5 Pruebas de sensibilidad antimicrobiana

La identificación de las cepas de *E.coli* y *Salmonella typhi* en un agar específico (Chromagar), el cual se tiñó de negro cuando hubo presencia de la bacteria *E. coli* y en verde cuando fue *Salmonella typhi*, con la finalidad de tener la certeza de que si fueran las bacterias con las que se deseó trabajar. En la figura 20 se muestra el poder inhibitorio de los extractos de semilla de guayaba sobre la inhibición de *Salmonella typhi* (A) ( $2.42 \times 10^{11}$  UFC/mL) y *E. coli* (b) ( $2.00 \times 10^{11}$  UFC/mL), en donde se observa que los extractos no fueron efectivos en la inhibición de estas bacterias; lo cual puede atribuirse a los siguientes factores: La solución extractora etanol: agua 1:1 no tiene efecto inhibitorio debido a que los fenoles que están presentes en ella pueden no contener la estructura que los hace antimicrobianos o bien

la concentración que se aplicó en el biodisco de extracto fue muy baja para la concentración de bacterias presentes en el Chromagar.



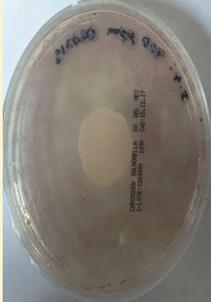
**Figura 20: Prueba de sensibilidad antimicrobiana del extracto de semilla en el estado maduro e inmaduro de guayaba frente a *Salmonella typhi* (A) y *E. coli* (b), con diferentes concentraciones 50 ppm, 100 ppm y 150 ppm de extracto.**

De tal manera que se volvió a efectuar la extracción de fenoles con una nueva solución extractora (etanol al 80%) y utilizando concentraciones de este nuevo extracto a 300 y 400 ppm en las pruebas de inhibición con la misma concentración de bacterias (utilizadas anteriormente). Además, se contó con un control positivo para evidenciar el crecimiento de la bacteria también en etanol al 80% y no atribuir el efecto inhibitorio al disolvente, mostrando a continuación los resultados obtenidos con estas modificaciones.

La concentración de fenoles del nuevo extracto con el que se realizaron las pruebas de sensibilidad antimicrobiana (etanol al 80%) fue de 4.6 mg de Ác. Gálico/g de semilla, este resultado fue ligeramente mayor a lo reportado por Castro *et al.* en 2007, pues ellos obtuvieron 1.76 mg de Ác. Gálico/g de semilla utilizando etanol como solvente. Siendo mayor el contenido en esta investigación.

En la Tabla 11 se pueden observar los resultados obtenidos de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana de los extractos etanólicos de semilla de guayaba.

**Tabla 11: Prueba *in-vitro* del extracto de semilla de guayaba en *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*.**

<i>Salmonella typhi</i> (Valor estimado 2.42E <sup>11</sup> UFC/ml)				<i>Escherichia coli</i> (Valor estimado 2.00E <sup>11</sup> UFC/ml)
24 horas		48 horas		24 horas
300 ppm (0.48 mm)	400 ppm (0.73 mm)	300 ppm (0.32 mm)	400 ppm (0.57 mm)	400 ppm (NO HAY INHIBICIÓN)
				

El efecto que tiene el extracto etanólico sobre *Salmonella typhi* (2.42 x10<sup>11</sup> UFC/ml) es inhibitorio, a 300 y 400 ppm se presenta un halo de inhibición de 0.48 y 0.73 mm respectivamente, al observarse este efecto a las 24 horas, se decidió ampliar la prueba hasta 48 horas, que es el tiempo mínimo que debe esperarse para observar colonias en los medios de cultivo para ver si el efecto continuaba. A las 48 horas ya con las colonias formadas los halos de inhibición se redujeron solo 0.16 mm proporcionalmente, manteniendo este efecto inhibitorio.

La Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana (2009) señala que efectivamente se ha demostrado que extractos de las hojas, inhiben el peristaltismo, además de ejercer un efecto antibacteriano contra algunos microorganismos bien conocidos que provocan infecciones gastrointestinales serias como la *Shigella dysenteriae* y *Salmonella typhi* entre otras. Ambas acciones, la antiespasmódica y la antibiótica, deben incidir en el efecto anti diarreico global ejercido por la guayaba. No existen registros a nivel popular ni científico de que la guayaba provoque algún efecto tóxico, así que es muy probable que sea ésta una planta con un buen margen de seguridad en cuanto al uso medicinal.

Por otro lado, con base en lo que se observa en la Tabla 8, se puede mencionar que el extracto etanólico de la semilla de guayaba no presentó capacidad inhibitoria sobre *Escherichia coli*



( $2.00 \times 10^{11}$  UFC/mL) a pesar de que existe evidencia científica que lo afirma; este resultado puede ser atribuido a las siguientes causas:

- Los fenoles son compuestos antioxidantes de origen natural que son capaces de reducir la acción dañina de las bacterias, principalmente las agentes de contaminación de alimentos. Cuando una planta se desarrolla en ambientes silvestres en donde carece de nutrientes para crecer o de protección ante depredadores, le es necesario desarrollar compuestos que le permitan adaptarse al medio que se encuentra tales son los compuestos fenólicos. Cuando el origen de la planta es un medio en el cual se tiene mayor cuidado para su crecimiento, la planta contiene en menor proporción este tipo de compuestos, y si a su vez aunamos que está contaminada por algún microorganismo, el contenido de estos compuestos disminuye aún más, pues la planta los ha utilizado para defenderse de los mismos y por tal razón el efecto que tienen contra las bacterias es menor.
- Diversos estudios han demostrado que *Escherichia coli* es capaz de crecer en ácidos grasos de cadena larga como única fuente de carbono (Maloy *et al.* 1981), luego de una fase de adaptación o lag. Sin embargo, células pre-adaptadas con ácidos grasos de cadena larga crecen inmediatamente en esta fuente de carbono, indicando que la oxidación de los ácidos grasos es un sistema inducible (Weeks *et al.* 1969). No obstante, se ha demostrado que se necesitan ácidos grasos con una cadena mayor o igual a 12 carbonos para inducir este sistema (Campbell *et al.* 2003). Los ácidos grasos presentes en la semilla son principalmente el oleico y el esteárico con 18.
- La tolerancia de *E. coli* al etanol. La concentración de etanol con la que se elaboraron los extractos fue con etanol al 80%. El etanol, como muchos otros productos, puede generar inhibición del crecimiento bacteriano. Sin embargo, cultivos seriados del microorganismo en concentraciones crecientes de este alcohol, han logrado un mantenimiento en la viabilidad celular a concentraciones de etanol de más de 7,5% p/v (Yomano *et al.* 1998; Trinh *et al.* 2010).

## 5.6 Propuesta tecnológica para la aplicación y uso de aceites, proteínas, fibra y compuestos bioactivos obtenidos de la semilla de guayaba como ingredientes funcionales en el desarrollo y conservación de alimentos.

La industria alimentaria se encuentra en la búsqueda de ingredientes funcionales que poseen características nutritivas, funcionales y sensoriales adecuadas para utilizarse en el desarrollo de nuevos productos alimenticios.

De acuerdo a todo el estudio que se realizó a la semilla de guayaba se pueden sugerir las siguientes aplicaciones en la industria alimentaria (Figura 21):

1. **Compuestos Bioactivos:** Como se demostró el extracto etanólico de semilla de guayaba inhibió el crecimiento de *Salmonella typhi*, por tal motivo se puede comercializar para la elaboración de envases activos, recubrimientos y desinfectantes, principalmente en frutos y hortalizas.
2. **Proteínas:** A partir de la harina de semilla de guayaba puede elaborarse una bebida vegetal que tenga un alto contenido de proteína vegetal, se puede añadir a productos de panadería y cárnicos para mejorar la elasticidad, adhesión-cohesión y la capacidad de ligar grasa y sabores; también se puede emplear para mejorar la función de emulsificación y espumado en merengues, helados y productos batidos.
3. **Lípidos:** El aceite de semilla de guayaba por su alto contenido de omega 9, puede emplearse como fuente principal de obtención de éste, para cocinar o bien para mejorar la calidad de aceites vegetales que tengan una muy mala. También se puede aumentar con él la ingesta de ácidos grasos insaturados para promover la producción de lipoproteínas de alta densidad o colesterol HDL (high density lipoproteins) llamado colesterol “bueno”.

- 
4. Fibras: Por el alto contenido de fibra que contiene la harina puede emplearse para productos diseñados para evitar problemas de constipación, como cereales y medicamentos, y productos diseñados para personas que desean bajar de peso, en forma de polvos que se hidratan antes de la alimentación, barras energéticas, galletas y panes ricos en fibra y concentrados secos de jugos y bebidas, entre otros.



**Figura 21: Propuestas tecnológicas de la semilla de guayaba mexicana.**

# CONCLUSIONES



## 6. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en este estudio se concluye lo siguiente:

1. La harina de semilla de guayaba mexicana es una buena fuente de fibra (61.43%), contiene 50% de fibra dietética la cual puede ser empleada en la elaboración de alimentos funcionales, proteínas y lípidos que pueden tener un alto potencial como ingredientes funcionales en la industria de alimentos.
2. El aceite de semilla de guayaba es rico en ácidos grasos oleico y esteárico que pueden contribuir a aumentar la ingesta diaria en las personas y mejorar aceites vegetales de baja calidad.
3. Las proteínas de reserva, las glutelinas se encuentran en mayor proporción en la harina de semilla de guayaba y están constituidas principalmente por aminoácidos como el ácido glutámico y tirosina, aunque éstos no son aminoácidos esenciales, son de gran interés en la industria alimentaria.
4. Para la obtención de extractos el tamaño de partícula de la harina de la semilla de guayaba no presentó diferencia significativa entre fina o gruesa, lo que por cuestiones de rendimiento permite utilizar ambas esperando buenos resultados para la obtención de extractos.

El método de sonicación fue mejor que la maceración en frío para extraer compuestos fenólicos, debido a que en un menor tiempo se obtuvo una mayor cantidad de estos compuestos.

El extracto etanólico de harina de semilla de guayaba tuvo efecto inhibitorio sobre cepas de *Salmonella typhi* aunque no fue efectivo contra cepas de *Escherichia coli*.

5. Un aprovechamiento integral de la semilla de guayaba es tecnológicamente viable para ser utilizado como ingrediente funcional en el desarrollo y conservación de alimentos.



# PERSPECTIVAS



## 7. PERSPECTIVAS

Con base en los resultados anteriormente presentados, se recomienda lo siguiente:

- Aplicar la harina de semilla de guayaba mexicana en alguna de las propuestas tecnológicas realizadas.
- Identificar el perfil de aminoácidos a otras fracciones proteicas para encontrar otros compuestos de interés.
- Realizar pruebas de sensibilidad antimicrobiana del extracto etanólico de harina de semilla de guayaba en otros microorganismos patógenos.
- Generar propuestas de aplicación de la fibra obtenida en el desarrollo de algunos envases o productos biodegradables
- Realizar la identificación de fenoles presentes en los extractos etanólicos de la semilla de guayaba por HPLC o electroforesis capilar.

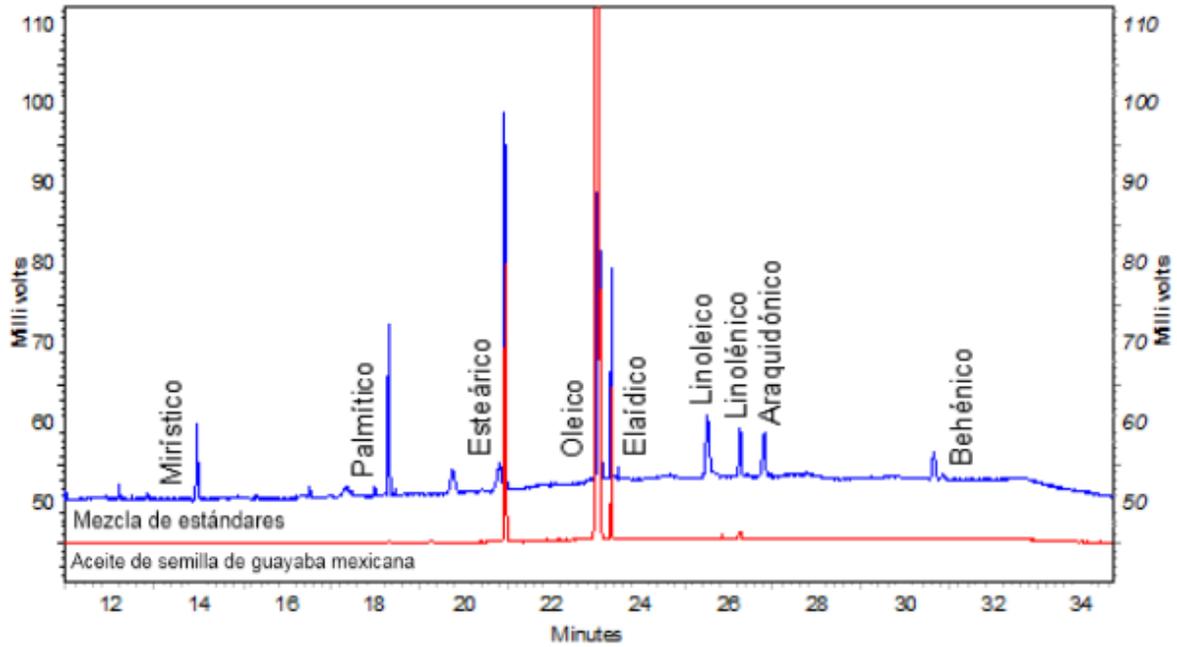


# ANEXOS



## 8. ANEXOS

### 8.1 Cromatograma de aceite de semilla de guayaba.



**Figura 22: Cromatograma general de una muestra de aceite de semilla de guayaba mexicana y de una mezcla de estándares.**

**Fuente: Cromatógrafo de gases Trace GC 2000 series.**

# REFERENCIAS



## 9. REFERENCIAS

1. American Association of Cereal Chemist. (2001). The Definition of Dietary Fiber. *AACC Report*, 46(3), 112-126.
2. AOAC International. (2005). *Official Methods of Analysis*. Gaithersburg, Maryland: AOAC.
3. Arima, H., y Danno, G. (2002). Isolation of antimicrobial compounds from guava (*Psidium guajava* L.) and their structural elucidation. *Biosci Biotechnol Biochem*, 66(8), 1727-1730. doi: 10.1271/bbb.66.1727
4. Badui, S. (2006). *Química de los alimentos*. México: Pearson.
5. Balch, P. (1997). *Recetas nutritivas que curan*. New York, USA: Avery.
6. Barberán, T. (2003). Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alimentación, nutrición y salud*, 10(2), 41-53.
7. Bernardino, N., Ortíz, M., Martínez, A., y Dávila, O. (2001). Guava seed protein isolate: Functional and nutritional characterization. *J. of Food Biochem*. 25(1), 76-89.
8. Bewley, J. D., y Black, M. (1994). *Seeds. Physiology of development and germination*, New York, USA: Springer US.
9. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009-2019). *Guayaba*. México: Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Recuperado de <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Guayaba&id=7651>
10. Bourgeois, P., Guylene, S., Abaul, J., y Joseph H. (1998). Valorization de la graine de goyave: huile de l'amande et poudre abrasive des coques. *Chaires Agriculture*, 7(2), 105-109.
11. Cadaval, A., Artiach, B., Garín, U., Pérez, C., y Aranceta, J. (2005). *Alimentos funcionales, Para una alimentación más saludable*, España: SENC.
12. Calvo, M. (2004). La Ciencia y la Tecnología de los Alimentos. Algunas notas sobre su desarrollo histórico. *Alimentaria*, 41(359), 19-34.
13. Campbell, J. W., Morgan, R. M., y Cronan, J. E., (2003). A new *Escherichia coli* metabolic competency: growth on fatty acids by a novel anaerobic betaoxidation pathway. *Molecular microbiology*, 47(3), 793-805.
14. Cartaya, O., y Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5-14.

15. Castro, H., Restrepo, L., y Parada, F. (2007). Aprovechamiento integral de la guayaba (*Psidium guajava* L.): I. Obtención de extractos a partir de semillas utilizando como solvente CO<sub>2</sub> supercrítico. *Scientia et Technica*, 1(33), 79-82.
16. Clextal (2018-2019). *Ingredientes funcionales*. Francia: Clextal site. Recuperado de <https://www.clextal.com/es/food-feed-esp/food-esp/ingredientes-funcionales/>
17. El Tinay, A. H., Khalid, E. K., y Babiker, E. E. (2003). Solubility and functional properties of Sesame seed proteins as influenced by pH and/or salt concentration. *Food Chemistry* 82(3), 361-366. doi: 10.1016/S0308-8146(02)00555-1.
18. Espinosa, D. A., Ramírez, E., González, L. O., Cesáreo, K. A., Rosas, H., y Sánchez, L. (2012). Actividad Antibacterial de Extractos de *Psidium guajava* L. y *Psidium guineense* L. *Latinoamer. Quim.* 1(39), 197.
19. FAO. (2001-2019). *Minerales*. Roma, Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s0e.htm#TopOfPage>
20. FAO. (2015-2019). *Macronutrientes y micronutrientes*. Roma, Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Recuperado de [http://www.fao.org/elearning/Course/NFSLBC/es/story\\_content/external\\_files/Macronutrientes%20y%20micronutrientes.pdf](http://www.fao.org/elearning/Course/NFSLBC/es/story_content/external_files/Macronutrientes%20y%20micronutrientes.pdf)
21. FAO. (2018-2019). *Macronutrientes: carbohidratos, grasas y proteínas*. Roma, Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s0d.htm>
22. Fernández, C. (2010). La fibra dietética en la prevención del riesgo cardiovascular. *Nutrición clínica y dietética hospitalaria*, 30(2), 4-12.
23. Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G., y Ritieni, A. (1999). Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(3), 1035-1040.
24. Foster, B., Arnason, J., y Briggs C. (2005). Natural health products and drug disposition. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45, 203-226. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095950
25. García, M. (01 de diciembre de 2010). *Guía técnica del cultivo de la guayaba*. El Salvador: CENTA. Recuperado de <http://www.centa.gob.sv/docs/guias/frutales/GUIA%20CULTIVO%20GUAYABA.pdf>
26. Garrido, A., y Teijón, J. (2009). *Fundamentos de bioquímica estructural*. Madrid, España: Tébar.

- 
27. Gómez, E. (2009). *Mejora en el Proceso de Exportación de la Guayaba Mexicana a Estados Unidos de Norteamérica. Caso de vivencial* (tesis de licenciatura). Universidad de las Américas, Puebla, México.
  28. González, E., Padilla, J. S., Reyes, M., Perales de la Cruz, M., y Esquivel, V. (2002). *Guayabo su cultivo en México*. México: INIFAP.
  29. Haslam, E. (1988). Plant polyphenols (syn. Vegetable tannins) and chemical defense. A reappraisal. *J. Chem. Ecol.* 14(10), 1789-1805. doi: 10.1007/BF01013477.
  30. Ideg. (2017, 05 de julio). Ácido Esteárico y su consumo: IDEG. Recuperado de <http://www.ideg.es/acido-estearico-consumo/>
  31. INCAP. (2012). *Tablas de Composición de Alimentos de Centro América*. Recuperado de [http://www.incap.int/index.php/es/publicaciones/doc\\_view/80-tabla-de-composicion-de-alimentos-de-centroamerica](http://www.incap.int/index.php/es/publicaciones/doc_view/80-tabla-de-composicion-de-alimentos-de-centroamerica)
  32. INIFAP. (2016). *Nuevas variedades de Guayaba (Psidium guajava L.)*. Recuperado de [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/232818/Nuevas\\_Varietades\\_de\\_Guayaba\\_Psidium\\_guajava\\_L.\\_2016.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/232818/Nuevas_Varietades_de_Guayaba_Psidium_guajava_L._2016.pdf)
  33. INTA. (2018-2019). *Determinación de perfil de aminoácidos (libres y totales)*. Argentina: INTA. Recuperado de <https://inta.gob.ar/servicios/determinacion-de-perfil-de-aminoacidos-libres-y-totales>
  34. Jagtiani, J., Chan, H., y Sakai, W. (1988). *Tropical fruit processing*. San Diego: Academic Press Inc.
  35. Jiménez, A., Rincón, M., Pulido, R., y Saura, F. (2001). Guava fruit (*Psidium guajava L.*) as a new source of antioxidant dietary fiber. *J. Agric. Food Chem.* 49(11), 5489-5493.
  36. Kuskoski, E., Asuero, A., Troncoso, A., Mancini-Filho, J., y Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 25(4), 726-732. doi: 10.1590/S0101-20612005000400016
  37. L&S. (2009-2019). *Beneficios y propiedades del ácido glutámico*. España: Línea y Salud. Recuperado de <https://www.lineaysalud.com/nutricion/nutrientes/acido-glutamico>
  38. Lawrence, M., Suzuki, E., Vaeghese, J., Davis, P., VanDonkelaar, A., Tuloch, P., y Colman, P. (1990). The three-dimensional structure of seed storage proteins phaseolin a 3A resolution. *EMBO Journal.* 9(1), 9-15.
  39. Lee, K. y Kader, A. (2000) Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol. Technol.* 20 (2000), 207-220.
  40. López, N. (2011, 21 de julio). *Obtención y aplicación de extractos naturales*. España: Alianza Estratégica y de Cooperación en Investigación en Envase y Embalaje para la

Comercialización de Alimentos Transformados CEIDe@. Recuperado de: <http://www.anfaco.es/fotos/biblioteca/docs/congresos/transferencia2011.pdf>

41. Lowry O., Rosebrough, N., Farr, A., y Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Biol. Chem.*, 193(1), 265-275.
42. Lozano, J. (2012, 04 de julio). Valor de las proteínas. *Ciencia y Salud*. Recuperado de <https://www.um.es/lafem/DivulgacionCientifica/CienciaySalud/Portalyblog/cienciaysalud.laverdad.es/la-alimentacion/la-nutricion-ciencia/valor-proteinas-article.html>
43. Maloy, S. R., Ginsburgh, C. L., Simons, R. W., y Nun, W. D. (1981). Transport of long and medium chain fatty acids by *Escherichia coli K12*. *The Journal of biological chemistry*, 256(8), 3735–3742.
44. Marín, F. (1998). *Manejo Poscosecha de Guayaba (Psidium guajava L.) en Pacayitas de Turrialba*. San José, Costa Rica: Consejo Nacional de Producción.
45. Martínez, M., Molina, N., y Boucourt, E. (1997). Evaluación de la actividad antimicrobiana de *Psidium guajava L.* (Guayaba). *Rev Cubana de Plant Med*, 2(1), 12-14.
46. Matsuki, M. (1996). Regulation of plant phenolic synthesis: from biochemistry to ecology and evolution. *Australian Journal of Botany*, 44(6), 613–634. doi: 10.1071/BT9960613
47. Merrill, A. y Watt, B. (1973). *Energy Value of Foods: Basis and Derivation*. Washington, U. S: Agriculture Handbook.
48. Micó, M. (2014). *Métodos de análisis de fibra y determinaciones físico químicas en cítricos para el módulo de control alimentario del ciclo formativo de dietética*. Alcoy, España: Área de Innovación y Desarrollo.
49. Monzón, J. (2012, 13 de febrero). Descubren compuestos bioactivos en frutos regionales. *Argentina Investiga*. Recuperado de <http://argentinainvestiga.edu.ar/noticia.php?titulo=descubren-compuestos-bioactivos-en-frutos-regionales&id=1137>
50. Morton, J. (1987). *Guava (Psidium guajava L.)*. Miami, U.S; Fruits of warm climates.
51. Nivia, A., Castro, H., Parada, F., Rodríguez, I. y Restrepo, P. (2007). Aprovechamiento integral de la guayaba (*Psidium guajava L.*): I. Obtención de extractos a partir de semillas utilizando como solvente CO<sub>2</sub> supercrítico. *Scientia et Technica*, 1(33), 79-82.
52. Olaya, J. y Restrepo, L. (2012). Estudio del contenido de fenoles y actividad antioxidante de guayaba en diferentes estados de madurez. *Acta Biológica Colombiana* 17(3), 611-624.
53. Organización Mundial de la Salud OMS. (2018-2019). *Nutrientes*. Geneva, Suiza: Biblioteca electrónica de documentación científica sobre medidas nutricionales (eLENA). Recuperado de <https://www.who.int/elena/nutrient/es/>

54. Osborne, T. (1924). *The vegetable proteins*. London: Longmans, Green and Co.
55. Palomino, M., Guija, E. y Lozano, N. (2009). Propiedades antioxidantes de la guayaba (*Psidium guajava L.*). *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 75(2), 228-234.
56. Pamplona, J. (2003). *Salud por los alimentos*. Madrid: Safeliz.
57. Pascual, S. (2013). *Efecto de la temperatura sobre las propiedades fisicoquímicas y la composición de los ácidos grasos presentes en el aceite de la semilla de chía (salvia hispánica L.)* (tesis de maestría). Instituto Politécnico Nacional, México.
58. Pérez, E., Ettiene, G., Marín, M., Casassa, A., Silva, N., Raga, J., González, C., Sandoval, L. y Medina, D. (2014). Determinación de fenoles y flavonoides totales en hojas de guayabo (*Psidium guajava L.*). *Revista de la Facultad de Agronomía LUZ*, 1(31), 60-77.
59. Prabu, G., Gnanamani, A. y Sadulla, S. (2016). Guaijaverina plant flavonoid as potential antiplaque agent against *Streptococcus mutans*. *J App Microbiol*. 101(2), 487-495.
60. Priego, N. (2007). *Obtención de fibra dietética a partir de sáculos de naranja aplicando un tratamiento con vapor* (tesis de pregrado). Universidad Tecnológica de la Mioxteca, México.
61. Pszczola, D. (2004). Ingredients of food technology. *Food Technol* 58(2), 56-69.
62. Ramírez, M. (2017). *Propiedades Funcionales de Hoy*. México: OmniaScience.
63. SAGARPA. (2017-2019). *Aumenta 8.2 por ciento producción de guayaba en México en el último trienio*. México: SAGARPA. Recuperado de [http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/distritofederal/boletines/Paginas/JAC\\_0006-3.aspx](http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/distritofederal/boletines/Paginas/JAC_0006-3.aspx)
64. Secretaría de Economía (07 de octubre de 1982). Determinación de humedad (Método rápido de la termobalanza). Norma Mexicana NMX-F-428-1982. *Diario Oficial de la Federación*, pp. 04-07.
65. Secretaría de Salud (2016, 09 de julio). ¿Cuánta fibra dietética se debe consumir? *SS Blog*. Recuperado de <https://www.gob.mx/salud/articulos/cuanta-fibra-dietetica-se-debe-consumir>
66. Secretaría de Salud (22 de septiembre de 1994). Método para la determinación de Salmonella en alimentos. Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994. *Diario Oficial de la Federación*, pp. 51-73.
67. Secretaría de Salud (27 de julio de 2008). Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba. Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008. *Diario Oficial de la Federación*, pp. 01-112

68. Secretaría de Salud (06 de mayo de 2014). Productos y Servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014. *Diario Oficial de la Federación*, pp. 45-128.
69. SEDESOL. (2017). *Datos del Índice de Desperdicio de Alimentos en México*. (524/141113) Recuperado de [http://www.sedesol.gob.mx/work/models/SEDESOL/Sala\\_Prensa/Comunicados/pdf/141113-Desperdicio\\_alimentos.pdf](http://www.sedesol.gob.mx/work/models/SEDESOL/Sala_Prensa/Comunicados/pdf/141113-Desperdicio_alimentos.pdf)
70. Serna, L. (2013, 15 de marzo). Residuos de guayaba, aliados para la producción de alcohol. *Un periódico UNAL*. Recuperado de <http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/article/residuos-de-guayaba-aliados-para-la-produccion-de-alcohol.html>
71. Silva, M., Bañuelos, R., Muro, A., Esparza, E. y Delgadillo, L. (2017). Evaluación de semilla de guayaba (*Psidium guajava* L.) como alternativa en la nutrición ruminal. *Abanico vet.* 7(1), 26-35. doi: <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2017.71.2>
72. Soria, J., Guevara, I., Padilla, J. y Vasco, N. (abril, 2004). Determinación de proteínas de reserva en semillas de selecciones de guayaba (*Psidium guajava* L.) del estado de Aguascalientes. En. C. F. Avelar (Presidencia), *La investigación en el posgrado*. Conferencia llevada a cabo en el Primer Congreso Estatal, Aguascalientes, México.
73. Souza, C., Damé, L., Hörnke, G., Ziemann, M., Alves, M. y Araújo, M. (2011). Evaluación de la actividad bactericida de aceites esenciales de hojas de guayabo, Pitango y Arazá. *Revista Cubana De Plantas Medicinales*, 16(4), 324-330.
74. Strack, D. (1997). *Phenolic metabolism*. doi: 10.1007/978-3-642-22144-6\_57
75. The Dow Chemical Company. (2018-2019). *OMEGA-3, -6, -9. Making them count for you*. Michigan, U.S: Dow AgroSciences. Recuperado de <https://www.omega-9oils.com/nutrition-profile/compare-omega-3-6-9.html>
76. Trinh, C., Huffer, S, Clark, M., Blanch, H., Clark, D. (2010). Elucidating mechanisms of solvent toxicity in ethanologenic *Escherichia coli*. *Biotechnology and bioengineering*, 106(5) 721–730. doi: <https://doi.org/10.1002/bit.22743>
77. United States Department of Agriculture (2007). Great Guava. *AgResearch*. 55(9), 10-11.
78. Vasco, N., Guevara, I., Acero, M., Toro, J. (2002). Chemical composition of seeds and oil of guava (*Psidium guajava* L.). *Scientiae Naturae*. 4(2), 25-32.
79. Velázquez, M. y Ordorica, M. (2000-2019). *Estructura de Lípidos*. Méxco: Portal Bioquímica Médica I. Recuperado de <http://www.bioquimica.dogsleep.net/Teoria/archivos/Unidad71.pdf>

- 
80. Weeks, G. (1969). Control of fatty acid metabolism. I. Induction of the enzymes of fatty acid oxidation in *Escherichia coli*. *Journal of bacteriology*, 97(2), 827–836.
81. Willan, R. (1991). *Guía para la manipulación de semillas forestales, estudio con especial referencia a los trópicos*. Italia, Roma: FAO Montes.
82. Wilson, C., Shaw, P., Campbell C., (1982). Determination of organic acids and sugars in guava (*Psidium guajava L*) cultivar by high-performance. *J. Sci. Food Agric.*, 33(8), 777-780. doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740330815>
83. Yassen, El. (1997). Evaluation of utilization of guava seed meal (*Psidium guajava L.*) in cookies preparation as wheat flour substitute. *Nahrung*. 41(6), 344-348. doi: <https://doi.org/10.1002/food.19970410605>
84. Yomano, L.P., York, S.W. & Ingram, L.O., (1998). Isolation and characterization of ethanol-tolerant mutants of *Escherichia coli* KO11 for fuel ethanol production. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 20(2), 132–138. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900496>
85. Zapata, K., Cortes, F. y Rojano, B. (2013). Polifenoles y Actividad Antioxidante del Fruto de Guayaba Agria (*Psidium araca*). *Información Tecnológica*, 24(5), 103-112. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642013000500012>
86. Zarzuelo, A. y Gálvez, J. (2010). Fibra dietética. En: A. Gil (Ed.). *Tratado de Nutrición 2ª ed.* (pp. 61-72) Madrid, España: Médica Panamericana.